

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Análisis de Compuestos Emergentes en Aguas Potables de
Esmeraldas y Guayaquil por Cromatografía de Gases Acoplada a
Espectrometría De Masas

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en
Ciencias Químicas con Mención en Química Analítica

Andrea Carolina Pozo Sotomayor

Quito, 2021

CERTIFICACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, de la Srta. Andrea Carolina Pozo Sotomayor ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.



MSc. Eva Isabel Cipriani Ávila
Directora de la disertación
Quito 15, de marzo del 2021.

A mi familia, por ser la luz de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi padre, por llenarme de cariño y formarme como la persona que soy hoy. Gracias apoyarme y guiarme en todas mis decisiones, tu esfuerzo me ha permitido llegar aquí. Eres mi ejemplo a seguir.

A mi madre, con sus dulces palabras siempre ha sabido como motivarme, tu amor, paciencia y sabiduría han sido el motor de mi vida. Eres la persona más luchadora y con el corazón más noble que conozco.

A mis hermanos, Daniel y Melanie, que siempre creyeron en mí. Con sus consejos y risas han llenado de alegría cada momento de mi vida.

A Camila y Adriana, en ustedes encontré amigas incondicionales, gracias por caminar conmigo durante estos años y espero que la vida nos mantenga juntas.

A Isabel Cipriani, mi profesora y tutora de tesis, por brindarme la oportunidad de formar parte de su proyecto de investigación. Agradezco mucho su paciencia y la sabiduría que ha compartido conmigo.

A Byron Acosta y laboratorios LASA, por proporcionarme todas las facilidades para la realización de esta disertación.

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	12
1. MARCO TEÓRICO	13
1.1 COMPUESTOS EMERGENTES	13
1.2 FÁRMACOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES	13
1.2.1 FÁRMACOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES Y SU OCURRENCIA EN MATRICES ACUATICAS	14
3.2.3 CALIDAD DEL AGUA POTABLE EN ECUADOR	16
OBJETIVOS	17
OBJETIVO GENERAL	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
2. MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.1 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS EXTRACTOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A UN DETECTOR DE MASAS (CG-MS) 20	
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
3.1 EVALUACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MUESTRAS MEDIANTE SPE	23
3.2 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS EXTRACTOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A UN DETECTOR DE MASAS (CG-MS). 26	
3.2.1 PARÁMETROS DE CALIDAD DEL MÉTODO	26
4. CONCLUSIONES	39
5. RECOMENDACIONES	40
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
7. ANEXOS	49

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Concentración de las fortificaciones realizadas para la SPE	19
Tabla 2. Instrumentación y Condiciones Cromatográficas usadas en el análisis CG-MS.....	20
Tabla 3.Evaluación del proceso de SPE	23
Tabla 4. Cálculo de límites de detección (LD) y cuantificación (LC) de los compuestos estudiados.	26
Tabla 5. Tiempo de retención, compuesto, formula, uso común y %ocurrencia en blancos.	28
Tabla 6. Resultados muestras de la ciudad de Esmeraldas.	31
Tabla 7. Resultados muestras de la ciudad de Guayaquil.	33
Tabla 8. Tiempo de retención, compuesto, fórmula, uso común y ocurrencia en muestras de Esmeraldas.....	35
Tabla 9. Tiempo de retención, compuesto, fórmula, uso común y ocurrencia en muestras de Guayaquil.	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espectro de masas Paracetamol/Acetaminofen.	24
Figura 2. Espectro de masas Trimetoprima.....	24
Figura 3. Espectros de masas y cromatograma de 2H-indol-2-ona, 1- (2,6-diclorofenil) -1,3-dihidro- y éster metílico de diclofenaco.	26
Figura 4. Espectros de masas y cromatograma de cafeína.....	31

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 Listado de los medicamentos más consumidos a nivel nacional y en las ciudades de Guayaquil y Esmeraldas en el año 2017 (Ministerio de Salud Publica, 2017)	49
Anexo 2. Estructura química, metabolismo y propiedades físico-químicas de los CE estudiados. (PubChem, 2020).....	51
Anexo 3. Puntos de muestreo en la ciudad de Guayaquil.	52
Anexo 4. Puntos de muestreo en la ciudad de Esmeraldas.	53
Anexo 5. Fármacos, técnica de análisis, LD, LC y referencia bibliográfica.	54
Anexo 6. Curvas de calibración para Paracetamol y Trimetoprima.	54
Anexo 7. Curva de Calibración de la Cafeína.....	55
Anexo 8. Residuales de la regresión lineal de los compuestos estudiados	55
Anexo 9. Análisis de varianza de los residuales de la regresión lineal de los datos de los compuestos estudiados.	55
Anexo 10. Espectro de masas de Dietiltoluamida.	56
Anexo 11. Espectro de masas del Ácido hexadecanoico, éster metílico.	57
Anexo 12. Espectro de masas de esterato de metilo.....	57
Anexo 13. Espectro de masas de ácido hexadecanoico, éster 2-hidroxi-1-(hidroximetil) etílico.	57
Anexo 14. Espectro de masas de Fenol, 2,2'-metilenbis [6- (1,1-dimetiletíl) -4-metil-	58
Anexo 15. Determinación del factor de respuesta y linealidad de la curva de cafeína.	59
Anexo 16. Cromatograma y espectro de masas de la nicotina.	60
Anexo 17. Cromatograma y espectro de masas de hidroxitolueno butilado. ...	60
Anexo 18. Cromatograma y espectro de masas de Teobromina.	61
Anexo 19. Cromatograma y espectro de masas de Ácido 2-propenoico, 2-metil-, 2-etil-2 - [[(2-metil-1-oxo-2-propenil) oxi] metil] -1,3-propanodiol éster.....	61
Anexo 20. Espectro de masas del Colestanol.	62
Anexo 21. Espectro de masas del Campesterol.....	62
Anexo 22. Cromatograma y espectro de masas de Ftalato de dimetilo.....	63
Anexo 23. Cromatograma y espectro de masas de Acetilcitrato de tributilo. ...	63
Anexo 24. Cromatograma y espectro de masas de Trifenil fosfato.....	64

RESUMEN

La determinación de contaminantes emergentes ha tenido gran relevancia en los últimos años, un grupo de alto interés entre ellos son los fármacos debido a la variedad de sus identidades químicas, uso y consumo. Los fármacos llegan a ecosistemas acuáticos a través de efluentes residuales domésticos e industriales, y tienen la capacidad de contaminar fuentes de agua dulce y abastecimientos de agua potable. En el presente estudio, se persiguió determinar la presencia de paracetamol, trimetoprima, diclofenaco sódico y cafeína en el agua potable de Guayaquil y Esmeraldas por cromatografía de gases acoplada a un detector de masas (CG-MS). Las muestras de agua fueron tratadas mediante extracción en fase sólida (SPE), con el fin de evaluar la idoneidad de este procedimiento se realizaron fortificaciones a concentraciones de 1.0 y 0.5 $\mu\text{g/L}$. A partir de los porcentajes de recuperación se determinó que el proceso de SPE era óptimo para la cafeína y el paracetamol, en el caso de la trimetoprima se presentó una interferencia debido al cartucho empleado, y el diclofenaco sódico no pudo ser estudiado. En relación con el análisis cromatográfico, la cafeína fue confirmada en el 21,8% de las muestras de agua potable analizadas, mediante una curva de calibración se cuantificó este analito, en el agua potable de Esmeraldas sus concentraciones estuvieron entre (0.11 a 2.12) $\mu\text{g/L}$ y en (0.08 a 0.63) $\mu\text{g/L}$ para Guayaquil. Adicionalmente se realizó un análisis de deconvolución de los espectros de masas obtenidos en modo SCAN, seguido de su identificación mediante la librería del equipo, con el fin de determinar la posible presencia de otros compuestos. Los principales compuestos encontrados fueron el hidroxitolueno butilado, teobromina, ácido 2-propenoico, 2-metil-, 2-etil-2-[[[(2-metil-1-oxo-2-propenil) oxi] metil]-1,3-propanodiil éster, colestanol y campesterol en Esmeraldas, y el ftalato de dimetilo, acetilcitrato de butilo y trifetil fosfato en Guayaquil, debido a sus usos estos podrían ser posibles compuestos emergentes adicionales que deberían ser considerados en futuros análisis.

ABSTRACT

Emerging contaminants determination has become very relevant in recent years, drugs represent a high interest group among them due to the variety of their chemical identities, use and consumption. Drugs reach aquatic ecosystems through domestic and industrial wastewater and have the ability to contaminate freshwater sources and drinking water supplies. The present study intends to identify the presence of acetaminophen/paracetamol, trimethoprim, sodium diclofenac and caffeine in drinking water of Guayaquil and Esmeraldas by Gas Chromatography coupled to a Mass Detector (GC-MS). Water samples were processed by solid phase extraction (SPE), in order to determine the suitability of this procedure, fortifications were performed at 1.0 y 0.05 µg/L. From the recovery percentages it was determined that SPE worked for caffeine and acetaminophen, but for trimethoprim there was an interference due to the cartridge used and the sodium diclofenac couldn't be studied. In relation with the chromatographic analysis, caffeine was confirmed in 21,8% of the samples, so a calibration curve was made in order to quantify this analyte, its concentration was determined to be between (0.11 – 2.12) µg/L for Esmeraldas and (0.08 – 0.63) µg/L for Guayaquil. Finally, other compounds that were found in the samples thanks to the library were: butylated hydroxytoluene, theobromine, 2-propenoic acid, 2-methyl-, 2-ethyl-2 - [[(2-methyl-1-oxo-2-propenyl) oxy] methyl] -1,3-propanediyl ester, cholestanol and campesterol in Esmeraldas, and dimethyl phthalate, butylacetyl citrate and triphenyl phosphate in Guayaquil, due to their uses this could represent new emerging contaminants that should be considered in future investigations.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos emergentes son sustancias químicas de origen natural o sintético que no son monitorizadas ni están normadas por legislaciones o metodologías estándar, pero debido al riesgo que representan para el entorno ambiental, son candidatos a regulación (Li, Y. y Migliaccio, K., 2010). Los fármacos designados como contaminantes emergentes corresponden a diferentes tipos de antibióticos humanos y veterinarios, analgésicos, hormonas esteroideas y sexuales, betabloqueadores, drogas legales e ilegales, entre otros y se los ha encontrado en efluentes de plantas de tratamiento de agua, sedimentos, aguas naturales, potables y subterráneas (Gogoi et al., 2018).

El mal manejo de desechos farmacéuticos y su incompleta eliminación conlleva a que estos compuestos lleguen a las aguas superficiales por medio de las descargas de efluentes, lo cual concuerda con los resultados expuestos por la Organización Mundial de la Salud (Jelíc, Petrovic y Barceló, 2012). Dado que la mayoría de aguas de río son la principal fuente de captación para su posterior potabilización, la presencia de fármacos también ha sido materia de interés.

Es importante mencionar que, las evidencias sobre detección y persistencia en distintos ecosistemas acuáticos están aumentando a nivel mundial (Khalil et al., 2020). Se conoce que las fuentes de agua potable no están exentas de estos agentes químicos, debido a que se contaminan por medio de aguas residuales y efluentes acuosos, además cabe mencionar que los procesos de potabilización no están diseñados para eliminar estos compuestos (Glassmeyer et al., 2017).

En el presente estudio se pretende comprobar la persistencia de fármacos como contaminantes emergentes en el agua potable de las ciudades de Guayaquil y Esmeraldas mediante CG-MS, bajo el antecedente de que se ha comprobado la presencia de estos agentes en las aguas de los ríos San Pedro, Guayllabamba y Esmeraldas (Voloshenko-Rossin et al., 2015), los cuales desembocan o son las fuentes de abastecimiento de las plantas de potabilización de mencionadas ciudades. Se espera que el presente estudio motive a más investigaciones en esta temática y así, a futuro, se emita una normativa ambiental sobre los compuestos emergentes, en particular fármacos.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 COMPUESTOS EMERGENTES

El desarrollo de la humanidad en las últimas décadas ha traído como consecuencia el uso de sustancias químicas de consumo masivo para la mejora de la calidad de vida, tales como fármacos, pesticidas, plaguicidas, detergentes, cosméticos, ente otros. Una vez terminado su tiempo de vida útil o su función, estos productos llegan al ambiente y en muchos casos se convierten en agentes contaminantes de fuentes de agua, suelo y alimentos. Estos compuestos reciben el nombre de compuestos emergentes (CE).

El estudio de estos contaminantes es de suma importancia, actualmente se está evaluando el riesgo potencial para la salud que representan, su persistencia y las altas tasas de introducción medioambiental, así como también la de sus metabolitos y productos de transformación, ya que se ha demostrado que en algunos casos estos pueden ser incluso más tóxicos para el ecosistema que sus contaminantes precursores (Kümmerer, K., 2011).

Los CE han estado en contacto con los seres humanos desde hace varias décadas, pero en el pasado no era posible su detección debido a las falencias de las técnicas instrumentales, mismas que en las últimas décadas han tenido un sustancial incremento en su sensibilidad y robustez, lo cual hace posible estudiar una amplia variedad de CE en diferentes matrices, alcanzando límites de cuantificación en el rango de microgramos. Una característica importante de los CE es que no necesitan persistir en el ambiente para causar efectos negativos debido a que su transformación puede verse compensada con su tasa de introducción continua en el ambiente, ya que son productos de uso común (Pérez, 2017).

1.2 FÁRMACOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES

La contaminación por estos agentes químicos se da principalmente por vías antropogénicas, como resultado de la actividad humana, a través de la ganadería, fumigación, sectores industriales, como las farmacéuticas o cosméticas, y el mal manejo de desechos (Rahman et al., 2017).

La lista de CE incluye una amplia variedad de compuestos con diferentes estructuras, usos e identidades químicas, de los cuales un grupo de amplio interés son los fármacos debido a que su uso y consumo han incrementado consistentemente con el descubrimiento de nuevas drogas. Si bien es cierto, los productos farmacéuticos por lo general están bien caracterizados y sus impactos negativos se evalúan previo a su comercialización, pero la información acerca de cómo estos compuestos reaccionan en contacto con las aguas, su tasa de transformación y descomposición, y su impacto ambiental es limitada (Acosta, 2017).

Los distintos estudios realizados sobre la presencia de fármacos emergentes en matrices acuáticas se han desarrollado en ámbitos tanto cualitativos como cuantitativos. Una recopilación realizada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) afirma que, en Estados Unidos, las aguas superficiales, subterráneas y parcialmente tratadas contienen trazas farmacéuticas en concentraciones menores a 100 ng/L, mientras que el agua potable contiene concentraciones menores a 50 ng/L (World Health Organization, 2012).

Las técnicas cromatográficas más usadas para el desarrollo de estas investigaciones son la cromatografía de líquidos acoplada a un detector de masas (LC-MS) o espectrometría de masas tándem (CL-MS/MS) y la cromatografía de gases acoplada a un detector de masas (CG-MS) o espectrometría de masas tándem (CG-MS/MS) (Rivera-Utrilla, Sánchez-Polo, Ferro-García, Prados-Joya, & Ocampo-Pérez, 2013). “La técnica de CG-MS combina el gran poder de separación del cromatógrafo de gases combinado con la sensibilidad y selectividad del analizador de masas, lo cual le permite analizar de manera óptima muestras complejas” (Stashenko y Martínez, 2010), se escogió al CG-MS para este estudio debido a que esta técnica tiene la ventaja de tener acceso a librerías para realizar un cribado inicial de las muestras.

1.2.1 FÁRMACOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES Y SU OCURRENCIA EN MATRICES ACUATICAS

Se señala a los hospitales como una de las principales fuentes de contaminación de fármacos debido al mal manejo de los medicamentos

caducados y desechos médicos, ya que en muchos casos se conoce que estos terminan siendo descartados directamente al alcantarillado a través de los servicios higiénicos (León, 2015). Cabe destacar que la metabolización incompleta de los fármacos también incide en este problema, una vez ingeridos por el consumidor, estos agentes químicos son liberados, absorbidos, y distribuidos, posteriormente los fármacos y sus metabolitos metabolizados o no, son excretados por vía renal o fecal (Ankeley et al., 2017). Cuando la eliminación se da a través de la orina, el fármaco ha tenido una absorción en el organismo completa o casi completa, mientras que cuando se da por heces, no ha existido una absorción adecuada (Garza, Park, & Kocz, 2020).

En China, un estudio encontró que el 89% de muestras tomadas de agua de grifo contenían fármacos, de los cuales los de mayor concentración fueron la cafeína, metronidazol, ácido salicílico, ácido clofíbrico, carbamazepina, y dimetridazol (Leung et al., 2013). En la India, se analizó agua superficial y subterránea del río Ganges, en estas muestras se encontró la presencia de ketoprofeno, DEET, acetaminofén, hidroclorotiazida, diclofenaco, ciprofloxacina, naproxeno, cafeína, sulfametoxazol, carbamazepina y triclocarban (Sharma et al., 2019). En un estudio realizado en Italia, en los ríos Lambro, Olona y Seveso, se encontró que los CE más abundantes fueron la cafeína y la nicotina en rangos de concentración de 1 a 6 $\mu\text{g/L}$, también se detectó atenolol, carbamazepina, claritromicina, diclofenaco, ibuprofeno, hidroclorotiazida, naproxeno, ofloxacina y salbutamol en rangos de 4 a 34 ng/L (Riva, Zuccato, Davoli, Fattore, & Castiglioni, 2019). En Brasil, se analizaron 708 muestras de agua tomadas en el río Sao Paulo, en donde se encontraron fármacos como paracetamol, amoxicilina, diclofenaco, ibuprofeno, sulfametoxazol, trimetoprima y triclosán (Montagner et al., 2018). De igual forma, en Argentina, se encontró cafeína, ibuprofeno, diclofenaco, atenolol y carbamazepina en descargas de efluentes cloacales ubicados al margen del Río de la Plata y de las lagunas de la Región Pampeana (Marino et al., 2013).

En países de Latino América, menos del 25% de las aguas residuales son tratadas previo a ser desechadas a los ríos y mares, lo cual tiene una estrecha relación con la presencia de fármacos en estas aguas (Pinos et al., 2019). Así lo demuestra un estudio realizado en Ecuador a lo largo de la cuenca hidrográfica

de los ríos San Pedro, Guayllabamba y Esmeraldas, en los cuales se determinó la presencia de cafeína, sulfametoxazol, venlafaxina, o-desmetilvenlafaxina y algunos estrógenos esteroideos, además, como parte de la misma investigación se analizaron muestras de agua tratadas en la planta de potabilización de San Mateo, donde se encontró que los CE más persistentes fueron carbamazepina, acesulfame, sulfametoxazol, o-desmetilvenlafaxina y benzoilecgonina (Voloshenko-Rossin et al., 2015). Considerando este antecedente se presume que puedan existir más ciudades en el Ecuador que presenten este problema.

3.2.3 CALIDAD DEL AGUA POTABLE EN ECUADOR

Los procesos de potabilización de las plantas están diseñados para eliminar varios tipos de impurezas y contaminantes de acuerdo a estándares de calidad dados, el tipo de tratamientos aplicados depende de las características de agua a tratar, pero debido a que los fármacos emergentes no están sujetos a control, los tratamientos de potabilización hasta el momento no han sido enfocados en esta problemática (Kumar, Borah & Devi, 2020). A pesar de lo mencionado, las plantas de tratamiento logran cierto nivel de eliminación de residuos farmacéuticos, dependiendo de las propiedades fisicoquímicas y biológicas del fármaco, las características del agua y de las condiciones operativas de la planta (Teodosiu, Gilca, Barjoveanu, & Fiore, 2018).

Dentro del Ecuador, los procesos de potabilización de agua se realizan con el fin de cumplir los parámetros de la normativa INEN 1108, la cual se enfoca principalmente en un control físico-químico y microbiológico (INEN, 2020). Existen ciudades como Guayaquil y Esmeraldas en las cuales las fuentes de abastecimiento para la potabilización de agua reciben efluentes residuales industriales y domésticos. En Guayaquil, el sistema de distribución de agua potable inicia en la planta de producción de agua potable de “La Toma” de la cual su única fuente de abastecimiento es el río Daule, donde se encuentran las plantas potabilizadoras de Lurgi, Convencional y La Nueva (Interagua, 2011). En Esmeraldas, existe solamente la planta de potabilización de San Mateo y su fuente de abastecimiento es el río Esmeraldas, es importante mencionar que esta planta presenta constantemente problemas por lo que los pobladores usan también el servicio de tanqueros (Suárez, 2017).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de paracetamol, trimetoprima, cafeína y diclofenaco sódico en aguas potables de Guayaquil y Esmeraldas mediante CG-MS.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar la idoneidad del método de extracción por fase sólida mediante fortificaciones realizadas con los principios activos seleccionados.

Determinar las figuras de mérito: sensibilidad, selectividad, límite de cuantificación y límite de detección mediante el uso de estándares para la detección de paracetamol, trimetoprima, cafeína y diclofenaco sódico.

Determinar cualitativamente la presencia de CE adicionales a los planteados en las muestras de agua analizadas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los compuestos de interés del presente trabajo se escogieron en función de una revisión bibliográfica y datos sobre los fármacos de mayor consumo obtenida del Ministerio de Salud Pública contenidas en el anexo 1, además se pueden encontrar la estructura química y metabolismo de los analitos cafeína, trimetoprima, diclofenaco sódico y paracetamol en el anexo 2.

El desarrollo experimental se dividió en las siguientes etapas: selección de puntos de muestreo, toma de muestras, extracción en fase sólida (SPE), y análisis cromatográfico. Los procesos de: selección de puntos de muestreo, toma de la muestra y extracción en fase sólida se realizaron previamente a través del proyecto PUCE QINV0151IINV529020200 “Determinación de principios activos de productos farmacéuticos en el agua de consumo de Quito, Ibarra, Esmeraldas y Guayaquil, efectos y posibles tratamientos”. A continuación, se explica cómo se llevó a cabo cada una de estas etapas. La parte experimental de este trabajo de disertación sólo abarca el análisis cromatográfico de las muestras, las demás fases se explican para poder contextualizar y como insumos para el análisis de resultados y discusión de los mismos.

SELECCIÓN DE PUNTOS DE MUESTREO Y TOMA DE MUESTRAS

Los puntos de muestreo en las ciudades de Guayaquil y Esmeraldas se escogieron en función de la ubicación de los sistemas de producción de agua potable y sus redes de distribución, en el caso de Guayaquil se dividió a la ciudad en los sectores norte, centro y sur de allí se tomarán muestras de los principales barrios, para Esmeraldas se tomaron 3 muestras aleatorias por parroquia, además de muestras en tanqueros, y aguas de marcas comerciales. Se recolectaron 42 muestras en Esmeraldas y 45 en Guayaquil. Los anexos 3 y 4, contienen imágenes satelitales de ambas ciudades en donde se identifican los respectivos puntos de muestreo. El volumen de muestra tomado en cada punto de muestreo fue de 500 mL, a los cuales después de un análisis fisicoquímico *in situ*, se los procedió a almacenar en botellas de vidrio ámbar de tapa rosca previamente identificadas.

EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

El método de referencia para la SPE fue desarrollado por Gómez, Petrović, Fernández-Alba y Barceló (2006), pero fue optimizado aumentando los tiempos de sacado de los cartuchos. Para la extracción en fase sólida, se utilizó una bomba de vacío (Millipore, WP6111560), un manifold (27 x 17 x 9,5) y cartuchos Waters OASIS HLB con capacidad de 6 mL, todos los pasos de la extracción fueron realizados a una velocidad de flujo de 10 mL/min. El acondicionamiento de los cartuchos fue realizado usando 4 mL de metanol y 6 mL de agua, ambos, grado cromatográfico. Para la extracción se cargaron 500 mL de muestra, una vez concluida la elución se dejaron secar los cartuchos durante 10 minutos al vacío y fueron eluidos con 6 mL de metanol sobre un tubo de vidrio. Los extractos se concentraron hasta sequedad con la ayuda nitrógeno, seguido, se diluyó cada extracto en 1 mL de metanol y se lo transfirió a un vial para su posterior análisis cromatográfico.

Con el objetivo de evaluar el desempeño del proceso de SPE, se obtuvo el porcentaje de recuperación de fortificaciones realizadas, para los analitos estudiados en dos rangos de concentraciones (alto y bajo), para lo cual se utilizaron estándares de los fármacos estudiados y como solvente se usó metanol grado cromatográfico, las concentraciones de las fortificaciones se encuentran detalladas en la Tabla 1.

Tabla 1 Concentración de las fortificaciones realizadas para la SPE

Analito	Nivel (µg/L)	
	Alto	Bajo
Cafeína	1,0	0,05
Trimetoprima	1,0	0,05
Acetaminofén	1,0	0,05
Diclofenaco Sódico	1,0	0,05

2.1 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS EXTRACTOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A UN DETECTOR DE MASAS (CG-MS)

El método empleado en este análisis fue previamente optimizado como parte del proyecto de investigación “PUCE QINV0151IINV529020200 “Determinación de principios activos de productos farmacéuticos en el agua de consumo de Quito, Ibarra, Esmeraldas y Guayaquil, efectos y posibles tratamientos”.

En la primera parte del análisis se prepararon y corrieron estándares individuales de: cafeína, trimetoprima, diclofenaco sódico y paracetamol en una concentración de 5 mg/L, los cuales fueron preparados en metanol a partir de los estándares sólidos. Se hicieron corridas preliminares en modo SCAN para determinar los tiempos de retención y principales iones masa/carga correspondientes a cada uno de los analitos. La instrumentación y las condiciones cromatográficas utilizadas para el análisis por CG-MS se encuentran detalladas en la Tabla 2.

Tabla 2. Instrumentación y Condiciones Cromatográficas usadas en el análisis CG-MS.

Instrumentación	Condiciones Cromatográficas	
Cromatógrafo de gases Agilent 7890	Gas portador	Helio
Detector de masas Agilent 5977	Flujo	1,4 mL/min
Software ChemStation Data Analysis	Volumen de inyección	1 MI
Columna Cromatográfica DB-5ms, 30 m x 320 µm x 1 µm	<i>Condiciones horno</i>	<i>Inicial 50-70°C (2 min) 170-280°C: (0 min), 4.9°C/min 280-300°C: (10 min), 6.3°C/min</i>

Tabla 3. Condiciones Cromatográficas usadas en el análisis CG-MS-

Condiciones MS	
Biblioteca de	NIST MS Search
Espectros	
SCAN	(35-500) m/z
SIM	Paracetamol (43,80,109 y 151) m/z, Cafeína (55, 67, 82, 109 y 194) m/z, Diclofenaco (179,214, 242, 277 y 279) m/z y Trimetoprima (243,259,275 y 290) m/z
MS Quad:	150°C máximo de 200°C

Para la determinación de los límites de cuantificación (LC) y detección (LD), se realizaron 8 corridas de los analitos con las siguientes concentraciones ($\mu\text{g/L}$): 0.02 de cafeína, 0.4 de paracetamol y 2.8 de trimetoprima. Para la realización de la curva de calibración de cafeína, se prepararon estándares a las siguientes concentraciones: 0.02, 0.04, 0.08, 0.2, 0.4 y 3 $\mu\text{g/L}$. Una vez determinados los LC y LD, y realizada la curva de calibración, se procedió a correr las muestras, las cuales se encontraban en refrigeración en viales de vidrio ámbar con tapa de teflón.

Ya que el equipo permite realizar corridas paralelas en modo SIM y SCAN, se realizaron corridas simultaneas, en el modo SIM se usaron los iones específicos de cada uno de los cuatro analitos elegidos con el fin de aumentar la sensibilidad en la detección de los mismos, y en el modo SCAN se ejecutaron barridos de masas entre 35 a 500 m/z, con el fin de identificar la posible presencia de otros compuestos emergentes.

Los espectros de masas obtenidos fueron analizados mediante el software *ChemStation Data Analysis*, comparando cada uno de los espectros con la Biblioteca Virtual NIST MS. La confirmación de la presencia de los analitos calibrados: paracetamol, trimetoprima, cafeína y diclofenaco sódico, se realizó primero mediante la confirmación del tiempo de retención y luego con la confirmación del espectro de masas respectivo.

La presencia de otros CE fuera de los compuestos calibrados fue determinada mediante el software de deconvolución espectral (AMDIS). Los

extractos de cada sitio de muestreo se cribaron utilizando la biblioteca NISTDRUG. Se consideró como positiva la presencia de un compuesto cuando el factor de emparejamiento era mayor a 80. Este análisis de detección no objetivo se realizó para comprender los tipos de contaminantes tóxicos y persistentes que podrían estar presentes.

DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y SELECTIVIDAD

Un ensayo analítico es caracterizado, en cuanto a calidad, por la sensibilidad y selectividad. La sensibilidad es la cantidad o concentración mínima de analito que se puede identificar mientras que la selectividad se refiere a la capacidad de evaluar de forma inequívoca la presencia de un analito en presencia de interferentes. Un indicador de la sensibilidad de un método analítico es el límite de detección (Eurachem, 2016).

El límite de detección es la menor cantidad de analito que puede detectarse, aunque no necesariamente calcularse. Por otro lado, el límite de cuantificación es la menor cantidad de analito en una muestra que puede determinarse confiablemente (Eurachem, 2016). El LD y LC fueron determinados a través de la prueba t de student, con una significancia del 0,05 y un nivel de confianza del 95%, las fórmulas empleadas para determinar estos parámetros son las siguientes:

$$Lo_D = t \text{ de student} * S'o$$

$$Lo_C = K_Q * S'o$$

En las cuales:

Lo_D corresponde al límite de detección

Lo_C corresponde al límite de cuantificación

$S'o$ corresponde a la desviación estándar

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 EVALUACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MUESTRAS MEDIANTE SPE

A las muestras se les realizó un pretratamiento, con el fin de eliminar la mayor cantidad de interferencias, y a su vez que mejore la sensibilidad y selectividad del análisis cromatográfico. Con el fin de evaluar la idoneidad de SPE se utilizaron fortificaciones a dos niveles: bajo y alto.

Es importante mencionar que en el proceso de SPE, la reconstitución de la muestra es de suprema importancia, ya que de esto depende la disolución de los analitos en el extracto final, en este caso metanólico, y su eficiencia en el posterior proceso de medición.

En la tabla 4 se puede observar los resultados del proceso de SPE para los analitos estudiados.

Tabla 4. Evaluación del proceso de SPE

Parámetro	Nivel (µg/L)		Valor Medido	%Recuperación
Cafeína	Alto	1	0,95	95
	Bajo	0,05	0,041	82
Paracetamol/ Acetaminofén	Alto	1	0,82	82
	Bajo	0,05	Nd	Nd
Diclofenaco Sódico	Alto	1	Nd	Nd
	Bajo	0,05	Nd	Nd
Trimetoprima	Alto	1	0,58	58
	Bajo	0,05	Nd	Nd

nd* No determinado.

Para este proceso, los criterios de evaluación establecidos de acuerdo a la revisión bibliográfica son del 76 al 112%. Para la cafeína se obtuvieron buenos porcentajes de recuperación tanto en el nivel alto como en el bajo. En el caso del paracetamol y la trimetoprima solo fue posible determinar el porcentaje de recuperación en el nivel alto, las fortificaciones realizadas en el nivel bajo se encuentran por debajo de los límites de cuantificación, los

espectros de masas obtenidos a partir de los estándares de estos tres compuestos se pueden observar en las figuras 1, 2 y 3.

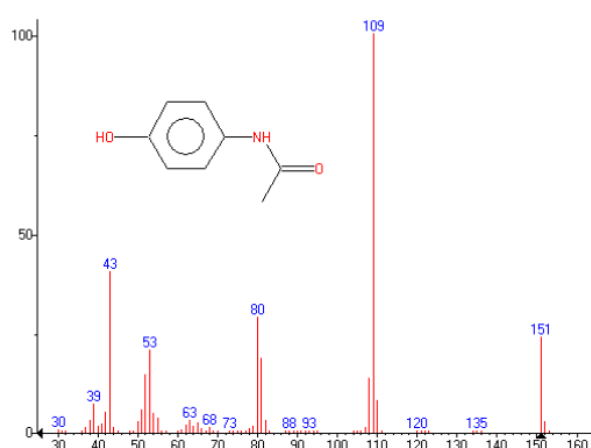


Figura 1. Espectro de masas del Paracetamol/Acetaminofen.

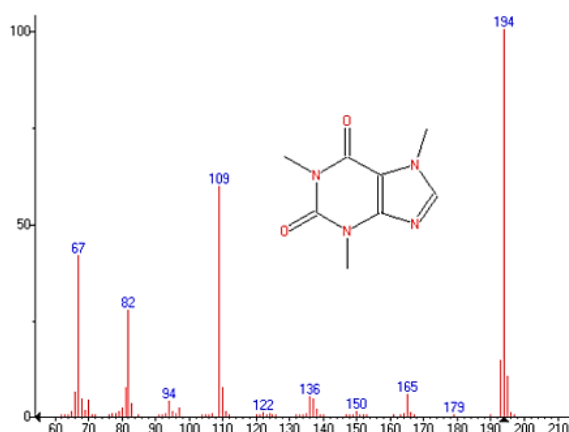


Figura 2. Espectro de masas de la Cafeína.

El porcentaje de recuperación de la fortificación en el rango alto para la trimetoprima fue menor al establecido, lo cual demuestra que existió una interferencia en el proceso. El cartucho empleado fue un Waters OASIS HLB, el cual tiene sorbentes basados en sílica, un problema asociado con estos cartuchos es que se puede tener dificultad para optimizar el proceso de SPE para compuestos polares, como un porcentaje de recuperación inconsistente y una capacidad baja (Waters, 2007). En cuanto a la trimetoprima, resulta ser soluble en agua, por lo que se podría explicar el bajo porcentaje de recuperación obtenido en las fortificaciones.

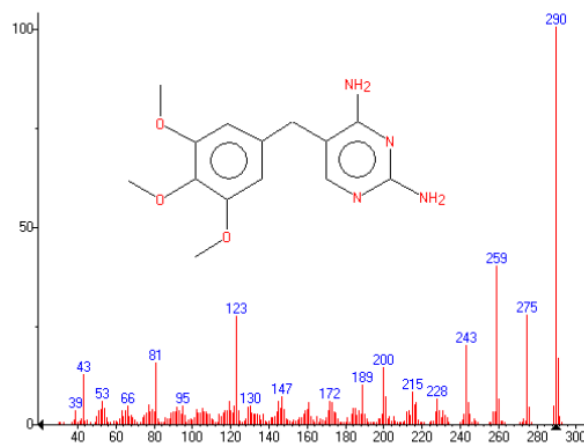


Figura 3. Espectro de masas de Trimetoprima.

Por otro lado, no fue posible realizar el análisis para el diclofenaco sódico, según un estudio realizado por Reddersen & Herber (2003), afirma que el diclofenaco sódico no puede ser analizado por GC debido a que se descompone en 2H-indol-2-ona, 1-(2,6-diclorofenil)-1,3-dihidro- y éster metílico de diclofenaco, lo que ocurre es que la molécula de diclofenaco sufre la condensación de su grupo carboxílico y amino resultando así en la formación de un anillo adicional que contiene nitrógeno. La figura 4 muestra el cromatograma obtenido a partir del estándar de diclofenaco sódico y los espectros de masas de ambos compuestos se aprecian.

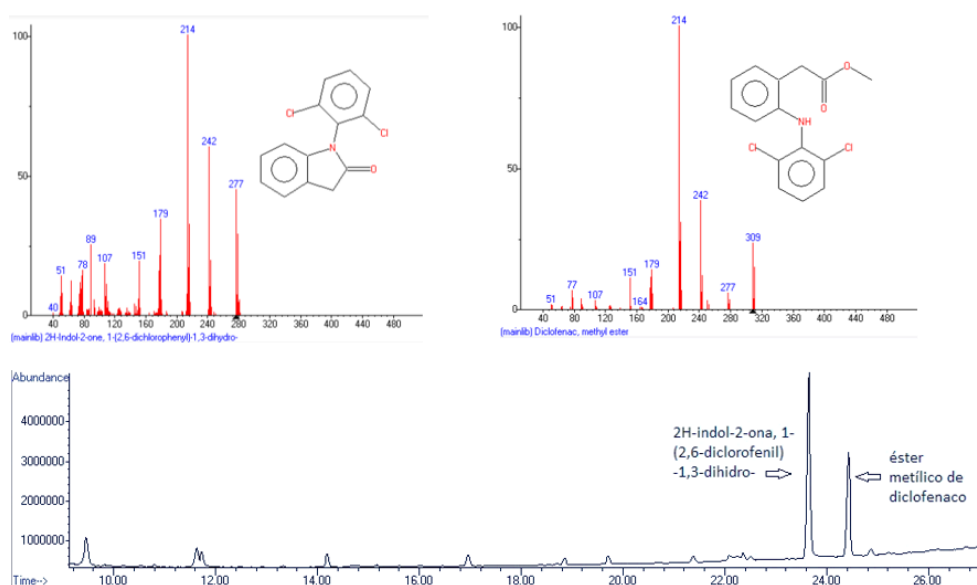


Figura 4. Espectros de masas y cromatograma de 2H-indol-2-ona, 1- (2,6-diclorofenil) -1,3-dihidro- y éster metílico de diclofenaco.

3.2 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS EXTRACTOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A UN DETECTOR DE MASAS (CG-MS).

3.2.1 PARÁMETROS DE CALIDAD DEL MÉTODO.

LÍMITES DE CUANTIFICACIÓN Y LÍMITES DE DETECCIÓN

En la tabla 5 se puede observar los límites de detección y cuantificación de los fármacos estudiados, los cuales fueron calculados con un nivel de significancia del 0,05 y un nivel de confianza del 95% con la prueba t de student. La cafeína tiene los LD y LC más bajos siendo 0,002 y 0,006 µg/L respectivamente, seguido por el paracetamol 0,028 y 0,075 µg/L, y por último la trimetoprima de 0,153 y 0,403 µg/L.

Tabla 5. Cálculo de límites de detección (LOD) y cuantificación (LOC) de los compuestos estudiados.

Parámetro	Cafeína	Paracetamol/ Acetaminofén	Trimetoprima
Valor ensayado (µg/L)	0,020	0,400	2,800
Valores medidos (µg/L)	0,015	0,320	2,850
	0,018	0,350	2,950
	0,017	0,330	2,630
	0,018	0,350	2,780
	0,014	0,380	2,750
	0,018	0,360	2,650
	0,015	0,380	2,630
	0,017	0,350	2,710
S	0,002	0,021	0,114
S`o	0,001	0,008	0,040
t: t de Student [n=7] = 2,998			
kQ=10			
LOD (t student* S`o)	0,002	0,028	0,153
LOC (kQ* S`o)	0,006	0,075	0,403

El límite de detección resulta ser un indicador de la sensibilidad del método, a partir de lo cual se dice que el método es más sensible para la cafeína, seguida por el paracetamol y por último la trimetoprima.

En el anexo 5 se puede apreciar la técnica, y los LD y LC para la cafeína, el paracetamol y a trimetoprima en distintas investigaciones. En cuanto a la cafeína y al paracetamol, los resultados de este método son comparables a los mencionados en el anexo 5, es importante decir que en este trabajo se logró LD y LC más bajos que en los métodos comparados en los que se usó la misma técnica. En el caso de la trimetoprima, al comparar los datos del anexo 5 con los obtenidos en la presente investigación, se denota que no se alcanzaron LD y LC suficientemente bajos.

En un estudio se realizó una comparación entre las técnicas analíticas empleadas para la determinación residuos farmacéuticos, entre los que se encuentran los analitos estudiados, en muestras de agua. Se encontró que las técnicas más usadas fueron CG-MS y CL-MS, resulta que los LD más bajos se lograron mediante con CG-MS, pero se obtiene una mejor precisión con LC-MS (Fatta, Achilleos, Nikolaou & Meriç, 2007).

En los anexos 6 y 7 se muestran las curvas de calibración realizadas para la cafeína, paracetamol y trimetoprima, en las que se puede apreciar una relación lineal positiva para todos los analitos. Los coeficientes de correlación mostrados en las gráficas corresponden al promedio de 3 curvas de calibración, al comparar estos valores se puede observar que el valor más cercano a 1 es el de la cafeína, seguido por el paracetamol y por último la trimetoprima, la sensibilidad del método para los distintos activos se puede evidenciar por la diferencia de pendientes. Como se observa en el anexo 6, existe una mayor dispersión en las mediciones en el caso de la trimetoprima.

Con el fin de verificar que la predicción de la concentración realizada a partir de la regresión lineal sea válida, se realizó un análisis de residuales, el cual pretende comprobar que la variabilidad del error sea constante en todo el rango lineal (Ellison, Barwick y Digid, 2009).

En los anexos 8 y 9 se puede observar los residuos de la regresión lineal y un análisis de varianza para cada analito estudiado. Respecto al análisis de varianza, en todos los casos se aprecia que el valor crítico de F es menor a 0.05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se dice que las variables están linealmente relacionadas. Estos resultados indican que las regresiones lineales para cafeína, paracetamol y trimetoprima son válidas para todas las concentraciones estudiadas.

ANÁLISIS DE BLANCOS

Se realizaron blancos de campo y de método con el fin de eliminar todas las interferencias posibles en la medición, como se aprecia en la tabla 5, se encontró que el ácido hexadecanoico éster metílico, estearato de metilo, fenol 2,2'-metilenbis[6-(1,1-dimetiletil)-4-metil- y el ácido hexadecanoico, éster 2-hidroxi-1- (hidroximetil) etílico aparecían en los cromatogramas, por lo que se dice que mencionados compuestos no son CE. Por otro lado, podrían ser el resultado de una contaminación al momento de procesar las muestras por parte de los analistas debido a que la técnica es muy sensible.

Tabla 6. Tiempo de retención, compuesto, formula y uso común en blancos.

Tiempo de Retención (min)	Compuesto	Formula	Uso Común
13,2	Dietiltoluamida	C ₁₂ H ₁₇ NO	Ingrediente en repelente contra insectos
19,2	Ácido hexadecanoico, éster metílico	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Productos de cuidado personal Saborizante
22,9	Estearato de metilo	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	Productos de cuidado personal Aditivo alimentario
28	Fenol, 2,2'-metilenbis [6- (1,1-dimetiletil) -4-metil-	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	Compuesto de la columna
29,5	Ácido hexadecanoico, éster 2-hidroxi-1- (hidroximetil) etílico	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	Actividad Antimicrobiana

La dietilamida es un ingrediente comúnmente utilizado en las lociones repelentes contra insectos, ya que ahuyenta plagas como los mosquitos y garrapatas, si bien los productos que contienen DEET están diseñados para aplicarse directamente sobre piel humana, se conoce que podría existir una cierta toxicidad asociada a su uso, pero esta información no se ha dilucidado (PubChem, 2021). La presencia de dietiltoluidamida, también conocida como DEET, fue causada por el experimentador al momento de la toma de muestra, esto se evidenció por la elevada concentración de este compuesto, que además cabe mencionar causó dificultad al momento del análisis. Se puede apreciar su espectro de masas en el anexo 10.

El ácido hexadecanoico éster metílico, también conocido como palmitato de metilo, se usa en cosmética ya que cumple una función de acondicionador para la piel, así mismo actúa como un agente saborizante en la industria alimenticia (PubChem,2021). Su espectro de masas se encuentra en el anexo 11.

El esterato de metilo es un ácido esteárico que tiene un rol como metabolito, está presente en algunas variedades de mora y en el clavo de olor, se usa en la industria alimenticia como un agente saborizante y en la industria cosmética como un acondicionador de piel (PubChem, 2021). El espectro de masas de este compuesto aparece en el anexo 12.

El ácido hexadecanoico, éster 2-hidroxi-1- (hidroximetil) etílico es un monoacilglicerol derivado del ácido hexadecanoico, es un metabolito activo presente en gran variedad de frutas y granos, además participa en el metabolismo de las algas (PubChem, 2021). En un estudio realizado por CG-MS en actinomicetas se encontró que el ácido hexadecanoico, éster 2-hidroxi-1- (hidroximetil) etílico tiene una potente actividad antimicrobiana (Kumari, Menghani, & Mithal, 2019). Su espectro de masas se encuentra en anexo 13.

En el análisis de las muestras de ambas ciudades existió un sangrado de la columna evidenciado por el desprendimiento de fenol 2,2'-metileno-bis[6(1,1-dimetiletil)-4-metil-, su espectro de masas se encuentra en el anexo 14. El sangrado de la columna es normal en cualquier columna cromatográfica capilar, en la actualidad existen columnas "ms" de bajo sangrado, las cuales son más inertes y alcanzan límites de temperatura superiores, como la usada en este ensayo (Agilent, 2016). En este caso el sangrado fue causado por las altas temperaturas, ya que el programa llegaba a la temperatura de 300°C, la cual es permitida de acuerdo a las especificaciones del fabricante, pero debido a la alta sensibilidad de la técnica de MS, es inevitable encontrar compuestos producto del sangrado en el análisis, ya que este se puede disminuir, pero no eliminar (Coleparmer, 2020). El sangrado se puede reducir considerando las temperaturas de trabajo y el deterioro de la columna (Skoog, Holler & Nieman, 2007).

3.2.2 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE MUESTRAS.

Como resultado del análisis cromatográfico de los extractos metanólicos correspondientes a las 87 muestras colectadas entre Esmeraldas y Guayaquil, se encontró uno de los cuatro analitos estudiados, la cafeína. La presencia de los compuestos encontrados en las muestras, tanto de Esmeraldas como para Guayaquil, se confirmaron con la ayuda de la comparación con sus espectros teóricos y tiempos de retención. Por otro lado, después de una investigación bibliográfica se encontró que los otros compuestos encontrados corresponden a productos de cuidado personal (PCP's), aditivos alimentarios, plastificantes, entre otros.

Se ha constatado que los CE más frecuentes en muestras acuáticas son los fármacos, seguidos por los PCP's y disruptores endócrinos, su estudio es de principal importancia debido a que poseen la capacidad de inducir efectos fisiológicos a bajas concentraciones en humanos y fauna silvestre, además están asociados a riesgos ambientales por su persistencia, toxicidad y bioacumulación (Peña-Guzmán et al., 2019).

3.2.2.1 ANALITOS ESTUDIADOS

Las tablas 6 y 7, contienen los resultados de los analitos cuantificados en las muestras de agua potable de las ciudades de Esmeraldas y Guayaquil respectivamente. Se encontró cafeína en un total de 19 muestras de agua potable, 7 de la ciudad de Esmeraldas y 12 muestras de Guayaquil. La concentración de cafeína encontrada está en un rango entre (0.11 y 2.12) $\mu\text{g/L}$ para Esmeraldas, y entre (0.08 y 0.63) $\mu\text{g/L}$ para Guayaquil. se procedió a su cuantificación con la ayuda de una curva de calibración. El anexo 7 muestra la curva de calibración utilizada para la cuantificación de la cafeína, y el anexo 15 muestra el factor de respuesta y la linealidad de la misma.

La cafeína es un fármaco usado como psicotrópico antiinflamatorio, se lo puede apreciar en la corrida cromatográfica al minuto 18,1 en la figura 5. La notable presencia de cafeína en las muestras de agua se debe al consumo generalizado de este compuesto, en alimentos, bebidas y medicamentos (PubChem, 2020). Algunas investigaciones mencionan a la cafeína como un indicador directo de la actividad humana en ambientes naturales, puesto que su presencia está directamente relacionada con la entrada de efluentes residuales domésticos en aguas superficiales (Ide, Osawa, Marcante, da Costa Pereira, & de Azevedo, 2017).

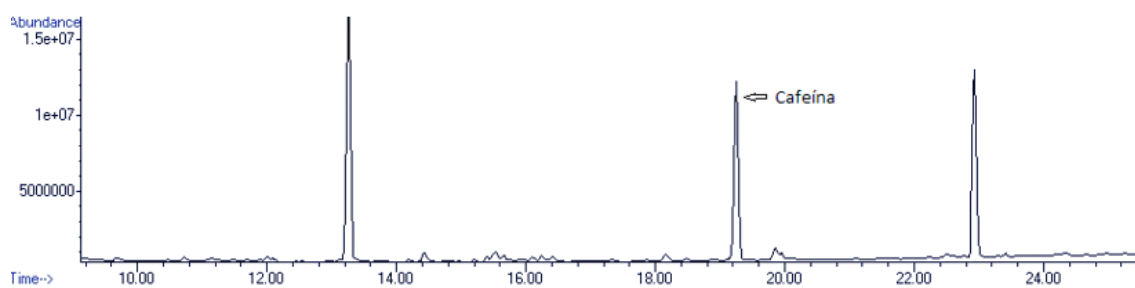


Figura 5. Cromatograma de la cafeína.

Tabla 7. Resultados muestras de la ciudad de Esmeraldas.

Muestra	N°	Cafeína ($\mu\text{g/L}$)	Paracetamol ($\mu\text{g/L}$)	Trimetoprima ($\mu\text{g/L}$)
Captación	1	2,12	<0,028	<0,153
Captación	3	<0,002	<0,028	<0,153
Tanque	4	<0,002	<0,028	<0,153
Tanque	5	<0,002	<0,028	<0,153
Centro	6	0,28	<0,028	<0,153
Centro	7	0,17	<0,028	<0,153
B. Altos	11	<0,002	<0,028	<0,153
B. Altos	12	<0,002	<0,028	<0,153
B. Altos	13	<0,002	<0,028	<0,153
B. Bajos	14	<0,002	<0,028	<0,153
B. Bajos	15	0,3	<0,028	<0,153
B. Bajos	16	<0,002	<0,028	<0,153
Tachina	18	0,15	<0,028	<0,153
Tachina	19	0,11	<0,028	<0,153
Tachina	20	<0,002	<0,028	<0,153
B. Sur	22	<0,002	<0,028	<0,153
B. Sur	23	<0,002	<0,028	<0,153
B. Sur	24	0,52	<0,028	<0,153
Las Piedras	26 1	<0,002	<0,028	<0,153
Las Piedras	26 2	<0,002	<0,028	<0,153
Tesalia	31 1	<0,002	<0,028	<0,153
All Natural	31 2	<0,002	<0,028	<0,153
Dasani	31 3	<0,002	<0,028	<0,153
Dasani	32 1	<0,002	<0,028	<0,153
All Natural	32 2	<0,002	<0,028	<0,153
Tesalia	33 1	<0,002	<0,028	<0,153
Tesalia	33 2	<0,002	<0,028	<0,153
All Natural	33 3	<0,002	<0,028	<0,153
Teaone	34 1	1,23	<0,028	<0,153
Teaone	34 2	0,91	<0,028	<0,153
Teaone	34 3	1,94	<0,028	<0,153
Esmeraldas	35 1	0,35	<0,028	<0,153
Esmeraldas	35 2	<0,002	<0,028	<0,153
Esmeraldas	35 3	0,71	<0,028	<0,153
Bidón	1	<0,002	<0,028	<0,153
Bidón	2	<0,002	<0,028	<0,153
Bidón	3	<0,002	<0,028	<0,153

Tabla 8. Resultados muestras de la ciudad de Guayaquil.

Muestra	N°	Cafeína (µg/L)	Paracetamol (µg/L)	Trimetoprima (µg/L)
Centenario	1	<0,002	<0,28	<0,153
Centenario	2	<0,002	<0,028	<0,153
Centenario	3	<0,002	<0,028	<0,153
Del Astillero	4	<0,002	<0,028	<0,153
Del Astillero	5	<0,002	<0,028	<0,153
Del Astillero	6	<0,002	<0,028	<0,153
Cristo del Consuelo	7	<0,002	<0,028	<0,153
Cristo del Consuelo	8	<0,002	<0,028	<0,153
Cristo del Consuelo	9	<0,002	<0,028	<0,153
Guasmo	10	<0,002	<0,028	<0,153
Guasmo	11	0,08	<0,028	<0,153
Guasmo	12	<0,002	<0,028	<0,153
Suburbio	13	<0,002	<0,028	<0,153
Suburbio	14	<0,002	<0,028	<0,153
Suburbio	15	<0,002	<0,028	<0,153
9 de octubre	16	<0,002	<0,028	<0,153
9 de octubre	17	0,16	<0,028	<0,153
9 de octubre	18	0,63	<0,028	<0,153
Las Peñas	19	<0,002	<0,028	<0,153
Las Peñas	20	<0,002	<0,028	<0,153
Las Peñas	21	<0,002	<0,028	<0,153
Malecón del Salado	22	<0,002	<0,028	<0,153
Malecón del Salado	23	<0,002	<0,028	<0,153
Malecón del Salado	24	<0,002	<0,028	<0,153
La Bahía	25	0,17	<0,028	<0,153
La Bahía	26	<0,002	<0,028	<0,153
La Bahía	27	0,08	<0,028	<0,153
Urdesa	28	<0,002	<0,028	<0,153
Urdesa	29	<0,002	<0,028	<0,153
Urdesa	30	0,09	<0,028	<0,153
Urdesa	31	<0,002	<0,028	<0,153
Urdesa	32	<0,002	<0,028	<0,153
Urdesa	33	<0,002	<0,028	<0,153
La Alborada	34	<0,002	<0,028	<0,153
La Alborada	35	<0,002	<0,028	<0,153
La Alborada	36	<0,002	<0,028	<0,153
La Alborada	37	0,15	<0,028	<0,153
La Alborada	38	<0,002	<0,028	<0,153
La Alborada	39	<0,002	<0,028	<0,153
Bastión Popular	40	<0,002	<0,028	<0,153
Bastión Popular	41	<0,002	<0,028	<0,153
Bastión Popular	42	<0,002	<0,028	<0,153
Daule	43	<0,002	<0,028	<0,153
Daule	44	<0,002	<0,028	<0,153
Daule	45	<0,002	<0,028	<0,153

La presencia de cafeína en este estudio concuerda con los resultados obtenidos por Voloshenko (2015), en el cual también determina la presencia de este fármaco en los ríos San Pedro, Guayllabamba y Esmeraldas, aunque no pudo determinar sus límites de detección ni de cuantificación.

La concentración máxima encontrada en las muestras de agua analizadas es de 2,12 µg/L. Al comparar los valores obtenidos en este trabajo con otras investigaciones de distintos países tenemos que en Brasil es de 2,8 µg/L (Machado et al., 2016), en Reino Unido es de 1,8 µg/L (Petrie, Barden, & Kasprzyk-Hordern, 2015) y en España de 5,93 µg/L (Esteban et al., 2014), por lo que se dice que los valores están en proporciones similares.

En la presente investigación los LD y LC del método obtenidos para el paracetamol y la trimetoprima están muy por encima de la concentración en la cual se presume están los analitos, por lo que se concluye que el método no es lo suficientemente sensible y por ello no fue posible determinar la presencia de paracetamol ni trimetoprima en las muestras de agua analizadas. Un estudio realizado en Italia sobre la ocurrencia de fármacos y hormonas en aguas potables por LC-MS, corrobora esto, ya que se reporta paracetamol y trimetoprima, en concentraciones inferiores a 0,007 µg/L (Vulliet, Cren-Olivé, & Grenier-Loustalot, 2009).

3.2.2.2 ANALITOS NO CALIBRADOS

RESULTADOS ESMERALDAS

La tabla 9 muestra los posibles compuestos emergentes adicionales presentes en las muestras de Esmeraldas que deberían ser considerados en futuros análisis, entre los que se encuentran la nicotina, hidroxitolueno butilado, teobromina, ácido 2-propenoico, 2-metil-, 2-etil-2 - [[(2-metil-1-oxo-2-propenil) oxil] metil] -1,3-propanodiol éster, colestanol y campesterol.

Tabla 9. Tiempo de retención, compuesto, fórmula, uso común y ocurrencia en muestras de Esmeraldas.

Tiempo de Retención (min)	Compuesto	Formula	Uso Común	Ocurrencia muestras
10,1	Nicotina	C10H14N2	Alcaloide vegetal	3
12,1	Hidroxitolueno butilado	C15H24O	Conservante alimenticio Cosméticos PCP Manufactura de tintes y pinturas	5
18,5	Teobromina	C7H8N4O2	Alcaloide vegetal	5
20,8	Ácido 2-propenoico, 2-metil-, 2-etil-2 - [[(2-metil-1-oxo-2-propenil) oxil] metil] -1,3-propanodiol éster	C18H26O6	Materiales de construcción Sellantes y adhesivos Manufactura plásticos	8
38,6	Colestanol	C27H48O	Derivado del colesterol	11
41,2	Campesterol	C28H48O	Derivado del esteroil	3

La nicotina es un alcaloide vegetal que se encuentra en la planta de tabaco, estimula el sistema nervioso central y la liberación de neurotransmisores. Es el principal componente de los cigarrillos, y se la suele usar terapéuticamente para quienes pretenden dejar de fumar (PubChem, 2021). En Esmeraldas existen problemas de cortes en el suministro de agua y debido a esto los pobladores usualmente almacenan agua en canecas azules en los patios de sus casas, en muchos casos estos contenedores no tienen una limpieza adecuada. Se presume que la presencia de este compuesto es producto de una contaminación de la caneca de almacenamiento de agua de la cual fue tomada la muestra, su cromatograma y espectro de masas se puede observar en el anexo 16.

El hidroxitolueno butilado, también conocido como BHT, tiene como característica inhibir la autooxidación de compuestos orgánicos insaturados y previene la formación de radicales libres, se lo utiliza en la industria alimenticia como conservante, y en la industria cosmética por sus propiedades antioxidantes (PubChem, 2021). El cromatograma y espectro de masas de este compuesto se observa en el anexo 17.

La teobromina es una dimetilxantina y un alcaloide derivado del cacao, es un vasodilatador, diurético y estimulante del corazón, además tiene un papel antagonista como receptor de adenosina, es un componente alimenticio y metabolito vegetal (PubChem, 2021). Este compuesto se encontró en una muestra del río Teaone, su presencia se debe que la producción de cacao en el Ecuador esta principalmente en las provincias de Esmeraldas, Manabi, El Oro y Guayaquil (Superintendencia de Poder del Control de Mercado, 2017). Se puede el cromatograma de este compuesto en el anexo 18, así como su espectro de masas.

El Ácido 2-propenoico, 2-metil-, 2-etil-2 - [[[2-metil-1-oxo-2-propenil) oxil] metil] -1,3-propanodiil éster se usa en la industria de la construcción para la elaboración de materiales e insumos de protección, además de la manufactura de plásticos, adhesivos y sellantes (PubChem, 2021). Aparece en muestras del río Esmeraldas y Teaone, lo cual puede ser causado por el uso de agua de los sectores industriales del sector (Prado, 2015). En el anexo 19 se puede apreciar su cromatograma y espectro de masas.

El colestanol es colestanoide resultado de la oxidación del colesterol, se lo puede encontrar en heces fecales humanas, cálculos biliares, huevos, entre otras materias biológicas (PubChem, 2021). También se lo utiliza como un indicador para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con xantomatosis cerebrotendinosa (Pilo de la Fuente et al., 2011). Se puede apreciar a este compuesto al minuto 38,6 en el anexo 20, así como su espectro de masas. El campesterol es un derivado esteroideo del esterol más simple, forma parte de los fitosteroles, ha sido descrita como una sustancia peligrosa debido a que es un irritante de la piel y los ojos (PubChem, 2021). Se puede observar su cromatograma y espectro de masas en el anexo 21. Estos compuestos se

encontraron en muestras del río Teaone, el cual está contaminado por la actividad humana, ya que la mayor parte de los centros urbanos vierten directamente las aguas servidas de los desagües, además de la contaminación causada por el sector industrial (Prado, 2015).

RESULTADOS GUAYAQUIL

La tabla 10 muestra los posibles compuestos emergentes adicionales presentes en las muestras de Guayaquil que deberían ser considerados en futuros análisis, entre los que se encuentran el ftalato de dimetilo, el acetilcitrato y trifenil fosfato.

Tabla 10. Tiempo de retención, compuesto, fórmula, uso común y ocurrencia en muestras de Guayaquil.

Tiempo de Retención (min)	Compuesto	Formula	Uso Común	Ocurrencia muestras
11,2	Ftalato de dimetilo	C10H10O4	Plastificante Agente de recubrimiento Repelentes e insecticidas	4
25	Acetilcitrato de tributilo	C20H34O8	Plastificante	2
27,9	Trifenil fosfato	C18H15O4P	Agente Ignífugo Plastificante	2

El ftalato de dimetilo, también conocido como DMP, se lo utiliza para aumentar la flexibilidad de los plásticos y el caucho, se lo utiliza como combustible para cohetes, lacas, agentes de recubrimiento, vidrio de seguridad, polvos de moldeo y repelentes e insecticidas (PubChem, 2021). Aparece al minuto 11,2, como se puede observar en el anexo 22, así como su espectro de masas.

El acetilcitrato de tributilo se lo utiliza como solvente en la manufactura de pinturas, tintas y esmalte de uñas, también le brinda flexibilidad a los plásticos y se usa en la elaboración de medicamentos (PubChem, 2021). Aparece al minuto

25, como se puede observar en el anexo 23, así como también su espectro de masas.

El trifenil fosfato, se lo conoce también como TPHP, se forma por la condensación de ácido fosfórico con fenol, sus principales usos son como agente ignífugo y en la fabricación de plásticos en productos como electrónicos y tapicería de automóviles (PubChem, 2021). El TPHP aparece al minuto 27,9, en el cromatograma del anexo 24 así como su espectro de masas.

La presencia de estos contaminantes en la zona puede ser causada debido a que en Guayaquil se encuentran varias Industrias plastificantes como Plastilit, Zodplast, Plasinca, Aseplast, entre otras.

4. CONCLUSIONES

Se determinó la presencia de cafeína en un total de 19 muestras de agua potable, 7 de la ciudad de Esmeraldas y 12 muestras de Guayaquil, se determinó que su concentración está entre (0,11 y 2,12) $\mu\text{g/L}$ para Esmeraldas y (0,08 y 0,63) $\mu\text{g/L}$ para Guayaquil. Por otro lado, no se encontró paracetamol ni trimetoprima esto debido a que estos compuestos estaban bajo los límites de cuantificación del método cromatográfico. El diclofenaco sódico no pudo ser analizado ya que se al realizar el análisis sufría una descomposición en 2H-indol-2-ona, 1- (2,6-diclorofenil) -1,3-dihidro- y éster metílico de diclofenaco.

En cuanto a la idoneidad en la extracción en fase sólida (SPE), se obtuvieron porcentajes de recuperación dentro del intervalo de confianza en el nivel alto 1,0 $\mu\text{g/L}$ para cafeína y paracetamol, por lo que se concluyó que el proceso de SPE fue óptimo para estos compuestos, en el caso de la trimetoprima el porcentaje de recuperación obtenido a nivel alto fue de 58%, debido a que se presentó una interferencia debido al cartucho empleado.

Los límites de detección y cuantificación de los fármacos estudiados fueron calculados con un nivel de confianza del 95% y con un nivel de significancia de 0,05 con la prueba t de student, se determinó que la cafeína tuvo los LD y LC más bajos siendo 0,002 y 0,006 $\mu\text{g/L}$ respectivamente, seguido por el paracetamol 0,028 y 0,075 $\mu\text{g/L}$, y por último la trimetoprima de 0,153 y 0,403 $\mu\text{g/L}$.

Los otros compuestos encontrados en las muestras de agua potable fueron el hidroxitolueno butilado, teobromina, ácido 2-propenoico, 2-metil-, 2-etil-2-[[2-metil-1-oxo-2-propenil) oxil metil]-1,3-propanodiol éster, colestanol y campesterol en Esmeraldas, y el ftalato de dimetilo, acetilcitrato de butilo y trifenil fosfato en Guayaquil, debido a sus usos estos podrían ser posibles compuestos emergentes adicionales que deberían ser considerados en futuros análisis.

5. RECOMENDACIONES

Para el análisis de compuestos emergentes se recomienda la optimización de métodos muy sensibles y selectivos, ya que se espera bajas concentraciones de estos contaminantes. Mediante el análisis con CL-MS se podría llegar a LD y LC más bajos.

En el caso del diclofenaco sódico, se recomienda tomar en consideración la descomposición de este compuesto, una vez encontrados y cuantificados los picos de 2H-indol-2-ona, 1- (2,6-diclorofenil) -1,3-dihidro- y éster metílico de diclofenaco, sumar ambas concentraciones para tener una aproximación de la concentración real de diclofenaco, o en su defecto escoger otra técnica analítica para ese analito.

Según la revisión bibliográfica (Ministerio de Salud Pública, 2017) se recomienda realizar un análisis de otros fármacos como la carbamazepina, venlafaxina, sulfametoxazol y estrógenos esteroideos, ya que son los más abundantes en otros estudios de la región.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acosta, S. (2017). *Determinación de principios activos de productos farmacéuticos en el agua de consumo de Quito y Ambato, efectos y posibles tratamientos*. (Maestría). Universidad Central de Ecuador. Quito. Ecuador.

Agilent. (2016). *Columnas GC Agilent J&W*. Retrieved from website: http://sglab.net/wp-content/uploads/2019/07/Agilent_GC_y_MSGC-columns.pdf

Ankeley, GT., Brooks BW. Huggett, DB. Y Sumpter JP. (2007). Repeating History: pharmaceutical in the environment. *Environmental Science & technology*, 41(24): 8211-8217.

Ashton, D., Hilton, M., & Thomas, K. V. (2004). Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Science of The Total Environment*, 333(1-3), 167–184. doi:10.1016/j.scitotenv.2004.04.062

Coleparmer. (2020). Achieving Low Levels of GC Column Bleed Matters - Coleparmer. Retrieved from Coleparmer.com website: <https://www.coleparmer.com/tech-article/achieving-low-levels-gc-column-bleed>

Ellison, S., Barwick, V. y Duguid, T. (2009). *Estadísticas prácticas para el científico analítico*. RSC Publishing, Reino Unido

Esteban, S., Gorga, M., Petrovic, M., González-Alonso, S., Barceló, D., & Valcárcel, Y. (2014). Analysis and occurrence of endocrine-disrupting compounds and estrogenic activity in the surface waters of Central Spain. *Science of the Total Environment*, 466-467, 939–951. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.101>

Eurachem (2016). *La Adecuación al Uso de Métodos Analíticos*. Recuperado de: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf

Fatta, D., Achilleos, A., Nikolaou, A., & Meriç, S. (2007). Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(6), 515–533. doi:10.1016/j.trac.2007.02.001

Garza, A. Z., Park, S. B., & Kocz, R. (2020). Drug Elimination. Retrieved from PubMed website: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547662/>

Glassmeyer, S. T., Furlong, E. T., Kolpin, D. W., Batt, A. L., Benson, R., Boone, J. S., ... Wilson, V. S. (2017). Nationwide Reconnaissance of Contaminants of Emerging Concern in Source and Treated Drinking Waters of the United States. *Science of The Total Environment*, 581-582, 909–922. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.12.004

Gogoi, A., Mazumder, P., Tyagi, V. K., Tushara Chaminda, G. G., An, A. K., & Kumar, M. (2018). Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundwater for Sustainable Development*, 6, 169–180. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2017.12.009>

Gómez, M. J., Petrović, M., Fernández-Alba, A. R., & Barceló, D. (2006). Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. *Journal of Chromatography A*, 1114(2), 224–233. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.02.038>

Ide, A. H., Osawa, R. A., Marcante, L. O., da Costa Pereira, J., & de Azevedo, J. C. R. (2017). Occurrence of Pharmaceutical Products, Female Sex Hormones and Caffeine in a Subtropical Region in Brazil. *CLEAN - Soil, Air, Water*, 45(9), 1700334. <https://doi.org/10.1002/clen.201700334>

INEN (2020) INEN 1108: 2011 Norma Técnica Ecuatoriana “Agua Potable-Requisitos”. Quito: INEN.

Interagua (2011) Ajuste y Revisión del Plan de Muestreo de Agua Potable, Alcantarillado Sanitario y Alcantarillado Pluvial. Obtenido de: https://www.interagua.com.ec/sites/default/files/portal-de-transparencia/planes-programas/tomo_i.pdf

Jelić, A., Petrović, M., & Barceló, D. (2012). Pharmaceuticals in Drinking Water. *Emerging Organic Contaminants and Human Health*, 47–70. doi:10.1007/698_2011_133

Khalil, A. M. E., Memon, F. A., Tabish, T. A., Salmon, D., Zhang, S., & Butler, D. (2020). Nanostructured porous graphene for efficient removal of emerging contaminants (pharmaceuticals) from water. *Chemical Engineering Journal*, 398, 125440. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125440>

Kleywegt, S., Pileggi, V., Yang, P., Hao, C., Zhao, X., Rocks, C., ... Whitehead, B. (2011). Pharmaceuticals, hormones and bisphenol A in untreated source and finished drinking water in Ontario, Canada — Occurrence and treatment efficiency. *Science of The Total Environment*, 409(8), 1481–1488. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.01.010

Komori, K., Suzuki, Y., Minamiyama, M., & Harada, A. (2012). Occurrence of selected pharmaceuticals in river water in Japan and assessment of their environmental risk. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(6), 4529–4536. doi:10.1007/s10661-012-2886-4

Kumar, M., Borah, P., & Devi, P. (2020). Priority and emerging pollutants in water. *Inorganic Pollutants in Water*, 33–49. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818965-8.00003-2>

Kumari, N., Menghani, E., & Mithal, R. (2019). GCMS analysis of compounds extracted from actinomycetes AIA6 isolates and study of its antimicrobial efficacy. *Indian Journal of Chemical Technology*, 26, 362–370. Retrieved from <http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/49682/1/IJCT%2026%284%29%20362-370.pdf>

Kümmerer, K. (2011). *Contaminantes Emergentes*, Elsevier, Oxford, 69.

León, M. (2015). *Caracterización Físico-Química, Biológica y Ecotoxicológica del Agua Residual de un Hospital de la Ciudad de Cuenca*. (Postgrado), Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador.

Leung, H. W., Jin, L., Wei, S., Tsui, M. M. P., Zhou, B., Jiao, L., ... Lam, P. K. S. (2013). *Pharmaceuticals in Tap Water: Human Health Risk Assessment and Proposed Monitoring Framework in China*. *Environmental Health Perspectives*, 121(7), 839–846. doi:10.1289/ehp.1206244

Li, Y .. y Migliaccio, K. (2010). *Conceptos de calidad del agua, muestreo y análisis*. Boca Raton: CRC Press, 199-22. doi.org/10.1201/b10157

Machado, K. C., Grassi, M. T., Vidal, C., Pescara, I. C., Jardim, W. F., Fernandes, A. N., ... Severo, F. J. R. (2016). A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. *Science of the Total Environment*, 572, 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.210>

Marino, D. J. G., Carriquiriborde, P., Ronco, A. E. y Elorriaga, Y. (2013). *Contaminantes emergentes: productos farmacéuticos en el medio ambiente*. Trabajo presentado en el VII Congreso de Medio Ambiente Recuperado de <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/26491>

Ministerio de Salud Publica. (2017). *Cuadro Nacional de medicamentos básicos*. Quito: Ministerio de Salud Publica.

Moeder, M., Schrader, S., Winkler, M., & Popp, P. (2000). Solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry of biologically active substances in water samples. *Journal of Chromatography A*, 873(1), 95–106. doi:10.1016/s0021-9673(99)01256-x

Montagner, C., Sodr , F., Acayaba, R., Vidal, C., Campestrini, I., Locatelli, M., ... Jardim, W. (2018). Ten Years-Snapshot of the Occurrence of Emerging Contaminants in Drinking, Surface and Ground Waters and Wastewaters from S o Paulo State, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180232>

Peña-Guzmán, C., Ulloa-Sánchez, S., Mora, K., Helena-Bustos, R., Lopez-Barrera, E., Alvarez, J., & Rodriguez-Pinz n, M. (2019). Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: A review of the current literature. *Journal*

of Environmental Management, 237, 408–423.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.100>

Pérez, J. (2017). Fármacos como Contaminantes Emergentes: caracterización, cuantificación y eliminación en plantas de tratamiento de aguas residuales. (Doctorado). Universidad de Oviedo.

Petrie, B., Barden, R., & Kasprzyk-Hordern, B. (2015). A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Research*, 72, 3–27. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.053>

Pilo de la Fuente, B., Sobrido, M. J., Girós, M., Pozo, L., Lustres, M., Barrero, F., ... Jiménez-Escrig, A. (2011). Utilidad de los niveles de colestanol en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con xantomatosis cerebrotendinosa. *Neurología*, 26(7), 397–404.
<https://doi.org/10.1016/j.nrl.2010.12.009>

Pinos, V., Esquivel-Hernández, G., Cipriani-Avila, I., Mora-Abril, E., Cisneros, J., Alvarado, A. y Abril-Ulloa, V. (2019). Contaminantes Emergentes en Aguas Trans-Americanas. *Ambiente y Agua*, 14 (6). doi: 10.4136 / ambi-agua.2436

Prado, E. (2015). Estado de la Calidad del Agua del Río Teaone entre la Termoeléctrica y la Desembocadura del Río Esmeraldas. (Tesis de Grado). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Esmeraldas, Ecuador.

PubChem. (2020). PubChem. Retrieved October 8, 2020, from @pubchem website: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Rahman, M., Yanful, E. y Jasim, S. (2007). Endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceutical and care personal products (PPCPs) in the aquatic environment: implications for the drinking water industry and global environmental health. *Journal of Water of Health*, 7(2), 224-243.

Reddersen, K., & Heberer, T. (2003). Formation of an artifact of diclofenac during acidic extraction of environmental water samples. *Journal of Chromatography A*, 1011(1-2), 221–226. doi:10.1016/s0021-9673(03)01173-7

Riva, F., Zuccato, E., Davoli, E., Fattore, E., & Castiglioni, S. (2019). Risk assessment of a mixture of emerging contaminants in surface water in a highly urbanized area in Italy. *Journal of Hazardous Materials*, 361, 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.099>

Rivera-Utrilla, J., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M. Á., Prados-Joya, G., & Ocampo-Pérez, R. (2013). Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere*, 93(7), 1268–1287.

Russo, D. (2012). Paracetamol. *Revista Digital de Ciencias* (8)6, 200-206. Recuperado de: <http://repositorio.ub.edu.ar/bitstream/handle/123456789/842/Articulo%208%20-%206.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Sharma, B. M., Bečanová, J., Scheringer, M., Sharma, A., Bharat, G. K., Whitehead, P. G., ... Nizzetto, L. (2019). Health and ecological risk assessment of emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, and artificial sweeteners) in surface and groundwater (drinking water) in the Ganges River Basin, India. *Science of The Total Environment*, 646, 1459–1467.

Skoog, D., Holler, J. & Nieman, T. (2007). *Principios de Análisis Instrumental*. España: McGraw-Hill.

Stashenko, E. y Martínez, J. (2010). Separar, Fragmentar e Integrar: La rutina de un análisis por CG-MS. *Scientia Chromatographica*, 2 (2), 23-46.

Suárez, J. (2017). Implementación de la Planificación Estratégica para la Empresa Pública Municipal Mancomunada de Agua Potable y Saneamiento de Atacames, Esmeraldas y Río Verde EMMAPS San Mateo EP. (Pregrado), Universidad Internacional del Ecuador, Quito, Ecuador

Superintendencia de Control del Poder de Mercado. (2017). Estudio de Producción y Comercialización de Cacao Fino de aroma en el Ecuador.

Retrieved from Scpm.gob.ec website: <https://www.scpm.gob.ec/sitio/wp-content/uploads/2019/03/ESTUDIO-DEL-CACAO-IZ7-version-publica-ultima.pdf>

Teodosiu, C., Gilca, A.-F., Barjoveanu, G., & Fiore, S. (2018). Emerging pollutants removal through advanced drinking water treatment: A review on processes and environmental performances assessment. *Journal of Cleaner Production*, 197, 1210–1221. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.247>

Voloshenko-Rossin, A., Gasser, G., Cohen, K., Gun, J., Cumbal-Flores, L., Parra-Morales, W., Sarabia, F., Ojeda, F. y Lev, O. (2015) Contaminantes emergentes en la cuenca del Esmeraldas en Ecuador: descarga y atenuación de contaminantes orgánicos emergentes a lo largo de los ríos San Pedro – Guayllabamba – Esmeraldas. *Ciencia ambiental: procesos e impactos*, 17 (1), 41-53.

Vulliet, E., Cren-Olivé, C., & Grenier-Loustalot, M.-F. (2009). Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters. *Environmental Chemistry Letters*, 9(1), 103–114. <https://doi.org/10.1007/s10311-009-0253-7>

Waters. (2007). Solid-Phase Extraction with Oasis® HLB Sorbent: Simple Procedures for Superior Sample Preparation. Retrieved from website: https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/my_oas98.pdf

World Health Organization. (2012). *Pharmaceuticals in drinking water*. Retrieved from https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44630/9789241502085_eng.pdf

Ye, Z., Weinberg, H. S., & Meyer, M. T. (2007). Trace Analysis of Trimethoprim and Sulfonamide, Macrolide, Quinolone, and Tetracycline Antibiotics in Chlorinated Drinking Water Using Liquid Chromatography Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 79(3), 1135–1144. doi:10.1021/ac060972a

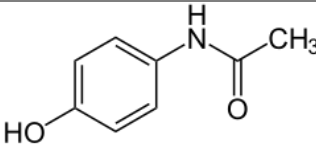
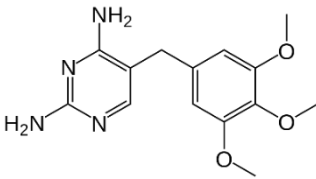
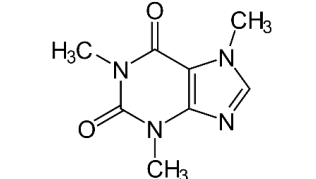
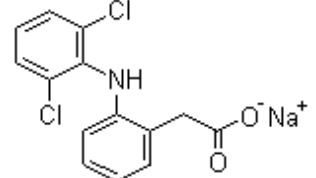
7. ANEXOS

Anexo 1 Listado de los medicamentos más consumidos a nivel nacional y en las ciudades de Guayaquil y Esmeraldas en el año 2017 (Ministerio de Salud Pública, 2017)

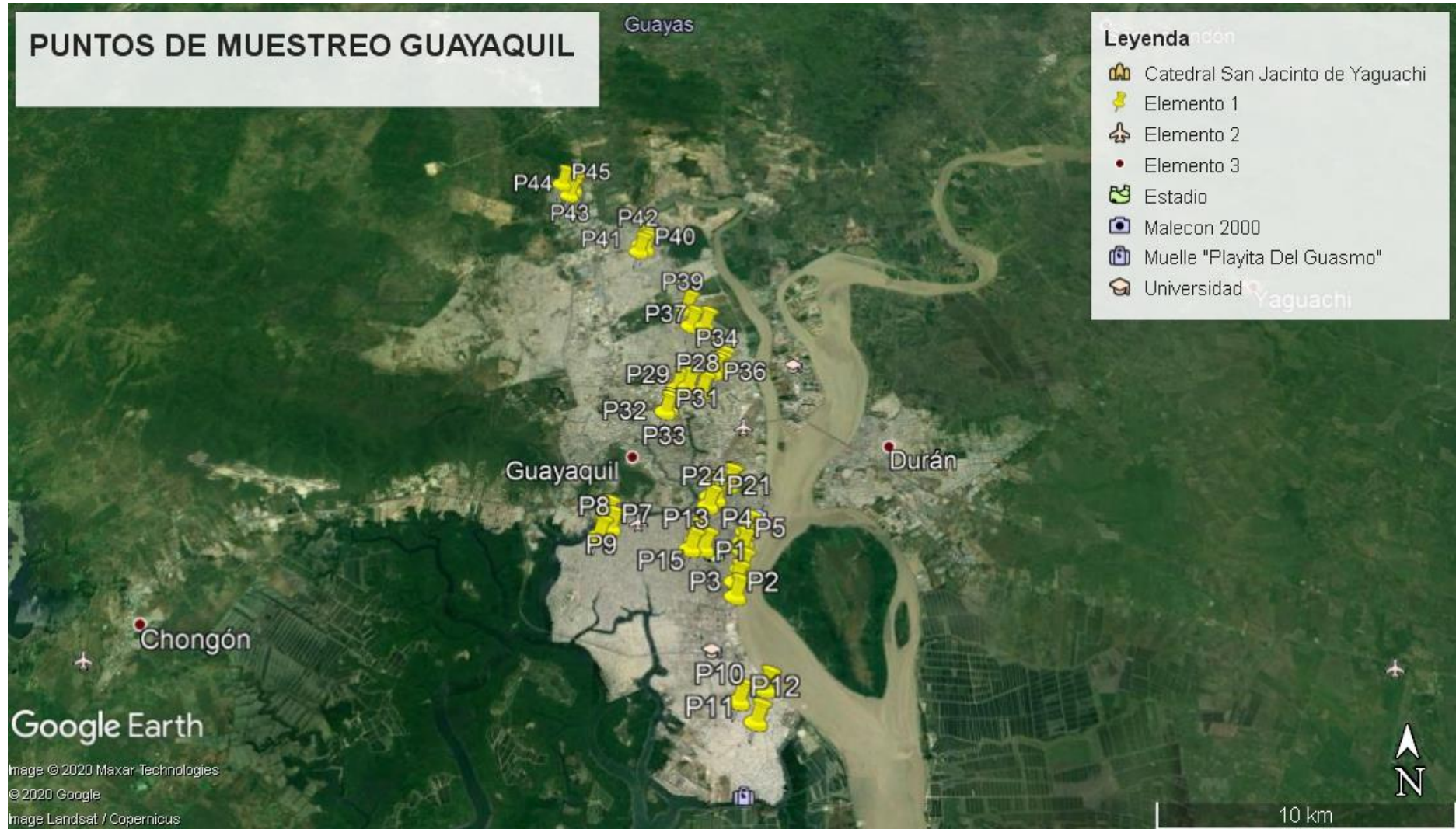
N°	Nivel Nacional		Ciudad			
	Fármaco	Consumo Total	Esmeraldas		Guayaquil	
			Fármaco	Consumo Total	Fármaco	Consumo Total
1	Paracetamol sólido oral 500 mg	53.561.073,00	Paracetamol sólido oral 500 mg	1.029.282,00	Paracetamol sólido oral 500 mg	11.412.486,00
2	Ibuprofeno sólido oral 400 mg	32.543.225,00	Hierro + Ác. Fólico sólido oral 60 mg + 400 mg	469.062,00	Ibuprofeno sólido oral 400 mg	66.585.981,00
3	Omeprazol sólido oral 20 mg	26.950.001,00	Vitamina B1, B6, B12 sólido oral	402.336,00	Hierro + Ác. Fólico sólido oral 60 mg + 400 mg	4.135.987,00
4	Hierro + Ác. Fólico sólido oral 60 mg + 400 mg	18.679.997,00	Losartan sólido oral 100 mg	380.271,00	Losartan sólido oral 50 mg	3.899.356,00
5	Losartan sólido oral 50 mg	16.648.938,00	Losartan sólido oral 50 mg	370.990,00	Losartan sólido oral 100 mg	3.757.611,00
6	Losartan sólido oral 100 mg	15.006.575,00	Cefalexina sólido oral 500 mg	354.129,00	Cefalexina sólido oral 500 mg	3.636.689,00
7	Cefalexina sólido oral 500 mg	14.445.327,00	Ibuprofeno sólido oral 400 mg	335.250,00	Metformina sólido oral 500 mg	2.838.794,00
8	Amoxicilina sólido oral 500 mg	13.276.509,00	Ác. Acetilsalicílico sólido oral 100 mg	326.830,00	Omeprazol sólido oral 20 mg	2.743.269,00
9	Diclofenaco sólido oral 50 mg	11.857.879,00	Amlodipina sólido oral 10 mg	301.161,00	Vitamina B1, B6, B12 sólido oral	2.532.826,00

10	Enapril sólido oral 20 mg	10.892.166,00	Hierro, multivitaminas y minerales sólido oral	279.028,00	Amoxicilina sólido oral 500 mg	2.490.214,00
11	Hierro, multivitaminas y minerales sólido oral	10.374.599,00	Metformina y Sulfonamidas sólido oral 500 mg + 5 mg	258.257,00	Glibenclamida sólido oral 5 mg	2.457.754,00
12	Ác. Acetilsalicílico sólido oral 100 mg	9.374.779,00	Amoxicilina sólido oral 500 mg	233.678,00	Amlodipina sólido oral 10 mg	2.145.295,00
13	Metformina sólido oral 500 mg	9.301.223,00	Clortalidona sólido oral 50 mg	218.553,00	Diclofenaco sólido oral 50 mg	2.134.105,00
14	Vitamina B1, B6, B12 sólido oral	9.134.095,00	Loratadina sólido oral 10 mg	209.725,00	Loratadina sólido oral 10 mg	2.090.454,00
15	Loratadina sólido oral 10 mg	8.448.982,00	Diclofenaco sólido oral 50 mg	198.547,00	Lopinavir + Ritonavir sólido oral 200 mg + 50 mg	1.984.130,00
16	Amlodipina sólido oral 10 mg	8.281.153,00	Omeprazol sólido oral 20 mg	185.733,00	Enalapril sólido oral 20 mg	1.957.496,00
17	Metformina y Sulfonamidas sólido oral 500 mg + 5 mg	8.274.823,00	Enapril sólido oral 10 mg	174.708,00	Ác. Fólico sólido oral 1 mg	1.874.792,00
18	Carbonato de Calcio sólido oral 500 mg	6.916.239,00	Amlodipina sólido oral 5 mg	169.679,00	Ác. Acetilsalicílico sólido oral 100 mg	1.871.693,00
19	Ác. Fólico sólido oral 1 mg	6.446.563,00	Ciprofloxacino sólido oral 500 mg	134.956,00	Hierro, multivitaminas y minerales sólido oral	1.812.002,00
20	Metformina sólido oral 850 mg	5.985.735,00	Ác. Fólico sólido oral 1 mg	132.497,00	Metformina y Sulfonamidas sólido oral 500 mg + 5 mg	1.744.569,00

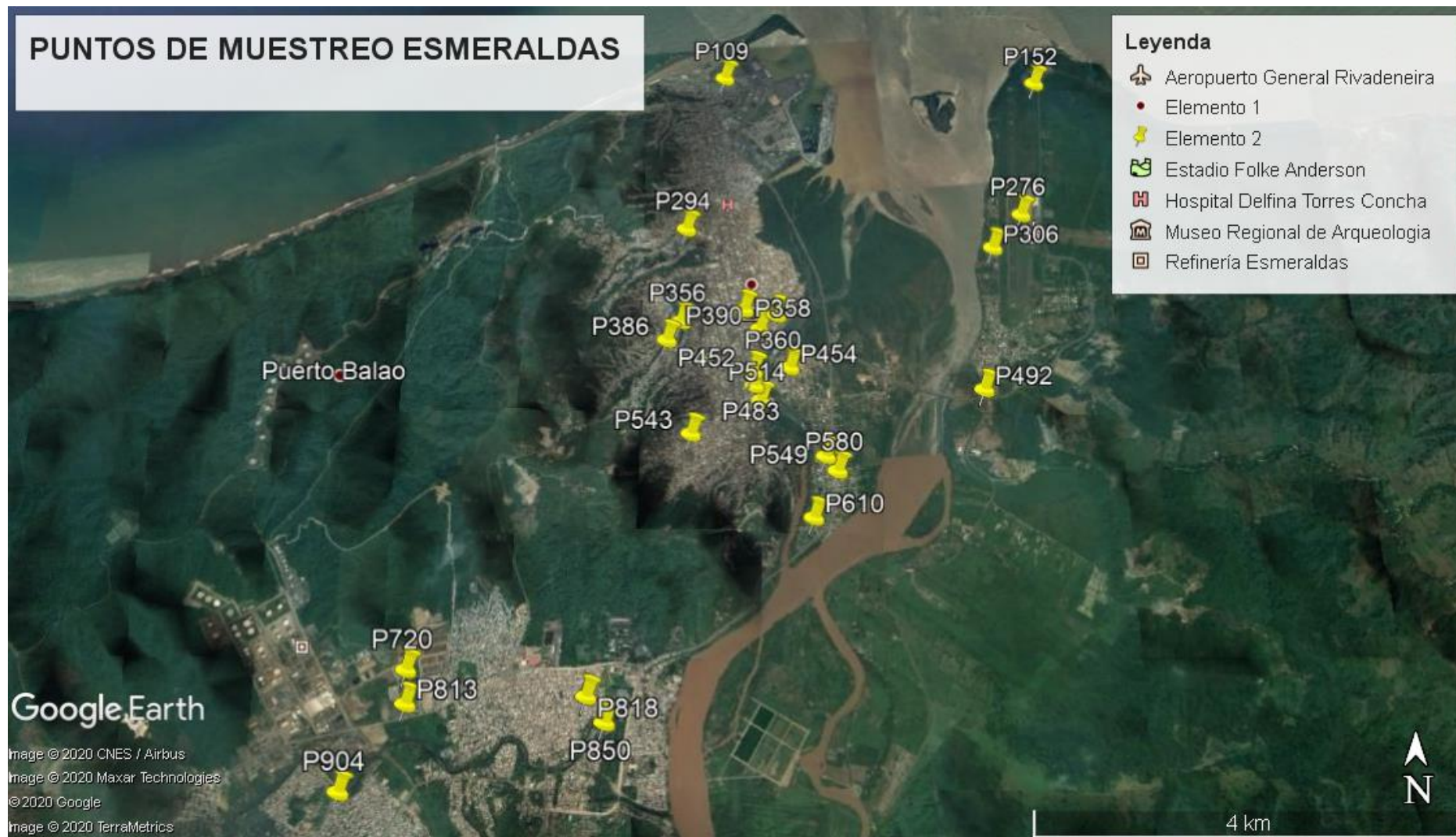
Anexo 2. Estructura química, metabolismo y propiedades físico-químicas de los CE estudiados. (PubChem, 2020).

Compuestos/ Fórmula	Estructura Química	Metabolismo	Propiedades Físico-Químicas
Paracetamol/ Acetaminofén $C_8H_9NO_2$		<p>El fármaco se metaboliza principalmente en el hígado hasta un 90 %, aproximadamente un 5% es eliminado sin sufrir ninguna reacción por vía renal.</p>	<p>Es un sólido cristalino incoloro, con una solubilidad en agua de 14000mg/L a 25 °C, es soluble también en metanol, etanol y dimetilformamida.</p>
Trimetoprima $C_{14}H_{18}N_4O_3$		<p>Aproximadamente el 60-80% de trimetoprima se elimina de forma inalterada por la orina.</p>	<p>Este compuesto es un sólido que presenta una solubilidad en agua de 400 mg/L a 25°C.</p>
Cafeína $C_8H_{10}N_4O_2$		<p>La cafeína se absorbe por el tracto intestinal de forma rápida y completa, presentando una biodisponibilidad del 100%.</p>	<p>Es un polvo inodoro y amargo, con una solubilidad en agua de 21600 mg/L a 25 °C.</p>
Diclofenaco Sódico $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$		<p>El diclofenaco es casi completamente absorbido en el tracto intestinal, sin embargo, por un metabolismo de primer paso hepático solo del 50 a 60% alcanza circulación sistémica. Aproximadamente un 65% del fármaco se excreta por la orina, y un 35% por heces fecales</p>	<p>Es un polvo cristalino blanco, moderadamente higroscópico. Su solubilidad en agua es de 2,37 mg/L a 25 °C.</p>

Anexo 3. Puntos de muestreo en la ciudad de Guayaquil.



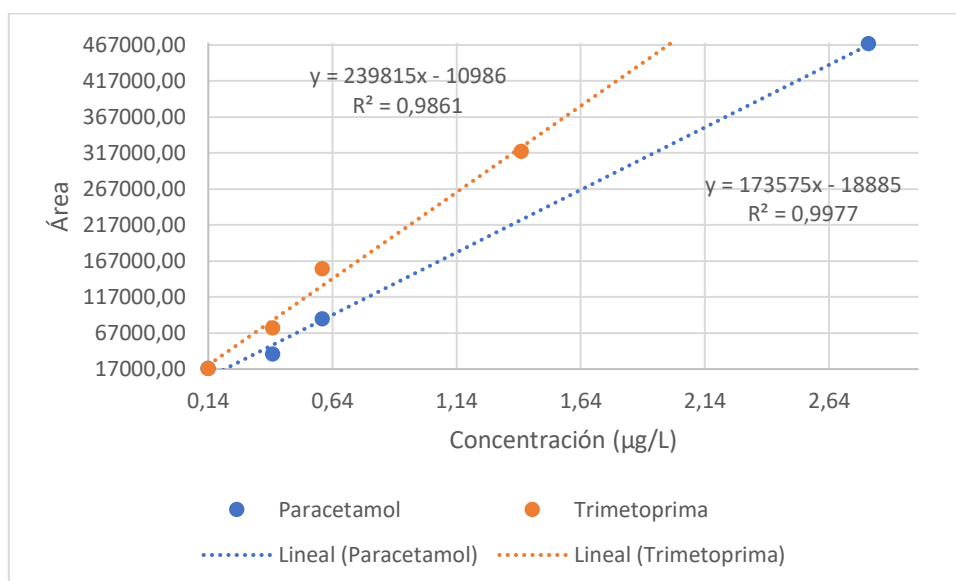
Anexo 4. Puntos de muestreo en la ciudad de Esmeraldas.



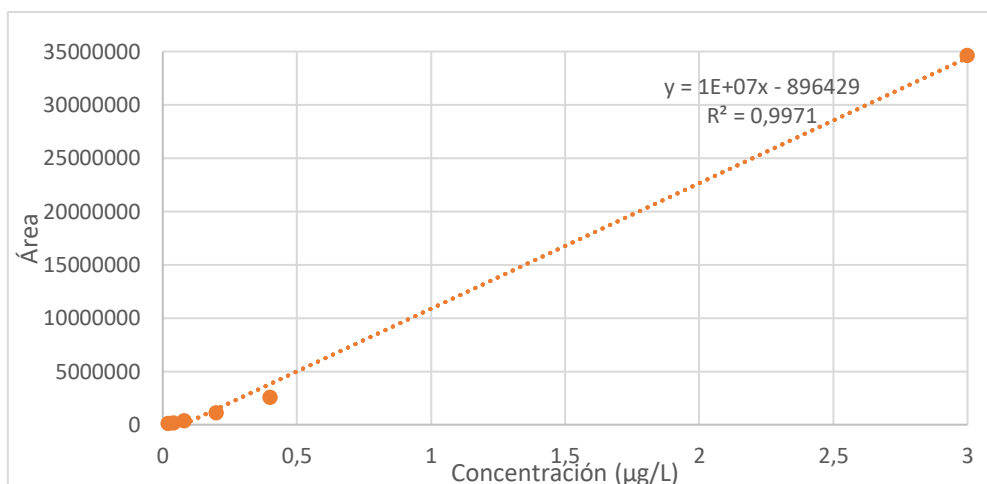
Anexo 5. Fármacos, técnica de análisis, LD, LC y referencia bibliográfica.

Parámetro	Técnica	LD µg/L	LC µg/L	Referencia
Paracetamol	CL-MS	0,047	0,132	(Gómez, Petrović, Fernández-Alba y Barceló, 2006)
Trimetoprima		0,004	0,011	
Cafeína	CL-MS	0,001	0,004	(Machado et al., 2016)
Paracetamol	CL-MS	0,05	-	(Ashton, Hilton, & Thomas, 2004)
Trimetoprima		0,01	-	
Cafeína	CG-MS	0,008	0,027	(Ide, Osawa, Marcante, da Costa Pereira, & de Azevedo, 2017).
Paracetamol	CL-MS	-	0,002	(Vulliet, Cren-Olivé & Grenier-Loustalot, 2009)
Trimetoprima		-	0,001	
Cafeína	CL-MS	0,021	0,071	(Esteban et al., 2014)
Paracetamol	CG-MS	10	-	(Moeder, Schrader, Winkler, & Popp, 2000)
Trimetoprima	CL-MS	0,005	0,013	(Ye, Weinberg y meyer, 2007).
Cafeína	CG-MS	0,5	-	(Moeder, Schrader, Winkler, & Popp, 2000)
Paracetamol	CL-MS	0,002	-	(Kleywegt, Pileggi, Yang, Hao, Zhao, Rocks y Whitehead, 2011)
Trimetoprima		0,001	-	
Cafeína	CL-MS	0,013	-	(Komori, Suzuki, Minamiyama y Harada, 2012)

Anexo 6. Curvas de calibración para Paracetamol y Trimetoprima.



Anexo 7. Curva de Calibración de la Cafeína.



Anexo 8. Residuales de la regresión lineal de los compuestos estudiados

Cafeína		Paracetamol		Trimetoprima	
Concentración (µg/L)	Residuos	Concentración (µg/L)	Residuos	Concentración (µg/L)	Residuos
0,02	720091,477	0,14	-0,0685545	0,14	0,01431536
0,04	545240,738	0,40	0,07556325	0,40	0,04493979
0,08	260680,356	0,60	-0,0042873	0,60	-0,0940827
0,2	-403728,96	2,80	-0,0027214	1,40	0,03482758
0,4	-1304050,3				
3	181766,672				

Anexo 9. Análisis de varianza de los residuales de la regresión lineal de los datos de los compuestos estudiados.

ANÁLISIS DE VARIANZA CAFEÍNA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	9,5321E+14	9,5321E+14	1371,35	3,17503E-06
Residuos	4	2,7804E+12	6,9509E+11		
Total	5	9,5599E+14			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepción	-896429,06	393851,958	-2,2760559	0,08515635	-1989937,4	197079,285
Concentración	11773087,5	317919,046	37,0317149	3,175E-06	10890402,7	12655772,2

ANÁLISIS DE VARIANZA PARACETAMOL

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	4,48826469	4,48826469	860,207105	0,00116049
Residuos	2	0,01043531	0,00521766		
Total	3	4,4987			

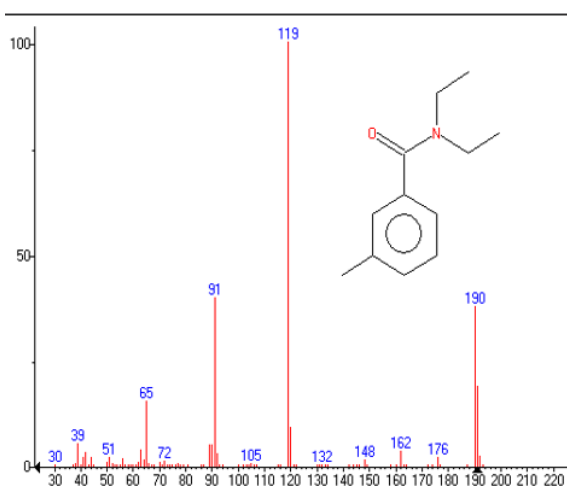
	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepción	0,11083012	0,04682706	2,36679671	0,14157011	-0,0906504	0,31231069
Área	5,7478E-06	1,9598E-07	29,3292875	0,00116049	4,9046E-06	6,5911E-06

ANÁLISIS DE VARIANZA TRIMETOPRIMA

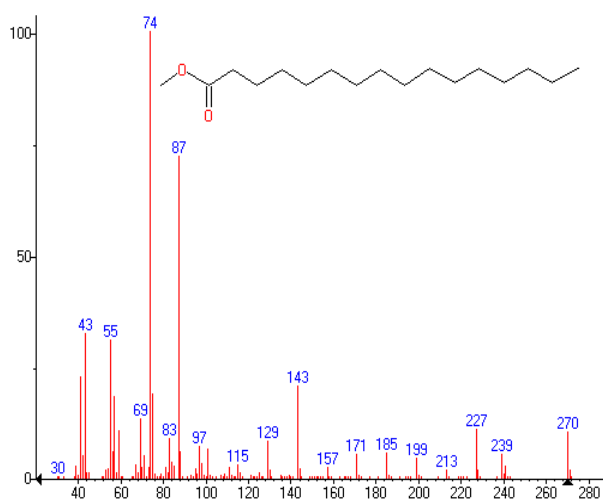
	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	0,87441096	0,87441096	142,307505	0,00695382
Residuos	2	0,01228904	0,00614452		
Total	3	0,8867			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepción	0,05397486	0,0625171	0,86336156	0,47893676	-0,2150145	0,32296424
Área	4,1121E-06	3,4471E-07	11,9292709	0,00695382	2,6289E-06	5,5952E-06

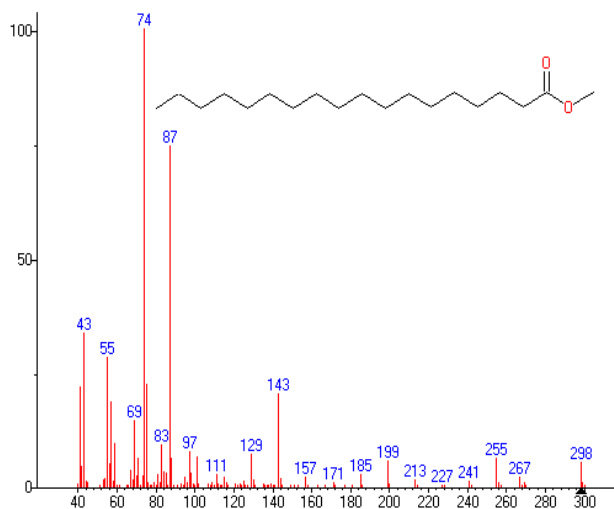
Anexo 10. Espectro de masas de Dietiltoluamida.



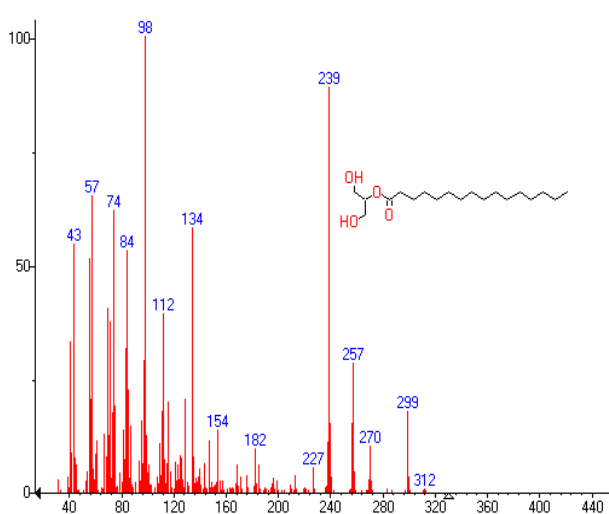
Anexo 11. Espectro de masas del Ácido hexadecanoico, éster metílico.



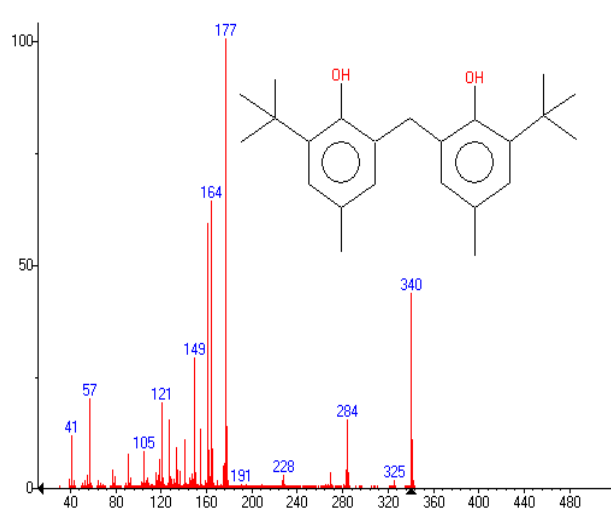
Anexo 12. Espectro de masas de esterato de metilo.



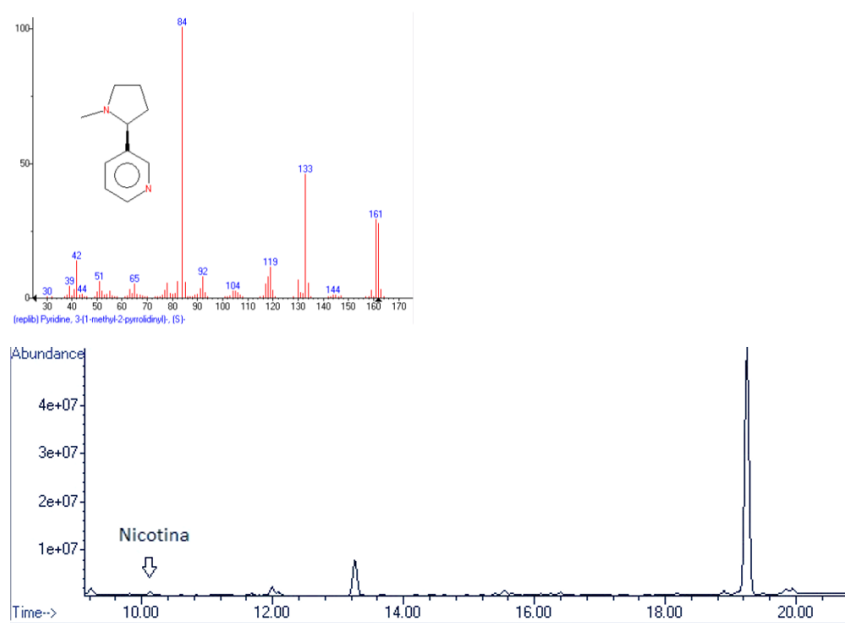
Anexo 13. Espectro de masas de ácido hexadecanoico, éster 2-hidroxi-1-(hidroximetil) etílico.



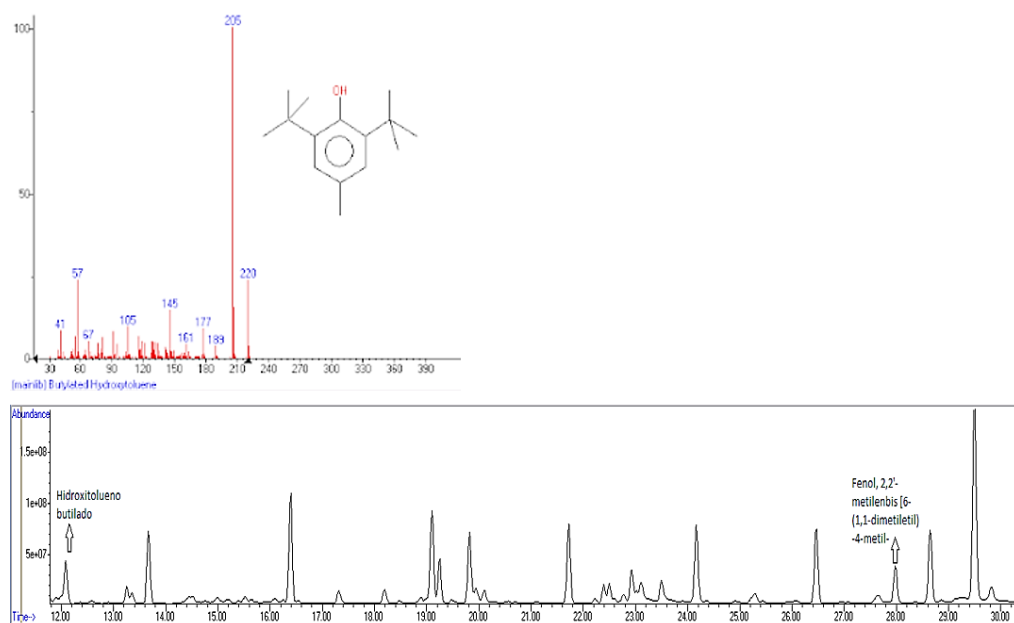
Anexo 14. Espectro de masas de Fenol, 2,2'-metilenbis [6- (1,1-dimetiletil) -4-metil-



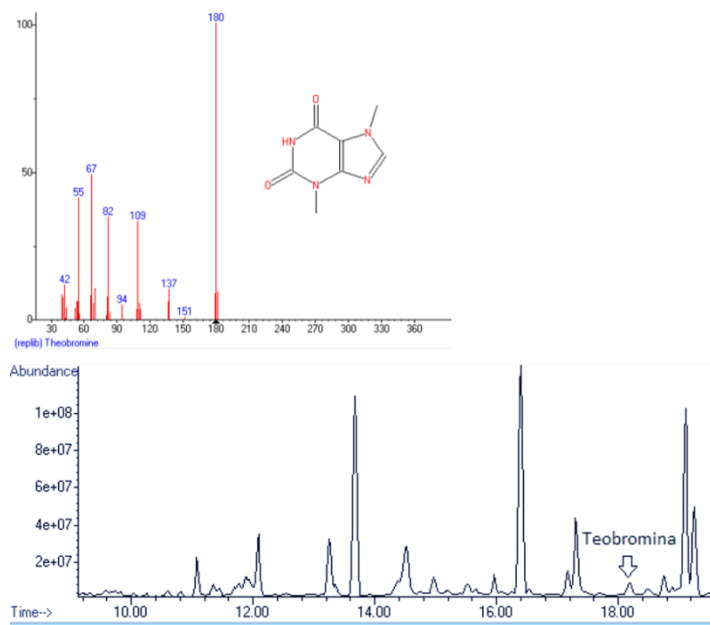
Anexo 16. Cromatograma y espectro de masas de la nicotina.



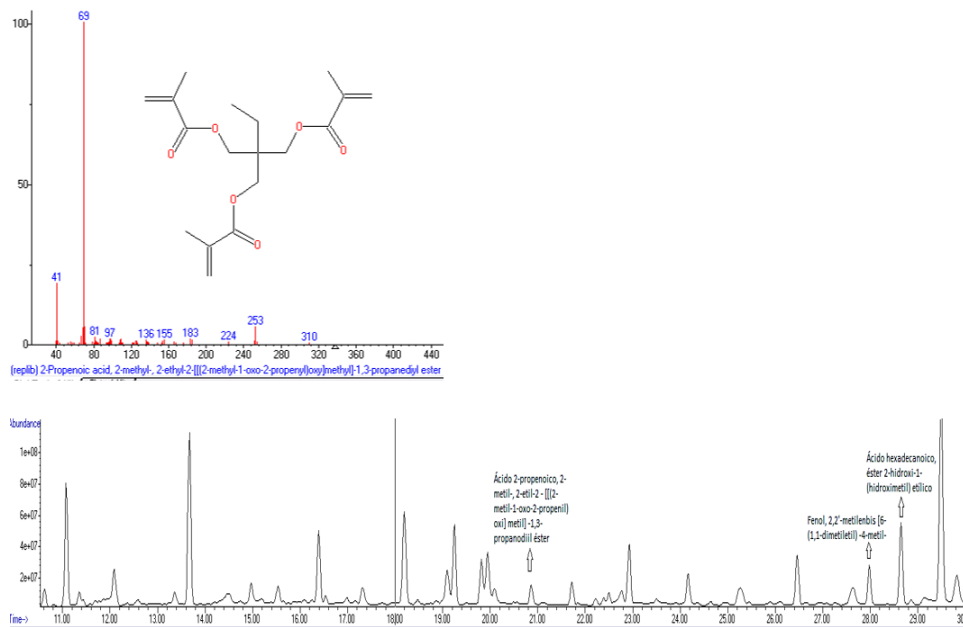
Anexo 17. Cromatograma y espectro de masas de hidroxitolueno butilado.



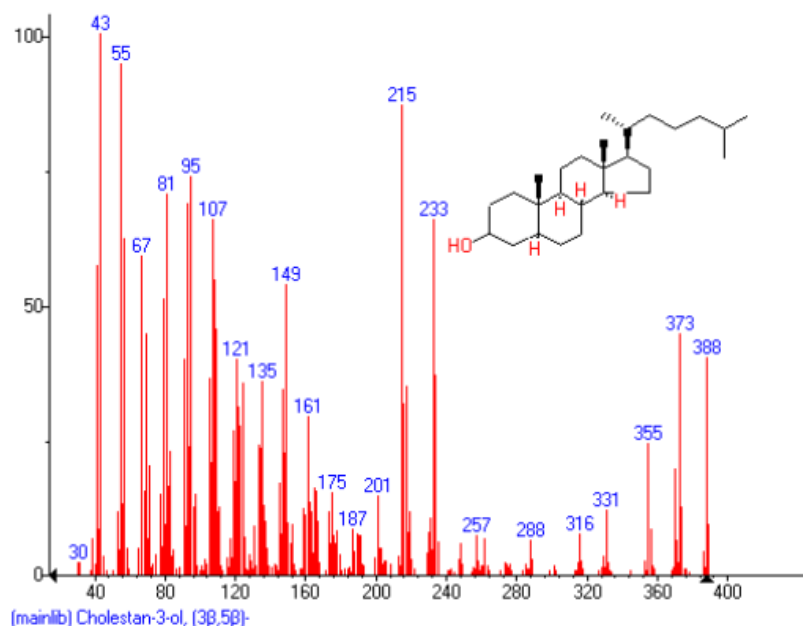
Anexo 18. Cromatograma y espectro de masas de Teobromina.



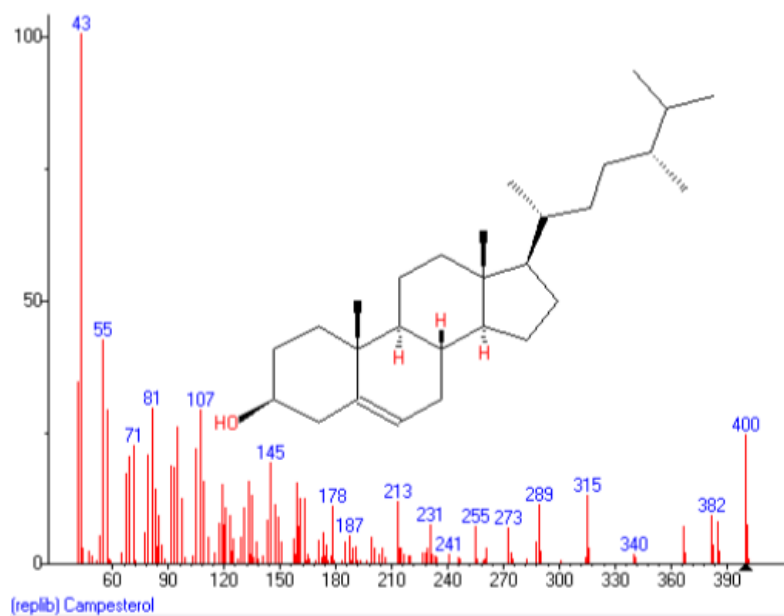
Anexo 19. Cromatograma y espectro de masas de Ácido 2-propenoico, 2-metil-, 2-etil-2 - [[(2-metil-1-oxo-2-propenil) oxil] metil] -1,3-propanodiil éster.



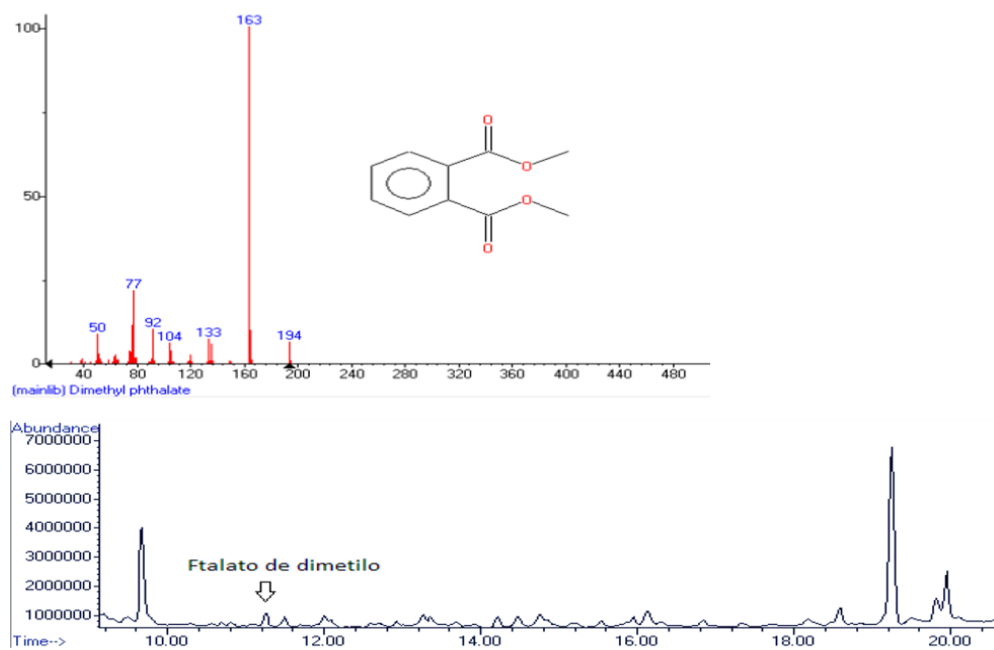
Anexo 20. Espectro de masas del Colestanol.



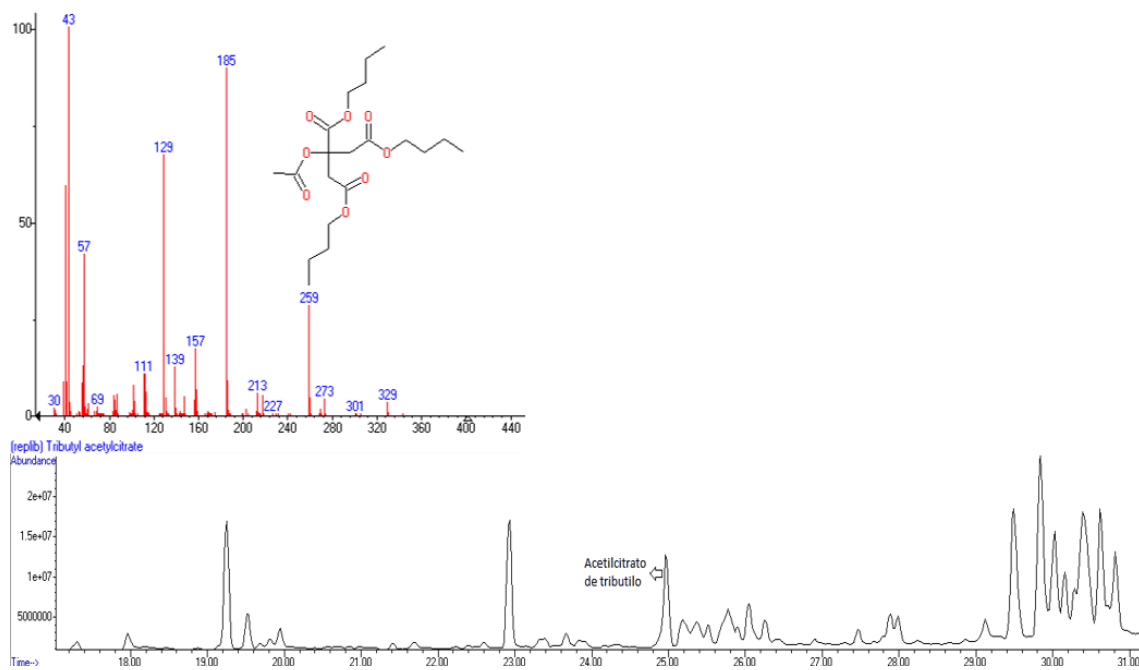
Anexo 21. Espectro de masas del Campesterol.



Anexo 22. Cromatograma y espectro de masas de Ftalato de dimetilo.



Anexo 23. Cromatograma y espectro de masas de Acetilcitrato de tributilo.



Anexo 24. Cromatograma y espectro de masas de Trifenil fosfato.

