



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA

NOMBRE DE LA CARRERA
INGENIERÍA AMBIENTAL

DENOMINACIÓN DEL TÍTULO A OBTENER
INGENIERO AMBIENTAL

TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

ANÁLISIS DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN LAS
AGUAS RESIDUALES DEL HOSPITAL BÁSICO DEL PUYO,
IESS.

EDWIN JOFFRE BUENAÑO NAULA
OSCAR ANDRÉS CEVALLOS FREIRE
AUTORES

PHD. LUIS RAMÓN BRAVO SÁNCHEZ
DIRECTOR DEL PROYECTO

PUYO-ECUADOR

2018

AGRADECIMIENTO

A Dios por la vida, salud y sabiduría que me ha brindado para superar todas pruebas y obstáculos que se presentaron a lo largo de esta vida estudiantil, por conducirme por el camino de la felicidad.

A toda mi Familia en especial a mis Padres y Hermana Alexandra B. por su invaluable e incondicional apoyo tanto emocional como económico. Porque en los buenos y malos momentos siempre estaban a mi lado. Porque sin su ayuda no hubiese sido posible este logro. Gracias ñaña, gracias papá y mamá, gracias familia, los amo.

A mis dos grandes amores que Dios me permitido tener, mi compañera incondicional Jacqueline Moposita y a mi hija Noemí Buenaño, gracias por estar a mi lado, siendo una razón de lucha, perseverancia, optimismo para conseguir este logro.

A los Docentes de la Universidad Estatal Amazónica, por brindarme y transmitirme los conocimientos y experiencias que me han permitido construir mi perfil profesional.

A mi tutor, por darme la oportunidad de ser dirigido y orientado en este proyecto de investigación y desarrollo, con el cual he adquirido un gran conocimiento. Por brindarme su apoyo, amistad, confianza durante el periodo investigativo. Por ello, Gracias PhD. Luis Bravo.

A la Universidad Estatal Amazónica y a la Universidad Técnica de Manabí por brindarme la facilidad de realizar los análisis en sus laboratorios, lo cual permitió obtener resultados óptimos y eficaces para poder concluir la investigación.

Edwin Joffre Buenaño N.

Agradezco a Dios en primer lugar por alentar y consolar mi alma durante todo este proceso de aprendizaje

A mi esposa por ser mi ayuda idónea en todo momento brindándome apoyo en momentos buenos y malos.

A mi Madre y familia que han brindado amor y buenos consejos para la mejor toma de decisiones.

A la Universidad Estatal Amazónica por la oportunidad de pertenecer a ella y a todos sus docentes que compartieron sus conocimientos con la finalidad de formarnos como ingenieros.

Al Dr. Luis Bravo por aceptar ser nuestro tutor y tener la paciencia para guiarnos hacia la culminación de este proyecto.

A la Universidad Técnica de Manabí por la ayuda desinteresada en la obtención de datos la cual ayudo a la conclusión de nuestra investigación.

Oscar Andrés Cevallos F.

DEDICATORIA

A Dios por darle sentido a mi vida, darme fuerzas y voluntad para terminar mis estudios con éxito.

A Angelita Naula mi Mami, por su gran amor, paciencia, apoyo incondicional, por la confianza puesta en mí. Por su orientación en las cosas que demanda Dios, por sus oraciones que me dieron paz.

A Edwin Buenaño mi Papi, por los buenos consejos, por su enseñanza, por su apoyo incondicional, por creer en mí y ser paciente en todo momento.

A mi hermana Alexandra Buenaño, por su cariño, por tener confianza en mí, porque su apoyo fue pieza clave por la cual pude culminar mis estudios.

A mis hermanos Stalin Buenaño y Valeria Buenaño, por su confianza y cariño, por el ánimo brindado en todo momento, por sus buenos consejos.

A Jacqueline Moposita y Noemí Buenaño, por su cariño y apoyo incondicional. Por ser una parte importante de mi vida, por estar a mi lado en todo momento, porque las amo demasiado.

Edwin Joffre Buenaño N.

A Dios por guardar, guiar y sustentar mi vida en todo momento dándome sabiduría y paciencia para lograr terminar este proyecto como estudiante.

A mi esposa y ayuda idónea Daniela Llori y mi hijo Josué Benjamín, la bendición preciosa que Dios nos ha dado.

A mi Madre Silvia Freire por dar todo su amor, tiempo y fuerzas con la finalidad de ver a sus hijos buscando de Dios y formados profesionalmente.

A mi familia por incentivar me a seguir adelante en todos los proyectos en los cuales me he encontrado.

A mi Padre Miguel Cevallos por darme su tiempo y su amor en todo momento.

Oscar Andrés Cevallos F.

RESUMEN

Se revisaron los medicamentos más consumidos en el Hospital del IESS del Puyo en el período de septiembre a noviembre de 2017. Se valoró la posible incidencia de este consumo en la contaminación de las aguas residuales, a la salida de la planta de tratamiento, de aquellos que pueden ocasionar un impacto ambiental; tal fue el caso del antihistamínico loratadina y los analgésicos antipiréticos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs): diclofenaco, paracetamol, ibuprofeno y ketorolaco. Se desarrollaron dos métodos analíticos de cromatografía líquida de alta eficacia, uno de ellos para la cuantificación simultánea de los AINEs, y el otro para cuantificar loratadina en las aguas residuales hospitalarias. Ambos métodos de análisis cromatográfico permitieron la cuantificación confiable de los cinco contaminantes emergentes, según el procedimiento de validación llevado a cabo sobre la base de los principales parámetros de desempeño analítico. No se encontraron niveles detectables de loratadina en las aguas residuales hospitalarias debido a su menor consumo y poca residualidad, además de su facilidad de degradación, anteriormente descrita, en medios acuosos. El contaminante emergente paracetamol fue determinado en las aguas residuales hospitalarias en concentraciones no peligrosas debido a la eficacia evidenciada del tratamiento convencional practicado y a su inestabilidad química comprobada. Los residuos de los fármacos diclofenaco, ibuprofeno y ketorolaco no sufrieron degradación al ser sometidos al tratamiento convencional de las aguas residuales y son vertidos en concentraciones que pueden producir un impacto ambiental negativo.

Palabras clave: contaminantes emergentes, aguas residuales, cromatografía líquida

ABSTRACT

The most consumed medications at the IESS Hospital, Puyo from September to November 2017 were reviewed. The potential influence in the contamination of the wastewaters of those drugs that can cause an environmental impact was evaluated; such was the case with the antihistaminic loratadine and non-steroidal anti-inflammatory analgesics (NSAIDs): diclofenac, paracetamol, ibuprofen and ketorolac. Two high-performance liquid chromatographic analytical techniques were developed, one for the simultaneous quantification of NSAIDs, and the other for loratadine. The two chromatographic methods of analysis developed allowed the reliable quantification of the five emerging contaminants, according to the validation procedure carried out, based on the main performance characteristics. Non-detectable levels of loratadine were found in the hospital wastewater due to its lower consumption, the small amounts of residues, and its previously described fast degradation, in aqueous media. The emerging contaminant paracetamol was found in hospital wastewater in non-hazardous concentrations due to the demonstrated efficacy of the conventional treatment accomplished and its well-known chemical non-stability. The residues of the drugs diclofenac, ibuprofen and ketorolac did not suffer degradation while they were subjected to conventional treatment of wastewater and they were released in concentrations that could cause a negative environmental impact.

Key words: emerging contaminants, wastewaters, liquid chromatography

ÍNDICE

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 INTRODUCCIÓN	1
1.2 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN. -	2
1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA. -	3
1.4 HIPÓTESIS. -	3
1.5 OBJETIVOS	4
1.5.1 OBJETIVO GENERAL. -	4
1.5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS. -	4
CAPÍTULO II: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	5
2.1 SITUACIÓN DE LOS SERVICIOS MÉDICOS Y HOSPITALARIOS EN PASTAZA. DEMANDA DE MEDICAMENTOS Y AGUA.....	5
2.2 LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL Y LOS CONTAMINANTES EMERGENTES.	6
2.3 IMPACTO ECOLÓGICO DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS EN LOS ECOSISTEMAS DE AGUA DULCE.....	8
2.4. ELIMINACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS EMERGENTES EN LAS AGUAS.....	9
2.5 FÁRMACOS FRECUENTEMENTE UTILIZADOS Y QUE PUEDEN SER CONTAMINANTES EMERGENTES EN LAS AGUAS.	9
2.5.1 PARACETAMOL (ACETOMINOFÉN), DICLOFENACO, IBUPROFENO, KETOROLACO Y LORATADINA.....	9
2.6 LA CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN EL ANÁLISIS DE CONTAMINANTES EMERGENTES.....	12
2.6.1 GENERALIDADES.....	12
2.6.3 APLICACIONES DE CLAE AL ANÁLISIS DE FÁRMACOS ANALGÉSICOS Y ANTI- INFLAMATORIOS.....	12
2.7 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS COMO GARANTÍA DE CALIDAD DE LOS RESULTADOS CUANTITATIVOS EN TÉCNICAS DE NUEVO DESARROLLO.....	13
2.7.1 ESPECIFICIDAD.	13
2.7.2 LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN.....	13
2.7.3 LINEALIDAD E INTERVALO.....	14
2.7.4 EXACTITUD O VERACIDAD.	14
2.7.5 PRECISIÓN.....	14
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1 LOCALIZACIÓN	15
3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN.	15
3.3 MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN.....	16

3.4	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	16
3.4.1.	SELECCIÓN DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES A EVALUAR EN LAS AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS.....	16
3.4.2.	DESARROLLO DE UN MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE LORATADINA EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.	17
3.4.3.	DESARROLLO DE UN MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN SIMULTÁNEA DE PARACETAMOL, KETOROLACO, DICLOFENACO E IBUPROFENO EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.....	18
3.4.4.	VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.....	20
3.4.5.	MUESTREO Y ANÁLISIS DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.	23
3.5.	RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES.	25
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		27
4.1.	SELECCIÓN DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES A EVALUAR EN LAS AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS.	27
4.2.	DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN LAS AGUAS RESIDUALES DEL HOSPITAL DEL IESS, PUYO.....	28
4.2.1.	DESARROLLO DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE LORATADINA EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.	28
4.2.2.	VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE LORATADINA EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.	29
4.2.3.	DESARROLLO DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE PARACETAMOL, DICLOFENACO, KETOROLACO E IBUPROFENO EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.	33
4.2.4.	VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE PARACETAMOL, DICLOFENACO, KETOROLACO E IBUPROFENO EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.	34
4.3.	MUESTREO Y ANÁLISIS DE LAS AGUAS RESIDUALES A LA ENTRADA Y SALIDA DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DEL HOSPITAL DEL IESS, PUYO. ...	38
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		42
5.1	CONCLUSIONES.....	42
5.2	RECOMENDACIONES.....	42

CAPÍTULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
CAPÍTULO VII. ANEXOS	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación del hospital IESS, lugar de estudio.	15
Figura 2. Fármacos más utilizados de septiembre a noviembre de 2017 en el Hospital Básico del IESS en Puyo.	16
Figura 3. Etapas fundamentales del proceso del muestreo	23
Figura 4. Cromatograma de loratadina a las condiciones de separación seleccionadas.....	29
Figura 5. Curva de calibración de Loratadina.	30
Figura 6. Cromatograma de una muestra de agua residual contaminada con patrón puro bajo las condiciones de determinación de loratadina.	32
Figura 7. Cromatograma de patrones de paracetamol, ketorolaco, diclofenaco e ibuprofeno a las condiciones de separación seleccionadas.	34
Figura 8. Curvas de calibración para los fármacos ácidos.	35
Figura 9. Cromatograma de una muestra de agua residual tomada a la entrada de la planta de tratamiento del hospital.....	38
Figura 10. Cromatograma correspondiente a la muestra S1 (salida) bajo las condiciones de análisis de loratadina.	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros de linealidad para loratadina.....	30
Tabla 2. Resultados numéricos del ensayo de repetibilidad.....	30
Tabla 3. Resultados numéricos de la prueba de recuperación.....	31
Tabla 4. Resultados de la determinación de los límites de detección y cuantificación.....	32
Tabla 5. Parámetros de linealidad para los fármacos ácidos.....	35
Tabla 6. Resultados numéricos del ensayo de repetibilidad para los fármacos ácidos.....	36
Tabla 7. Resultados numéricos de la prueba de recuperación.....	36
Tabla 8. Resultados de la determinación de los límites de detección y cuantificación.....	37
Tabla 9. Resultados de concentración de paracetamol, ketorolaco, diclofenaco e ibuprofeno en las aguas residuales del Hospital del IESS, Puyo.....	40

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.

1.1 INTRODUCCIÓN

En un informe de la Organización de Naciones Unidas (ONU) se indica que la población mundial creció a 7.433 millones (1,1%) en el año 2016, en comparación con los 7.349 millones de habitantes que se registró el 2015 (INFOBAE, 2016).

El 70% del llamado “Planeta Azul” está cubierto por agua; del total de agua, 1.386 millones de kilómetros cúbicos, aproximadamente el 97,5% es agua salada y solo el 2,5% es agua dulce. Del total de agua dulce un 68,7% está en los glaciares y la nieve, y un 30% está en el suelo. Las fuentes superficiales de agua dulce, como lagos y ríos, solamente corresponden a unos 93.100 kilómetros cúbicos, lo que representa una fracción de 1/150 del total de agua y son estas la que abastecen diariamente a la humanidad del preciado líquido (Planeta Azul, 2017).

En Ecuador la población alcanzó en el año 2016 la cifra de 16’528.730 habitantes, que en el 2017 subió a 16’776.977; para el 2018 se prevé que alcance los 17’023.408 habitantes. La edad promedio de la población es de 27 años, y la esperanza de vida alcanza los 76,5 años, lo cual determina un crecimiento generoso. Al crecer el segmento poblacional más envejecido, debe brindarse mayor atención a las enfermedades crónicas de la edad, tales como la diabetes que, junto a la hipertensión arterial, pueden tratarse con medicación adecuada. De ahí la necesidad de que los servicios médicos del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) estén dotados de suficiente presupuesto anual (Ortiz, 2017).

El territorio nacional se divide en 31 Sistemas Hidrográficos, conformados por 79 cuencas. Los aportes totales a la red hidrográfica nacional, con un error probable del 30%, son de 110 billones de m³ por año en la vertiente del Océano Pacífico y de 290 billones de m³ por año en la vertiente Amazónica (Galarza, 2004).

Casi todos los ríos del país cercanos a las áreas urbanas tienen altos niveles de coliformes, nitrógeno y fósforo, y poseen valores elevados de demanda química y biológica de oxígeno (DQO y DBO). Si bien los estudios realizados son aún escasos, confirman la utilización de numerosos pesticidas en la agricultura (algunos de ellos de prohibida importación). Sin embargo, la contaminación de origen petrolero es quizá la de origen industrial más importante en el país; valores a corto plazo más obvios hacen que los ecosistemas acuáticos sean sacrificados en los ríos y cuencas (Galarza, 2004).

Pastaza es la provincia más grande del Ecuador, con alrededor de 29.800 Km² de territorio y se encuentra enclavada en la exuberante Selva Amazónica; es una provincia rica a nivel cultural, con siete nacionalidades indígenas que la habitan junto con la población mestiza (Pastaza.com, 2015) Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), la población en Pastaza es de 83.933 habitantes y representa el 0,58% de la población ecuatoriana. La Provincia ha tenido un incremento poblacional de 2.000 personas al año según los resultados del censo de 2001 y 2010 y cuenta con tres hospitales que dan atención de segundo nivel de complejidad, el Hospital General Puyo del Ministerio de Salud Pública (MSP), el Hospital IESS Puyo que cuenta con dos Prestadores Externos: La Clínica de Otorrinolaringología y la Clínica Odontológica Metropolitana, y el Hospital Básico 17 Pastaza (IESS, 2014).

Los hospitales, junto a sus funciones beneficiosas, provocan efectos no deseables que en términos muy amplios se pudieran denominar contaminación hospitalaria. Este término de contaminación puede referirse tanto a la ejercida a nivel interno, sobre los propios trabajadores y pacientes, como hacia el ambiente exterior (TN Relaciones, 2016).

Es importante destacar que el agua para el consumo humano, aunque parezca limpia y cristalina, no siempre está libre de impurezas; existen los llamados contaminantes emergentes, cuya presencia en el ambiente se considera imperceptible, por lo que pasan inadvertidos y no están reconocidos como tales. De todos los contaminantes emergentes, los que posiblemente provocan mayor preocupación en los últimos años son los residuos de fármacos presentes en las aguas vertidas por instituciones hospitalarias y en las aguas servidas de las ciudades (FVS, 2016).

La contaminación por fármacos en cada país está íntimamente relacionada con los índices de venta y consumo de medicamentos y en Ecuador aún se dan los primeros pasos en cuanto a detección y eliminación de contaminantes emergentes en aguas residuales (TEKNIKER , 2010).

1.2 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN. -

En Ecuador, como en los llamados países en vías de desarrollo, la situación ambiental se considera alarmante y así lo demuestran los indicadores como la pérdida de la biodiversidad, la creciente contaminación de aire, agua y suelo, así como el deficiente manejo de desechos y aguas residuales.

Según la OMS (2017), la salud ambiental está relacionada con todos los factores físicos, químicos y biológicos externos de una persona. Es decir, que engloba factores ambientales que podrían incidir en la salud y se basa en la prevención de las enfermedades y en la creación de ambientes saludables.

El término de contaminantes emergentes (CE) generalmente se utiliza para referirse a compuestos de distinto origen y naturaleza química, cuya presencia en el ambiente no se considera significativa en términos de distribución o concentración, por lo que pasan inadvertidos; no obstante, en la actualidad están siendo ampliamente investigados a nivel mundial pues tienen el potencial de acarrear un impacto ecológico negativo, así como efectos adversos sobre la salud, debidos a la persistencia y poder de acumulación de muchos de ellos (Gil, Soto, Usma , & Gutierrez, 2012).

Para poder afrontar esta problemática es necesario, en primer lugar, desarrollar técnicas de análisis, con adecuados parámetros de desempeño, que aseguren la realización de un diagnóstico certero de los niveles de contaminación en las masas de agua. Esto sería un paso previo para la prevención, en primer lugar, de la emisión de sustancias contaminantes emergentes al ambiente acuático, a través de los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales y en segundo lugar, deja clara la necesidad en muchos casos de realizar posteriores tratamientos no convencionales a estas aguas (AWARE, 2016).

1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA. -

El aumento de la demanda de salud y la atención hospitalaria en la provincia de Pastaza ha producido un incremento del consumo de medicamentos, principalmente analgésicos, antiinflamatorios no esteroideos y antihistamínicos, cuyos residuos se pueden encontrar como contaminantes emergentes en las aguas procedentes de las instituciones de salud, como el hospital del IESS; sin embargo, no se conocen sus niveles de concentración en las aguas residuales vertidas luego del tratamiento convencional practicado.

1.4 HIPÓTESIS. -

Mediante el análisis de las aguas residuales, tanto a la entrada como a la salida de la planta de tratamiento del hospital del IESS de la ciudad de Puyo, será posible determinar la presencia y cantidad de contaminantes emergentes vertidos hacia el alcantarillado público.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 OBJETIVO GENERAL. -

Evaluar la presencia y cantidad de los contaminantes emergentes más frecuentes en las aguas residuales del Hospital Básico del IESS en Puyo, Pastaza.

1.5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS. -

- Identificar, dentro del Hospital Básico del Puyo IESS, los medicamentos más utilizados, cuyos residuos en las aguas de vertido pueden tener un impacto ambiental negativo.
- Desarrollar y validar técnicas analíticas para la detección y cuantificación de los residuos de los fármacos previamente identificados como peligrosos.
- Evaluar la presencia y concentración de los fármacos que constituyen contaminantes emergentes en las aguas residuales a la entrada y a la salida de la planta de tratamiento del Hospital Básico del IESS en Puyo.

CAPÍTULO II: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 SITUACIÓN DE LOS SERVICIOS MÉDICOS Y HOSPITALARIOS EN PASTAZA. DEMANDA DE MEDICAMENTOS Y AGUA.

La Provincia de Pastaza ha tenido un incremento poblacional en años recientes de cerca de 2000 personas al año (INEC, 2010). A nivel provincial existen tres hospitales: el Hospital General Puyo del MSP, el Hospital IESS y el Hospital Básico 17 de Pastaza. Además, en el Cantón Pastaza se registran los Centros de Salud Urbano de Puyo, El Dorado y Mariscal, pertenecientes al MSP. En el área privada se cuenta con dos Clínicas: Clínica Pastaza, en el área de Ginecoobstetricia y la Clínica Santa Marianita, en el área de Cirugía General. Se tienen Centros Médicos pertenecientes a los Gobiernos autónomos Municipal y Provincial, el Centro Médico del Vicariato Apostólico de Puyo, 20 consultorios médicos independientes y cerca de 15 Consultorios Odontológicos (IESS, 2014).

El Hospital Básico del IESS en Puyo brinda atención médica en cuatro Especialidades Básicas: Pediatría, Medicina Interna, Ginecoobstetricia y Cirugía General. Posee, además, una Subespecialidad en Traumatología, así como Medicina General, Medicina Familiar y Preventiva con atención mediante visita domiciliaria y Nutrición y Dietética. La institución dispone de Auxiliares de Diagnóstico como Laboratorio Clínico e Imagen (Rayos X y Ecosonografía), Servicios complementarios: Fisioterapia y Rehabilitación, Ambulancia, Farmacia, Servicio de Emergencia las 24 horas, y da cobertura a la población de los cuatro cantones de la Provincia: Pastaza, Mera, Santa Clara y Arajuno; adicionalmente, asegura que moradores de las provincias de Morona Santiago, Napo, Tungurahua, Sucumbíos y Orellana acudan por atención, en menor proporción (IESS, 2014).

El Hospital IESS Puyo, con una población de beneficiarios de alrededor de 58 000 personas; mantiene una capacidad instalada de 26 camas para hospitalización; atención en Emergencia a 99 pacientes por día en Consulta Externa, con un límite máximo de atención de 246 pacientes cada día; el promedio de atención diaria en este servicio es aproximadamente de 237 pacientes. Se realizan alrededor de 71 cirugías mensuales (IESS, 2014).

Según la OMS (2007) dentro de los medicamentos esenciales más utilizados en la categoría de antibacterianos están: amoxicilina + ácido clavulánico, ampicilina, dicloxicilina, imipenem + cilastatina, bencilpenicilina benzatina, metronidazol y gentamicina y en cuanto a los analgésicos y antiinflamatorios no esteroideos están:

ibuprofeno, ácido acetilsalicílico, paracetamol y diclofenaco. Cabe esperar, entonces una incidencia importante de dichos fármacos en el contexto de esta investigación.

Por otra parte, los hospitales requieren para su funcionamiento una gran cantidad de agua por día, dependiendo de las actividades que cada uno desarrolla. Los factores a tener en cuenta son: número de camas, edad del hospital, accesibilidad al agua, servicios generales presentes dentro de la estructura, número y tipo de personas a cargo y unidades, políticas gerenciales de la institución, políticas relativas al cuidado del medio ambiente, factores climáticos, culturales y geográficos (Arias & Fonseca, 2011).

A nivel hospitalario, las aguas son empleadas como medio de eliminación de desechos, por lo que debe dedicarse una especial atención a los niveles de productos con actividad biológica conocida, que puedan generar un impacto ambiental indeseado. Esto constituye la motivación fundamental de esta investigación.

2.2 LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL Y LOS CONTAMINANTES EMERGENTES.

La contaminación consiste, básicamente, en la generación y deposición de residuos hacia un medio determinado, por encima de la capacidad de este para eliminarlos. Por lo tanto, para evaluar el nivel de contaminación interesa, más que el tipo de productos que se introducen, su cantidad y persistencia en el medio. La proliferación de estos residuos en el ambiente origina en ocasiones un desequilibrio grave en los ecosistemas, hasta el punto de llegar a imposibilitar la vida de algunas especies. La contaminación ambiental incluye, naturalmente, al agua, el aire y el suelo (CANARINA, 2012) y puede constituir un riesgo para la salud y calidad de vida de las personas, para la preservación de la naturaleza o para la conservación del patrimonio ambiental (Gutiérrez, 2013).

La contaminación antropogénica no es nueva: los seres humanos han contribuido a la carga de contaminantes ambientales desde el mismo momento en el que aprendieron a controlar el fuego y a fundir metales. Sin embargo, la naturaleza y distribución de contaminantes en el ambiente ha cambiado en la historia reciente, a medida que se han sintetizado nuevos compuestos químicos con actividad biológica (Davis, 2002).

Conjuntamente con el desarrollo industrial encaminado a la obtención de sustancias orgánicas completamente novedosas que se han utilizado como plaguicidas, medicamentos, productos de limpieza o los retardantes de fuego, por solo mencionar algunos de los de mayor impacto ambiental, se ha trabajado por la reducción en la tasa de liberación hacia el ambiente de xenobióticos conocidos, mediante el procesamiento mejorado de aguas residuales.

Como consecuencia de estas acciones el ambiente puede parecer más limpio, sin embargo, muchos de los nuevos contaminantes han permanecido invisibles ya que se han presentado históricamente solo a bajas concentraciones. Aunque los viejos contaminantes conocidos claramente han provocado efectos adversos en la salud humana y en las poblaciones de vida silvestre, el efecto de los nuevos contaminantes puede ser igualmente, o inclusive, más dañinos (Colborn, 1993).

El efecto tóxico de las sustancias químicas comienza a manifestarse después de haber sido incorporadas a las plantas por medio de las raíces o las hojas y a los animales, luego del contacto con la piel o su incorporación a través del sistema digestivo o respiratorio. Estas sustancias o sus productos activos biotransformados son incorporadas a los fluidos biológicos que los transfieren hasta su sitio de acción, mientras que una parte es metabolizada y excretada o acumulada en el tejido adiposo.

Los organismos vivos en los ecosistemas son raramente afectados en forma aislada, pues los contaminantes esparcidos dentro de ciertas áreas afectan a varios individuos al mismo tiempo. Estos efectos a nivel poblacional se manifiestan con el aumento de la mortalidad o el decrecimiento de las tasas de reproducción de ciertas especies, lo cual impacta en la funcionalidad de ecosistema (Sánchez, 2011).

Cuando se emplea la denominación de contaminantes emergentes, no se hace referencia a los productos químicos que, anterior a la década de los años 90 del siglo pasado, eran conocidos como contaminantes convencionales prioritarios, especialmente los pesticidas altamente tóxicos y cancerígenos, sino, se trata de otras sustancias que fueron menos consideradas en este grupo y que incluyen los fármacos para uso humano y veterinario y los productos para el cuidado personal. La presencia de residuos de fármacos en el ambiente se ha hecho más evidente a partir de la década mencionada y ya en el siglo XXI, debido a las mejoras implementadas en los métodos instrumentales de análisis químico que han hecho posible disminuir considerablemente los límites de detección (Enviroment, 2004).

Los contaminantes emergentes son compuestos de distinto origen y naturaleza química, cuya presencia en el ambiente, o las posibles consecuencias de los mismos, han pasado inadvertidas durante mucho tiempo y han causado problemas ambientales y de riesgo para la salud y los ecosistemas. Estos compuestos se encuentran diseminados en el ambiente y se han detectado en aguas superficiales y subterráneas e incluso en el agua potable (AINIA, 2013). Son compuestos de los que relativamente se conoce poco en cuanto a su presencia, impacto y posible eliminación de los cuerpos de agua; en la mayoría de los casos son contaminantes no regulados, que pueden ser candidatos a regulación futura, dependiendo de

investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud y los datos de monitoreo con respecto a su incidencia; por lo tanto, son sometidos constantemente a nuevas investigaciones (Gil, Soto, Usma , & Gutierrez, 2012). Los contaminantes emergentes, aun en concentraciones mínimas, pueden tener efectos significativos para la salud humana y los ecosistemas (MUGS , 2017).

Con el vertiginoso desarrollo de la industria farmacéutica, la introducción al mercado de nuevos productos farmacéuticos ha experimentado un crecimiento exponencial. Como consecuencia, los fármacos y sus metabolitos son continuamente liberados al ambiente en cantidades imprevisibles, ya sea como resultado de su fabricación, uso (excreción), desecho por cese de la necesidad, rechazo por el paciente o caducidad. Otras posibles fuentes lo constituyen los laboratorios ilegales que producen drogas ilícitas y que no tienen un sistema de gestión de residuos (Narvaez & Jimenez, 2012).

Cabe mencionar algunos intentos de regulación en este sentido; por ejemplo: la Unión Europea (UE) ha incluido recientemente a tres fármacos: diclofenaco (AINE), 17a-etinilestradiol (anticonceptivo oral) y 17b-estradiol (terapia de reemplazo hormonal), en una "lista de observación" para su posterior estudio. La UE ya exige que las empresas realicen una evaluación de riesgos ambientales para todos los medicamentos nuevos (Owens, 2015).

2.3 IMPACTO ECOLÓGICO DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS EN LOS ECOSISTEMAS DE AGUA DULCE.

El impacto ecológico de los contaminantes orgánicos sobre los ecosistemas de agua dulce ha atraído la atención de muchos científicos en el mundo, así como de entidades regulatorias y del público en general en los últimos años. Esto se debe a que los ecosistemas acuáticos son un destino importante para los compuestos antropogénicos en relación con otros sistemas, por la práctica común de emplear el agua como medio de eliminación de residuos (Hanson, 2011).

Los principales impactos documentados en los ecosistemas de agua dulce han sido producidos por compuestos orgánicos persistentes tales como los bifenilos y furanos policlorados, las dioxinas y los hidrocarburos aromáticos policíclicos. La exposición de los organismos bióticos en los niveles más bajos de organización a estos contaminantes puede resultar en peligrosos procesos de bioacumulación y biomagnificación (Hanson, 2011).

El efecto de la contaminación en el medio acuático por estas sustancias puede manifestarse debido a que los organismos acuáticos son expuestos durante todo su ciclo de vida. La

posibilidad de un continuo pero indetectable efecto sobre estos organismos es particularmente preocupante, porque estos efectos pueden acumularse en forma tan lenta que pudiera llegar a ocurrir un cambio irreversible y ser atribuido a la adaptación natural (Narvaez & Jimenez, 2012).

La preocupación en lo que se refiere a la presencia de fármacos en el entorno y su posible efecto sobre la salud humana y sobre el ambiente emergió, como se ha dicho, solamente en años recientes y gracias a los avances en las técnicas analíticas ha sido posible detectar estos compuestos a las bajas concentraciones en que típicamente se presentan (Hanson, 2011).

2.4. ELIMINACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS EMERGENTES EN LAS AGUAS.

En la medida en que restos de fármacos, plaguicidas y otras sustancias contaminantes se han ido detectando, en concentraciones no recomendadas, en aguas residuales, ríos y otras corrientes superficiales y subterráneas, se han venido implementando nuevos procesos de degradación o de eliminación de estos contaminantes en las aguas.

Los tratamientos de aguas residuales por métodos convencionales no son del todo satisfactorios, al punto que se ha detectado que muchos compuestos persisten sin alteración alguna, aun después de aplicar tratamientos terciarios. Por tal razón, es importante identificar y evaluar la eficacia de otras tecnologías no convencionales para el tratamiento de aguas, con el fin de proponer alternativas que permitan minimizar la presencia de contaminantes emergentes a un relativo bajo costo en términos económicos, energéticos y ambientales (Gil, Soto, Usma , & Gutierrez, 2012).

2.5 FÁRMACOS FRECUENTEMENTE UTILIZADOS Y QUE PUEDEN SER CONTAMINANTES EMERGENTES EN LAS AGUAS.

2.5.1 PARACETAMOL (ACETOMINOFÉN), DICLOFENACO, IBUPROFENO, KETOROLACO Y LORATADINA.

2.5.1.1 PROPIEDADES QUÍMICO FÍSICAS.

El **paracetamol** es un compuesto orgánico de masa molar de 151,16 g/mol; su fórmula molecular es $C_8H_9NO_2$. Es inodoro y de ligero sabor amargo. Es poco soluble en agua fría y considerablemente más soluble en agua caliente; soluble en etanol, metanol, acetona, acetato de etilo; ligeramente soluble en éter dietílico y prácticamente insoluble en éter de petróleo y benceno. Su temperatura de fusión normal es 170°C y su densidad de 1,293 g/cm³ a 21°C.

En disolución acuosa se comporta como un ácido débil y el valor del logaritmo de su constante de disociación es de 9,38 (Pubchem, 2004).

El **diclofenaco**, tiene una masa molar de 296,15 g/mol y su fórmula molecular es $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$. Es poco soluble en agua. Tiene una temperatura de fusión normal entre 156 – 158°C. El valor del logaritmo de su constante de disociación es de 4,15. En disolución acuosa se comporta como un ácido débil (TOXNET, Diclofenac, 2012).

La masa molar del **ibuprofeno** es 206,285 g/mol; es incoloro, sólido estable cristalino, su temperatura de fusión se encuentra entre 75-77,5 °C, es soluble en agua y su fórmula química es $C_{13}H_{18}O_2$. En disolución acuosa se comporta como un ácido débil.

El **ketorolaco** tiene una masa molar es de 255,279 g/mol, su fórmula global es $C_{15}H_{13}NO_3$, su temperatura de fusión está en el intervalo de 165-167 °C, soluble en agua 25 mg/mL. En disolución acuosa se comporta como un ácido débil (DRUGBANK, 2005).

La masa molar de la **loratadina** es de 382,888 g/mol, su fórmula es $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$, temperatura de fusión entre 134-136°C, poco soluble en agua. En disolución acuosa se comporta como una base débil (Pubchem, 2004).

2.5.1.2 RESUMEN DEL USO, EXPOSICIÓN Y DISTRIBUCIÓN EN LOS COMPARTIMIENTOS AMBIENTALES DE LOS PRINCIPALES FÁRMACOS.

El **paracetamol** se emplea como analgésico y febrífugo, en la fabricación de tinturas y en la fotografía, esto conduce a su incorporación al ambiente a través de varias rutas. La exposición ocupacional puede ocurrir mediante la inhalación o a través de la piel en los lugares de producción o donde se use. Su uso generalizado como analgésico constituye la fuente principal de exposición (TOXNET, Toxicology data network, 2014).

La vía de contaminación más informada es a través de su excreción inalterada en la orina y las heces, tanto en ambientes hospitalarios como en viviendas, así como la eliminación en los hogares a través de los baños (Bastos & Marcone , 2009).

El **diclofenaco** se emplea como antiinflamatorio, esto conduce a su incorporación al ambiente a través de varias rutas. La exposición ocupacional puede ocurrir mediante la inhalación o a través de la piel en los lugares de producción o donde se use. La población en general puede ser expuesta por el consumo de agua, su ingestión oral y contacto dérmico. (TOXNET, Diclofenac, 2012).

La trayectoria que sigue el diclofenaco hasta las aguas superficiales comienza con la excreción natural del compuesto en humanos, la incorrecta eliminación de restos de medicamentos caducados y los desechos de las industrias farmacéuticas, por lo que el

contaminante llega a las depuradoras convencionales de aguas residuales y pasa casi directamente a las aguas superficiales (Sanchez, 2015).

El uso general del **ibuprofeno** es como analgésico, antipirético y antiinflamatorio. Puede usarse para tratar el dolor leve a moderado y para la dismenorrea (DRUGBANK, drugbank.ca, 2005).

En medio acuático se espera que el ibuprofeno se adsorba a sólidos suspendidos y sedimento parcialmente (Lyman, 1990).

El **ketorolaco**, es un agente antiinflamatorio con propiedades analgésicas y antipiréticas, se usa para tratar la osteoartritis y controlar el dolor agudo. Es un analgésico de acción periférica (DRUGBANK, 2005).

La **loratadina** se utiliza para tratar síntomas como el escozor y enrojecimiento cutáneo, la secreción nasal, el lagrimeo y los estornudos que producen alergias variadas. (Espada, 2018).

2.5.1.3 INTERVALO DE CONCENTRACIÓN ENCONTRADOS EN LAS AGUAS DE ENTRADA Y SALIDA DE LAS PLANTAS DE TRATAMIENTO.

Los principales informes de paracetamol provienen de los Estados Unidos, donde se ha descrito la presencia no cuantificada del fármaco en cuatro de los ocho efluentes secundarios de las obras de tratamiento de propiedad pública en Illinois, muestreadas de febrero a junio de 1980 (Ellis, 1882). En años más recientes se detectó la presencia de este fármaco en el efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales de Luisiana a concentraciones de 1,1 y 1,2 ng/L, muestreadas de septiembre a noviembre de 2001 (Boyd, 2003).

El diclofenaco se detectó en la totalidad de los 49 efluentes de una planta de tratamiento en Alemania a una concentración media de 0,81 µg/L y se halló un límite de detección de 0,05 µg/L (Scheurrell, 2009). Se ha detectado en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales en Francia, Grecia y Suiza en un intervalo de 0,25 a 5,45 µg/L (Ferrari, 2003).

Las concentraciones de diclofenaco en efluentes oscilaron entre 112 y 438 ng/L y de 35,3 a 463 ng/L, en muestras de dos plantas de tratamiento de aguas residuales en Beijing, China, los meses de febrero de 2009 y enero de 2010, respectivamente (Sui, 2011).

El ibuprofeno se analizó cualitativamente en aguas residuales municipales en la planta de tratamiento de Iona Island (Columbia Británica, Canadá) (Rogers, 1984). También estuvo presente en el efluente de las plantas de tratamiento de aguas residuales en Suiza a concentraciones de hasta 3 µg/L (Buser, 1999).

2.6 LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN EL ANÁLISIS DE CONTAMINANTES EMERGENTES.

2.6.1 GENERALIDADES.

En la Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (CLAE), también frecuentemente llamada HPLC por sus siglas en inglés, una mezcla de analitos, disueltos en un disolvente apropiado, es arrastrada a través de una columna cromatográfica por una fase móvil en estado líquido. La separación de los solutos presentes en la muestra se logra mediante su interacción relativa con la fase estacionaria y la fase móvil. En esta interacción se incluyen la adsorción líquido-sólido, la partición líquido-líquido, el intercambio iónico, la exclusión por tamaño (Rodríguez, 2013).

Las columnas comúnmente utilizadas en la CLAE consisten en un tubo de acero inoxidable relleno con partículas muy pequeñas (1-5 μm) de un material rígido y poroso. El material de relleno es retenido en el interior de la columna mediante unas terminaciones especiales porosas que permiten el flujo de la fase móvil desde su reservorio hasta la tubería que se acopla con la terminación de salida de la columna y conduce la fase móvil hacia el detector. El material poroso de las terminaciones de la columna puede ser de acero inoxidable o de titanio, presentan un tamaño de poro comprendido entre 0,2 -0,5 μm lo cual permite a la fase móvil fluir a través de la columna mientras que el material de relleno queda retenido en su interior (Kazakevich & Lobruto, 2007).

Típicamente un sistema de CLAE consiste en los siguientes componentes principales: reservorio de disolventes, bomba, inyector, columna, detector, sistema de adquisición de datos y control (Kazakevich & Lobruto, 2007).

2.6.3 APLICACIONES DE CLAE AL ANÁLISIS DE FÁRMACOS ANALGÉSICOS Y ANTI-INFLAMATORIOS.

En los últimos años innumerables métodos analíticos basados en la CLAE han sido utilizados para la identificación y cuantificación de productos farmacéuticos, debido a la versatilidad y la fiabilidad de esta técnica de análisis instrumental cromatográfico, así como también a las mejoras introducidas en hardware y software y a la facilidad de automatización (Gilpin, 2000).

Los AINEs, al ser generalmente ácidos débiles, son solubles en agua ligeramente alcalina o en mezclas hidroorgánicas, además, por ser ionizables, su equilibrio puede ser controlado y lograr que posean afinidad por fases de bajas polaridades a pH ácido, al cual se suprimen los

iones y se favorece la forma no disociada de las moléculas; debido a esto la separación en fase inversa domina la literatura (Ozores, 2016).

Las fases estacionarias comúnmente utilizadas son la C8 o la C18 y el detector UV es también el más utilizado ya que estos fármacos presentan al menos un anillo aromático en su estructura y por consiguiente son fácilmente detectables empleando UV a 254 nm (Gilpin, 2000).

2.7 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS COMO GARANTÍA DE CALIDAD DE LOS RESULTADOS CUANTITATIVOS EN TÉCNICAS DE NUEVO DESARROLLO.

La validación de un método analítico es el proceso por el cual queda establecido, por estudios experimentales, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada. Esta se fundamenta en la determinación de diversos parámetros de desempeño que se aplican de acuerdo con la categoría a la que pertenezcan. Esta capacidad se expresa en términos de parámetros de análisis, donde se tiene en cuenta: linealidad, precisión, exactitud, especificidad, límite de detección y de cuantificación, entre otros, en dependencia del objetivo que se persiga (EURACHEM, 2016).

2.7.1 ESPECIFICIDAD.

La especificidad es la característica del método que permite determinar cualitativamente o cuantitativamente al analito en presencia de otros componentes que previsiblemente pudieran estar presentes en la matriz, como impurezas, productos de degradación, etc. (Guideline, 2005).

La especificidad es la característica de desempeño más importante de un método de análisis instrumental aplicado a muestras complejas como las aguas residuales, si esta no es demostrada, la exactitud, la precisión y la linealidad quedan seriamente comprometidas (Mayor, 1997).

2.7.2 LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN.

El límite de detección es la menor cantidad de analito en la muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada. El método más empleado para la determinación del límite de detección en técnicas cromatográficas es el conocido como 3S, a partir de la evaluación de la relación señal – ruido, para lo cual se realizan sucesivas inyecciones en blanco (Guideline, 2005) y (Capcha Espinoza & Llanos Rebaza, 2007).

El límite de cuantificación es la menor cantidad de analito en la muestra que puede ser cuantitativamente determinada con precisión y exactitud aceptables. El método más empleado para la determinación del límite de detección en técnicas cromatográficas es el conocido como 10S, a partir de la evaluación de la relación señal – ruido, para lo cual se emplean las mismas inyecciones en blanco que para el límite de detección (Guideline, 2005).

2.7.3 LINEALIDAD E INTERVALO

La linealidad es la característica del método que permite, dentro de cierto intervalo, obtener resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra. O sea, la linealidad de un método es una medida de qué tan bien se ajusta el gráfico de Respuesta (señal analítica) vs. Concentración, a una línea recta; para establecer la linealidad se tendrán en consideración todas las recomendaciones que aparecen en la metodología, se utilizará el método de los mínimos cuadrados para el análisis de regresión (Guideline, 2005).

El intervalo se extiende desde la mínima hasta la máxima concentración del analito, para el cual ha sido demostrado que el procedimiento analítico presenta niveles de precisión, exactitud y linealidad aceptables (Guideline, 2005). El intervalo es expresado en las mismas unidades en las que se expresan los resultados del método analítico (Papadoyannis & Samanidou, 2004).

2.7.4 EXACTITUD O VERACIDAD.

La exactitud es la característica del método que permite expresar el grado de cercanía entre el valor proporcionado por el método y el valor verdadero o el valor de referencia aceptado de la magnitud medida. Algunas veces se le llama veracidad. Esta metodología establece un mínimo de nueve determinaciones en al menos tres niveles de concentración que cubran todo el intervalo del método (Guideline, 2005).

2.7.5 PRECISIÓN.

La precisión es la característica del método que permite expresar el grado de concordancia (o grado de dispersión) entre una serie de mediciones obtenidas a partir de múltiples determinaciones de una misma muestra homogénea, realizadas en las mismas condiciones. Se consideran tres niveles de precisión: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad (Guideline, 2005).

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 LOCALIZACIÓN

El Hospital del IESS, Puyo se encuentra ubicado en la parroquia Puyo del cantón Pastaza perteneciente a la provincia de Pastaza en Ecuador (Figura 1).

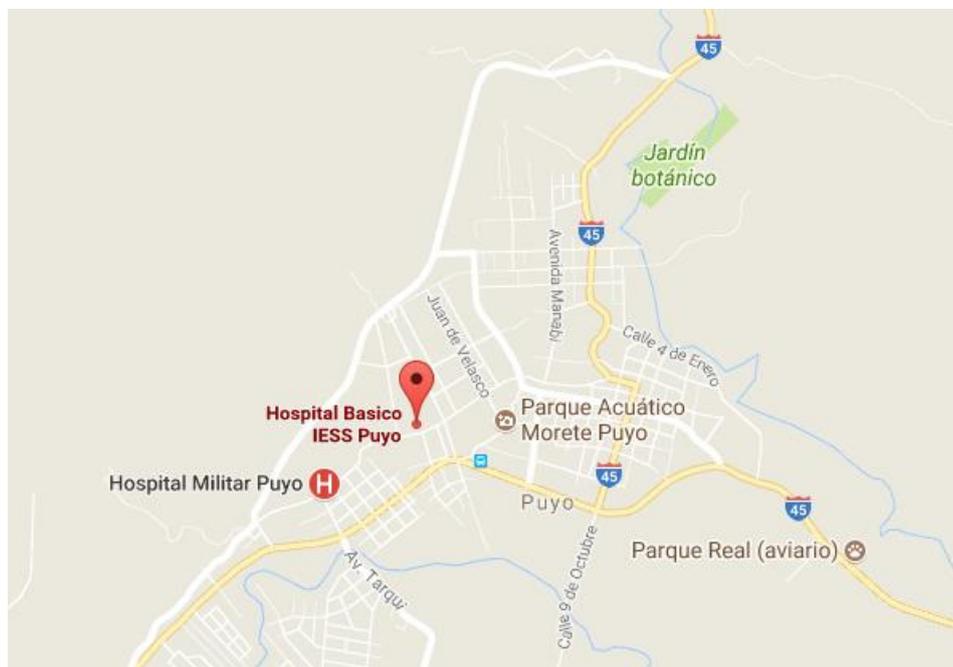


Figura 1. Ubicación del hospital IESS, lugar de estudio.

Fuente: Google Maps

3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN.

Se llevó a cabo una investigación de campo con una etapa descriptiva y otra experimental. Para dar cumplimiento al primero de los objetivos fue necesario analizar la información estadística ofrecida por las autoridades del Hospital del IESS de Puyo para describir la situación de consumo de medicamentos y seleccionar a partir de esta información cuáles serían los fármacos que pudieran tener impacto ambiental en los residuales vertidos, en este caso cuatro AINEs y un antihistamínico.

Sobre la base del conocimiento del tipo de agua residual y el régimen de trabajo de la planta de tratamiento, se tomaron decisiones acerca del muestreo a adoptar y el tipo de muestra, en este caso muestras acuosas compuestas diarias, antes y después del tratamiento, a partir de tomas simples a intervalos cortos de tiempo durante siete jornadas de trabajo consecutivas.

Se definió la variable a controlar, que en este caso fue la concentración de cada uno de los fármacos en las muestras de agua.

Los objetivos 2 y 3 se derivan en tareas netamente experimentales. Primeramente, fue necesario emplear la experimentación para seleccionar condiciones cromatográficas óptimas de separación que permitieran la cuantificación simultánea de los cuatro fármacos con propiedades ácidas débiles y establecer condiciones diferentes para el fármaco básico débil.

Posteriormente, se demostró, de forma experimental, y con el apoyo de análisis estadísticos como la regresión lineal, la desviación estándar y los intervalos de confianza basados en pruebas de t-student, la confiabilidad del método analítico que empleaba la cromatografía líquida de alta eficacia.

Finalmente, se evaluaron experimentalmente cada una de las muestras tomadas a través de análisis químicos y se valoró la peligrosidad de las aguas residuales vertidas.

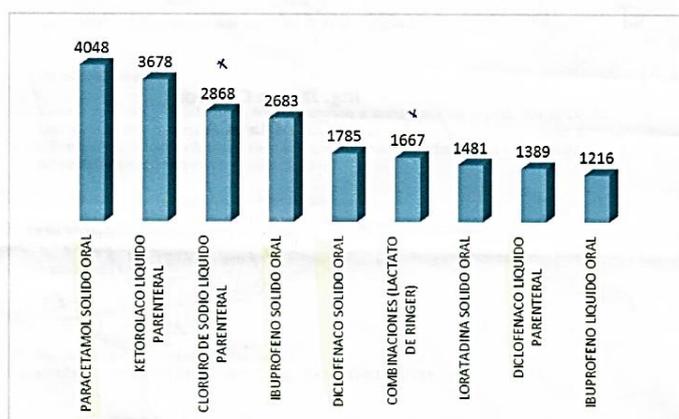
3.3 MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN.

Se llevó a cabo una contrastación dialéctica, empleando el método científico, entre la información de consumo de medicamentos obtenida inicialmente y los resultados experimentales de los análisis posteriormente realizados. Sobre la base de los conocimientos teóricos y empleando métodos analíticos, se establecieron las principales conclusiones.

3.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

3.4.1. SELECCIÓN DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES A EVALUAR EN LAS AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS.

Para obtener información de los principales contaminantes emergentes, se solicitó el detalle de los fármacos utilizados en los últimos tres meses del hospital básico del IESS (Figura 2).



Fuente: AS400, QUERY CONS

Elaborado por: Estadística, Ing. Janine Campos

Figura 2. Fármacos más utilizados de septiembre a noviembre de 2017 en el Hospital Básico del IESS en Puyo.

Con ello se pudo seleccionar, dentro de los medicamentos más utilizados, aquellos que contienen los cinco ingredientes farmacéuticos activos de mayor impacto ambiental potencial, en caso de encontrarse luego estos fármacos en las aguas vertidas del hospital en concentraciones no recomendadas.

3.4.2. DESARROLLO DE UN MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE LORATADINA EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.

3.4.2.1 PROCEDIMIENTO ANALÍTICO.

3.4.2.1.1 PREPARACIÓN DE LOS PATRONES DE LORATADINA.

Se pesó con exactitud alrededor 5,0 mg de patrón analítico de loratadina, se transfirió a un matraz aforado de 100 mL, se adicionaron 50 mL de acetonitrilo, se disolvió con ayuda de un baño ultrasónico por 5 minutos y se enrasó con el mismo disolvente (disolución madre). A partir de la disolución madre se tomaron seis alícuotas de volúmenes ascendentes hacia sendos matraces de 25 mL y se enrasaron con acetonitrilo, de esta forma quedaron las seis concentraciones necesarias para la confección de la curva de calibración en el intervalo de 0,5 a 8 mg/L.

3.4.2.1.2 PREPARACIÓN DE LAS DISOLUCIONES DE ENSAYO (MUESTRAS).

Las muestras de agua residual que estaban conservadas a 4°C se dejaron alcanzar la temperatura ambiente, se filtraron por un filtro de 0,45µm y se inyectaron directamente al cromatógrafo líquido en un volumen de lazo de 10µL.

3.4.2.1.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO.

Se seleccionó la cromatografía en fase inversa por ser la recomendada para compuestos de mediana a baja polaridad (Shodex, 2017). Se ajustó el pH a 7,2 para lograr una buena supresión iónica y se probaron varias combinaciones de flujo de fase móvil y temperatura hasta lograr la resolución más conveniente. Se empleó el modo isocrático (parámetros constantes a lo largo del desarrollo cromatográfico), incluyendo la composición de la fase móvil (QUIMINET, 2006).

Se establecieron las siguientes condiciones instrumentales y parámetros operacionales:

- Cromatógrafo líquido de alta eficacia YL 9100 HPLC System, software YL Clarity Korea.

- Columna cromatográfica Thermo Scientific Part No 97105-154630 Synchronis de 150mm de longitud, 4.6mm de diámetro interno y 5µm de tamaño de partícula, fase estacionaria C18.

- Fase móvil: agua ultra pura y acetonitrilo en proporción 40:60, respectivamente, previamente filtrada mediante kit de filtración de 100mL Supelco Analista.

-Flujo de fase móvil: 1mL/min.

-Temperatura de la columna: 35°C.

- Detector UV- vis. de λ variable; longitud de onda 254nm

3.4.2.1.4 MÉTODO PARA LOS CÁLCULOS.

Se empleó el método de la curva de calibración, sustituyendo en el modelo matemático obtenido para la recta de regresión.

$$C = \frac{A + 125,65}{53895} \quad (1)$$

donde:

C – concentración de loratadina en mg/L

A – Área del pico de loratadina en la muestra

3.4.3. DESARROLLO DE UN MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN SIMULTÁNEA DE PARACETAMOL, KETOROLACO, DICLOFENACO E IBUPROFENO EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.

3.4.3.1 PROCEDIMIENTO ANALÍTICO.

3.4.3.1.1 PREPARACIÓN DE LOS PATRONES DE PARACETAMOL, KETOROLACO, DICLOFENACO E IBUPROFENO.

Se pesó con exactitud alrededor 10,0 mg de cada patrón analítico, se transfirieron a un mismo matraz aforado de 250 mL, se adicionaron 50 mL de acetonitrilo, se disolvió con ayuda de un baño ultrasónico por 5 minutos y se enrasó con una composición de medio disolvente de

90% de acetonitrilo y 10% de metanol con el objetivo de lograr una solubilización adecuada de todos los patrones (disolución madre).

A partir de la disolución madre se tomaron siete alícuotas de volúmenes ascendentes hacia sendos matraces de 10 mL y se enrasaron con acetonitrilo, de esta forma quedaron las siete concentraciones necesarias de cada analito para la confección de las cuatro curvas de calibración en el intervalo de 0,5 a 10 mg/L.

3.4.3.1.2 PREPARACIÓN DE LAS DISOLUCIONES DE ENSAYO (MUESTRAS).

Las muestras de agua residual que estaban conservadas a 4°C se dejaron alcanzar la temperatura ambiente. Para lograr una mejor detectabilidad de los analitos se sometieron a preconcentración mediante extracción en fase sólida, haciendo pasar 100mL de cada muestra, previamente acidificada a pH 3 con HCl al 10%, por un cartucho de C18 con la ayuda de un “Manifol” estándar a vacío. Los analitos se eluyeron con 1 mL de acetonitrilo y los extractos obtenidos se filtraron por un filtro de jeringa de 0,45µm y se inyectaron directamente al cromatógrafo líquido en un volumen de lazo de 5µL.

3.4.3.1.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO.

Se seleccionó la cromatografía en fase inversa por ser la recomendada para compuestos de mediana a baja polaridad (Shodex, 2017). Se ajustó el pH a 3 para lograr una buena supresión iónica de los cuatro analitos (ácidos débiles) y se probaron varias combinaciones de flujo de fase móvil y temperatura hasta lograr la resolución más conveniente. Se empleó el modo de operación de gradiente de elución. Se establecieron las siguientes condiciones instrumentales y parámetros operacionales:

- Cromatógrafo líquido de alta eficacia Thermo Scientific Accela USA System, software YL Clarity.
- Columna cromatográfica Thermo Scientific Part No 97105-154630 Synchronis de 100mm de longitud, 4.6mm de diámetro interno y 5µm de tamaño de partícula, fase estacionaria C18. - Fase móvil: agua ultra pura y acetonitrilo previamente filtrados mediante kit de filtración de 100mL Supelco Analista. Gradiente de elución: 20% de acetonitrilo y 80 de agua ultrapura durante 3 minutos, luego se varía la composición hasta 65% de acetonitrilo y 35% de agua hasta el minuto 4 y se mantiene constante hasta el minuto 15.
- Flujo de fase móvil: 0,9 mL/min.
- Temperatura de la columna: 25°C.
- Detector UV- vis. multiespectral de arreglo de diodos; longitud de onda 254nm

3.4.3.1.4 MÉTODO PARA LOS CÁLCULOS.

Se empleó el método de la curva de calibración, sustituyendo en el modelo matemático obtenido para la recta de regresión.

$$\text{Paracetamol} \quad C = \frac{A - 273,51}{6600,5} \quad (2)$$

$$\text{Ketorolaco} \quad C = \frac{A + 1465,7}{7959,9} \quad (3)$$

$$\text{Diclofenaco} \quad C = \frac{A + 88,381}{8991,9} \quad (4)$$

$$\text{Ibuprofeno} \quad C = \frac{A - 48,522}{808,84} \quad (5)$$

donde:

C – concentración de analito respectivo en mg/L

A – Área del pico de analito respectivo en la muestra

3.4.4. VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.

Al tratarse de métodos desarrollados específicamente para una serie concreta de análisis, sobre la base del conocimiento de los analitos y los sistemas cromatográficos de que se disponen en las instituciones ecuatorianas, fue necesario realizar modificaciones importantes a las técnicas publicadas por otros autores. Esto hizo necesario llevar a cabo un procedimiento exhaustivo de validación, encaminado a demostrar la confiabilidad de los resultados de los análisis, empleando los procedimientos de evaluación de parámetros de desempeño (linealidad, precisión, exactitud, especificidad, sensibilidad, límites de detección y cuantificación) y los tratamientos estadísticos recomendados en la bibliografía y en las normas oficiales (Gaete, 2014); (NTE INEN-ISO 5725-3, 2014) y (EURACHEM, 2016).

Especificidad: Se comprobó la no existencia de interferencias a través del estudio de blancos y la adición de estándares sobre las matrices.

Linealidad: Se realizó un análisis de regresión lineal a las cinco curvas de calibración, construidas con un mínimo de seis puntos y un máximo de siete en intervalos de concentración desde 0,5 hasta los 10mg/L. Cada curva de calibración fue realizada por duplicado.

Para cada analito en particular se llevó a cabo el procesamiento estadístico correspondiente. Teniendo en cuenta todos los valores experimentales de áreas de picos cromatográficos correspondientes a cada concentración, se calculó el coeficiente de correlación lineal (R) y el coeficiente de variación de los factores de respuesta (CVf), según las expresiones siguientes:

Coeficiente de correlación:

$$R = \frac{\sum (X - \bar{X})(Y - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X - \bar{X})^2 \sum (Y - \bar{Y})^2}} = \frac{\sum XY - \frac{\sum X \sum Y}{n}}{\sqrt{(\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n})(\sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{n})}} \quad (6)$$

Factores de respuesta: $f_i = \frac{Y}{X}$ (7)

Desviación estándar de f: $Sf = \left(\frac{\sum (f_i - \bar{f})^2}{n - 1} \right)^{1/2}$ (8)

Coeficiente de variación de f: $CVf = \frac{Sf}{\bar{f}} 100$ (9)

Criterios valorados:

$$r \geq 0.99; b \neq 0; CVf \leq 5 \%$$

Sensibilidad: Se evaluó la amplitud de la variación de la señal analítica respecto a la concentración a través del análisis de la pendiente de cada una de las rectas de regresión, en el intervalo de linealidad demostrado.

Límites de detección y cuantificación: Se calcularon para cada analito, a partir de la integración del ruido de fondo a cada tiempo de retención, para 10 inyecciones consecutivas de blanco (disolvente de análisis), teniendo en cuenta lo recomendado para los métodos conocidos como 3s y 10s (EURACHEM, 2016).

Precisión: Este parámetro de desempeño se evaluó en términos de repetibilidad, para lo cual se realizaron seis análisis consecutivos, un mismo día, por un mismo analista y en un mismo laboratorio, a tres niveles diferentes de concentración (bajo, medio y alto), para cada uno de los cinco fármacos. Se calculó en cada caso el coeficiente de variación (CV) a los seis resultados de concentración. Se siguió el criterio de Horwitz (EURACHEM, 2016), en este caso: $CV \leq 5\%$.

Exactitud: Se realizaron seis análisis consecutivos de disoluciones de concentración conocida (patrones) a tres niveles diferentes de concentración (bajo, medio y alto), para cada uno de los cinco fármacos y se comparó el valor medio determinado y el certificado a través de la expresión:

$$\frac{\bar{C}_x}{C_{CERT}} = \frac{X}{100\%} \quad (10)$$

donde:

\bar{C}_x : concentración media experimental

C_{CERT} : concentración conocida del patrón

Se valoró el criterio general $98\% \leq X \leq 102\%$, teniendo en cuenta, por supuesto que, si al nivel más bajo de concentración se aceptan dispersiones mayores, según ecuación de Horwitz este intervalo puede considerarse adecuado hasta con un 95% de recobrado, (Rivera Orozco & Rodriguez Baez, 2006) y (EURACHEM, 2016).

Todos los cálculos estadísticos se llevaron a cabo a través del programa Excel de Microsoft.

3.4.5. MUESTREO Y ANÁLISIS DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.

3.5.5.1 MUESTREO DE LAS AGUAS RESIDUALES.

Se empleó la metodología indicada por TRAGUANET, que plantea que el análisis de este tipo de micro-contaminante en el ambiente (muestras acuosas) requiere de varias etapas fundamentales, tal como se muestran en la (figura 3).

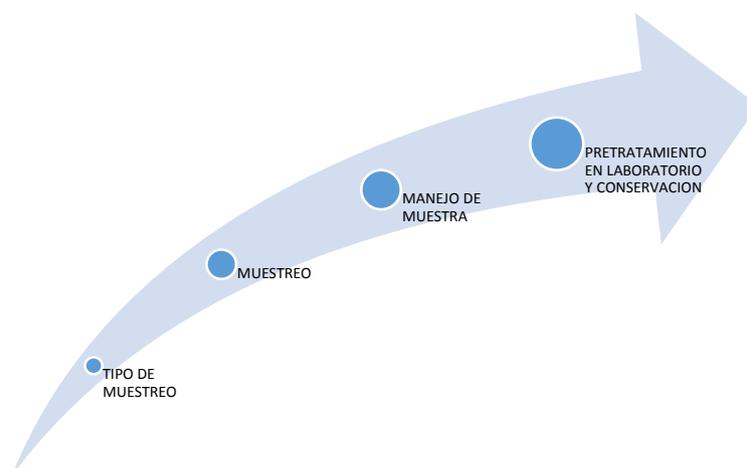


Figura 3. Etapas fundamentales del proceso del muestreo

Minimizar el número de pasos de preparación y tratamiento de la muestra es muy importante para garantizar la practicabilidad de un método de análisis. Para obtener resultados representativos se tiene que asegurar la estabilidad de los analitos durante el muestreo y el almacenamiento de la muestra. El correcto almacenamiento de la muestra es crucial para asegurarse de que los analitos no se han transformado antes de realizar el análisis. Se debe evitar posible degradación por radiación UV, por lo que estas se conservarán en la oscuridad y en refrigeración (TRAGUA, 2010).

Se emplearon, por tanto, botellas de vidrio ámbar, previamente lavadas con agua y detergente, luego enjuagadas con agua destilada, y finalmente con la misma agua del muestreo y las muestras se conservaron hasta el momento del análisis a 4°C (TRAGUA, 2010) y (NTE, 2013).

Para determinar la frecuencia del muestreo se tuvo en cuenta que las autoridades del Hospital IEES de Puyo, desconocían los datos de caudal y la tubería de descarga se encontraba sumergida. Según las normas técnicas consultadas, en caso de desconocer la frecuencia de variación de los parámetros, tales como el caudal, se establece una frecuencia estándar.

La frecuencia recomendada resulta ser la siguiente: Muestras simples de 125mL (en frascos ámbar de ese volumen aproximadamente), antes y después de la planta de tratamiento de aguas residuales, recogidas cada una hora durante las 8 horas diarias hasta completar dos muestras compuestas (antes y después) con un volumen final aproximado de un litro cada una (INSTITUTO DE TOXICOLOGIA DE LA DEFENSA, 2016). Estos muestreos se realizaron durante una semana, de lunes a domingo, de forma tal que se colectaron y analizaron siete muestras compuestas de aguas residuales sin tratamiento alguno y otras siete muestras compuestas de aguas residuales tratadas por la planta del Hospital (vertido). Se elaboró un plan de muestreo con el fin de realizar un correcto etiquetado de la muestra en el que se detalla.

- Responsable del muestreo
- Sitio y fecha de obtención de la muestra
- Tipo de muestreo a efectuar
- Cantidad de muestras y recipientes a llenar
- Análisis de campo
- Registro de condiciones ambientales presentes

Los envases para la recogida de las muestras rotularon con tinta indeleble sobre una etiqueta y se indicó: número, nombre de la muestra compuesta, fecha y hora de la última muestra simple adicionada (NTE, 2013). A continuación, se describe en detalle el procedimiento realizado para la toma de cada muestra.

1. Inicialmente se dispuso de frascos ámbar de 125mL y de 1000mL completamente lavados, purificados con agua destilada y secados.
2. Se marcaron los frascos alrededor de los 63 mL para fraccionar los 125mL en dos tomas cada media hora.
3. Para la toma de la muestra se sujetó el frasco ámbar de 125mL al extremo de una vara y se sumergió a 1,50m de profundidad.
4. El tiempo de muestreo fue de 8 horas a intervalos de 30 minutos desde las 9:00 am hasta las 16:30 pm durante siete días.

5. Se utilizaron dos frascos para la toma de muestras simples, uno en la entrada y el otro en la salida; al momento de cada toma muestra se procedió a enjuagar cada frasco, por lo menos tres veces, con la muestra a tomar.
6. Cada muestra simple se depositó en el frasco ámbar de 1000mL y se detalló el tiempo de la toma; se abrió y se tapó rápidamente el frasco después de depositar cada muestra simple.
7. El frasco de 1000mL se colocó en un “cooler” con hielos para garantizar temperaturas bajas de refrigeración. No se utilizaron preservantes.
8. Todos los datos se los registraron en el cuaderno de campo y al concluir el muestreo se procedió a etiquetar la muestra compuesta.
9. Al final del día se trasladaron al laboratorio y se colocaron en refrigeración a 4°C hasta el análisis.

El muestreo comenzó el día lunes 08 de enero de 2018 y concluyó el domingo 14 de enero de 2018.

3.5. RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES.

Recursos humanos:

1. Dos estudiantes de pre-grado
2. Un tutor de tesis de la Universidad Estatal Amazónica
3. Un técnico de laboratorio ambiental de la Universidad Estatal Amazónica
4. Un técnico de laboratorio químico de la Universidad Técnica de Manabí
5. Un docente de la Universidad Técnica de Manabí

Recursos materiales:

Materiales para el muestreo de las aguas.

- | | |
|-------------------------------|---------------------------------|
| 1. 14 frascos ámbar de 1000mL | 9. Agua 2000mL |
| 2. 2 frascos de 125mL | 10. Agua destilada 1000mL |
| 3. Botas de goma | 11. 2 varas de madera de 1,30 m |
| 4. Guantes de látex | 12. Cuaderno de campo |
| 5. Mascarilla cubre bocas | 13. Laptop |
| 6. Lentes protectoras | 14. Cinta adhesiva |
| 7. Etanol 500mL | 15. Hielera pequeña |
| 8. Hipoclorito de sodio 10 mL | |

Materiales, patrones, disoluciones y equipos para los análisis.

- | | |
|---|--|
| 1) Papel de filtro | 11) Patrones analíticos: ketorolaco, |
| 2) Micropipeta COMECTA 100 – 1000 µL | ibuprofeno, paracetamol, diclofenaco, |
| 3) Micropipeta Eppendorf Research Plus
100 – 1000 µL | loratadina, SIGMA ALDRICH. Alemania. |
| 4) Kit de filtración de 100 mL Supelco
Analitica | 12) Baño ultrasónico BRANSON PXC |
| 5) pH metro ORION 4 STAR thermo
scientific | 13) Baño ultrasónico MIDCIS Wisd |
| 6) pH-metro accumet AB 150 | 14) Visiprep SPE vacuum Manifold
Estándar 18 |
| 7) Balanza analítica OHAUS Pioner PA-
214 | 15) Cartucho MERCK LaChrolut C18 |
| 8) Espátula pequeña | 16) Agua destilada |
| 9) Filtro Thermo CIENTIFIC 44513-PVC
USA de 045µm. | 17) Viales plásticos de 10 mL |
| 10) Jeringa de 5mL made in ITALY | 18) Viales con tapa azul target DP USA C
4000-1 Nacional Scientific |
| | 19) Calentador CORNING PC- 4200 |
| | 20) Agitador magnético |
| | 21) Bomba de vacío GAST |

Reactivos y disolventes:

- 1) Methanol grado HPLC, marca MERCK Licrosolv made in Alemania
- 2) Acetonitrilo grado HPLC, marca MERCK Licrosolv made in Alemania
- 3) Hidróxido de sodio al 10 %
- 4) Ácido Acético
- 5) Agua Ultra Pura

Instrumentos analíticos

- 1) YL 9100 HPLC System, Korea con instrumento la columna Thermo Scientific Part No 97105-154630 sincronis C 18
- 2) HPLC Thermo SCIENTIFIC ACCELA USA con instrumento Columna thermo Cientific

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. SELECCIÓN DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES A EVALUAR EN LAS AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS.

Para la selección de los contaminantes a evaluar se tuvo en cuenta la información ofrecida por la dirección del Hospital Básico del IESS en Puyo (Anexo 1).

Del documento recibido se evidencia que los medicamentos más consumidos en el período de tiempo comprendido entre los meses de septiembre y noviembre de 2017 son, en orden de nivel de prescripción: (1) paracetamol en forma de sólido oral, (2) ketorolaco en forma de líquido parenteral, (3) cloruro de sodio, líquido parenteral, (4) ibuprofeno, sólido oral, (5) diclofenaco, sólido oral, (6) combinaciones de lactato de Ringer, (7) loratadina, sólido oral, (8) diclofenaco, líquido parenteral y (9) ibuprofeno, líquido oral.

Teniendo en cuenta lo anterior, se descartan inicialmente el cloruro de sodio, por tratarse de un compuesto presente en las aguas y no ser considerado un contaminante emergente y las combinaciones de lactato de Ringer por ser una disolución nutriente no peligrosa.

En cuanto al resto de los medicamentos, se agruparon aquellos que contenían el mismo ingrediente farmacéutico activo, tal es el caso de: ibuprofeno y diclofenaco, que se administran en formas sólidas y también en formas líquidas, lo cual hace que se generen mayores cantidades de posibles residuos de estos fármacos.

De esta manera, el consumo y, por tanto, el posible desecho de fármacos, quedó ordenado de la siguiente manera: (1) paracetamol (24,86%), (2) ibuprofeno (23,94%), (3) ketorolaco (22,59%), (4) diclofenaco (19,49%) y (5) loratadina (9,09%). Nótese que, a excepción de loratadina, el nivel de utilización de los demás fármacos es semejante.

Estos cinco fármacos fueron evaluados en las aguas residuales hospitalarias por considerarse los cinco como contaminantes emergentes (Petrie, Barden, & Kasprzyk, 2015); (Galar, García, Leobardo, & Morgain, 2015).

4.2. DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN LAS AGUAS RESIDUALES DEL HOSPITAL DEL IESS, PUYO.

Para poder analizar los cinco fármacos seleccionados se escogió la cromatografía líquida de alta eficacia en fase inversa pues esta es la técnica de elección para el análisis de muestras ambientales complejas debido a que permite separar los analitos entre sí y a su vez de la matriz que los contiene.

Luego de la valoración de las propiedades químicas de los cinco fármacos a determinar en las aguas residuales hospitalarias se constató que cuatro de ellos: Paracetamol, Ibuprofeno, Ketorolaco y Diclofenaco poseían propiedades ácidas débiles, en cambio la Loratadina es una base débil (TOXNET, Toxnet, s.f.). Esto condujo a que fuera necesario desarrollar y luego validar dos metodologías distintas de análisis pues era imprescindible suprimir iones, a través de la regulación del pH de las fases móviles, para poder lograr una retención adecuada en fase inversa (lipofílica).

Por todo lo anterior se desarrolló primeramente un método analítico para la cuantificación de loratadina y posteriormente otro método para la determinación cuantitativa de los restantes fármacos.

4.2.1. DESARROLLO DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE LORATADINA EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.

A pesar de que se trata de la cuantificación de un solo fármaco, se ajustaron las condiciones cromatográficas para que el tiempo de retención no fuera excesivamente pequeño y de esta manera prevenir el solapamiento de otros compuestos orgánicos medianamente polares que pudieran estar presentes en la matriz acuosa y, por tanto, interferir o afectar la especificidad de los análisis.

Se logró una separación con una resolución adecuada, empleando la columna (RP-18) y la fase móvil compuesta por 60 partes de acetonitrilo y 40 de agua ligeramente alcalinizada a pH 7,2 para garantizar la supresión iónica. La velocidad de flujo de fase móvil seleccionada

(1 mL/min) fue la que garantizó las mejores características de picos y eficacia de separación y se empleó un modo de operación isocrático a temperatura de 35°C, debido a que solo existía un analito de interés: loratadina.

Se utilizó un detector ultravioleta visible de longitud de onda variable y las lecturas de absorbancia que permitieron el registro de los cromatogramas se realizaron a 254nm para lograr la máxima absorción de luz UV, según la información espectral analizada (Subodh, 2006).

El cromatograma obtenido para la disolución patrón de loratadina a las condiciones óptimas de separación se presenta en la (figura 4) y en él se puede constatar que el tiempo de retención del analito es de 8 minutos.

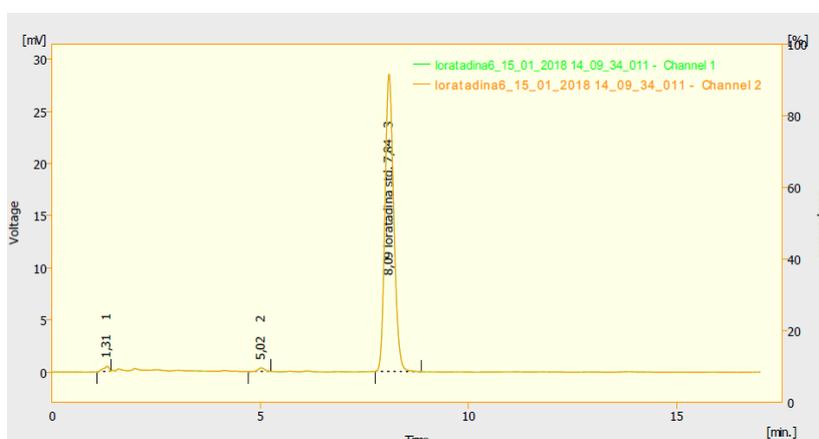


Figura 4. Cromatograma de loratadina a las condiciones de separación seleccionadas.

Para el análisis de las muestras de aguas residuales, estas fueron inyectadas directamente a partir de su matriz acuosa previamente filtrada.

4.2.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE LORATADINA EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.

Para la evaluación de la linealidad se construyó una curva de calibración en el intervalo de 0,5 a 8,0 mg/L y se evaluaron los parámetros estadísticos correspondientes a un análisis de regresión lineal que demuestran una buena correlación y un modelo lineal adecuado (figura 5). La ecuación de la recta resultó: $y = 53895x - 125,65$.

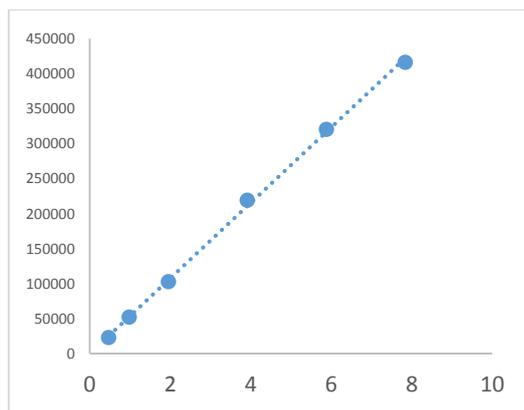


Figura 5. Curva de calibración de Loratadina.

Los parámetros estadísticos correspondientes a la linealidad se ofrecen en la tabla 1. Los coeficientes de determinación y correlación permiten afirmar que existe una buena ligazón entre la variable independiente (concentración) y la dependiente (absorbancia). El coeficiente de variación de los factores de respuesta indica que la linealidad es adecuada pues tiene un valor inferior a 5 % (EURACHEM, 2016).

Tabla 1. Parámetros de linealidad para loratadina.

Coefficiente de determinación (R^2):	0,9982
Coefficiente de correlación (R):	0,9991
Coefficiente de variación de factores de respuesta (CVf):	4,80%

En cuanto a la precisión, esta fue evaluada a tres niveles de concentración y solamente en términos de repetibilidad pues los ensayos fueron realizados en una serie repetida de datos y en un corto intervalo de tiempo, por lo que no fue necesario evaluar el comportamiento de la dispersión entre días, analistas o laboratorios.

Los resultados de precisión se muestran en la (tabla 2).

Tabla 2. Resultados numéricos del ensayo de repetibilidad.

	Conc. (mg/L)	Desviación estándar	C.V. (%)
Nivel bajo	0,4353	0,01459	3,35
Nivel medio	1,913	0,002681	0,140
Nivel alto	5,968	0,05075	0,850

De los resultados puede inferirse que la precisión es adecuada pues en los casos de concentración media o alta el coeficiente de variación es inferior al 1% y en el caso de concentración baja es cercano al 3%. Es de esperar que a menor concentración, el nivel de dispersión de los resultados se incremente (EURACHEM, 2016).

Para la evaluación de la veracidad o exactitud analítica se emplearon los resultados del ensayo de recuperación (Tabla 3), a tres niveles de concentración.

Tabla 3. Resultados numéricos de la prueba de recuperación.

	Conc. añadida (mg/L)	Conc. recuperada (mg/L)	Recuperación (%)
Nivel bajo	0,476	0,454	95,45
Nivel medio	1,96	1,913	97,61
Nivel alto	5,88	5,968	101,5

En todos los casos la recuperación es superior al 90%, inclusive en el nivel más bajo de concentración. En el nivel alto de concentración la recuperación es cercana al 100%. Todo esto permite afirmar que la exactitud del método desarrollado es adecuada (EURACHEM, 2016).

Como se describe en el capítulo 3, se evaluaron los límites de detección y cuantificación siguiendo el método 3s y 10s (EURACHEM, 2016). Los resultados se ofrecen en la (tabla 4).

Puede apreciarse que se logran límites de detección y cuantificación en el orden de las partes por billón, lo que está en concordancia con el nivel de sensibilidad alcanzado y puede evidenciarse por el elevado valor de la pendiente obtenida en el modelo matemático de la curva de calibración.

Tabla 4. Resultados de la determinación de los límites de detección y cuantificación.

Áreas de blanco	Desv. Est. (s)	3s	LD (µg/L)	10s	LC (µg/L)
1555	89,09	267,26	0,10	890,9	0,20
1468					
1503					
1511					
1497					
1477					
1508					
1529					
1495					
1234					

La especificidad del método se logra a través de la separación de la loratadina del resto de los componentes que integran la matriz y que se lleva a cabo en la columna cromatográfica, tal y como se observa en la (figura 6).

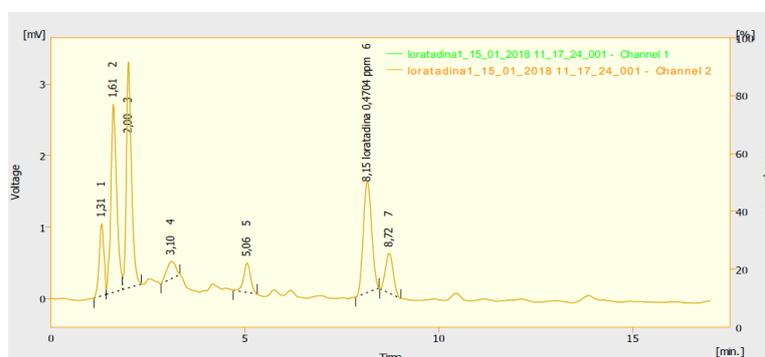


Figura 6. Cromatograma de una muestra de agua residual contaminada con patrón puro bajo las condiciones de determinación de loratadina.

En resumen, los resultados de todos los parámetros de desempeño analítico evaluados a través del procedimiento de validación realizado permiten afirmar que el método de cuantificación de loratadina en aguas residuales hospitalarias es fiable en términos de linealidad, precisión, veracidad, sensibilidad y especificidad.

4.2.3. DESARROLLO DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE PARACETAMOL, DICLOFENACO, KETOROLACO E IBUPROFENO EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.

Para la separación de los cuatro fármacos ácidos con una resolución adecuada fue necesario emplear el modo de operación de gradiente de elución, de forma tal que el paracetamol, con muy poca retención en la fase inversa, pudiera separarse bajo condiciones de elevado contenido de agua (80%) y los demás fármacos, con más afinidad por la fase estacionaria de baja polaridad, pudieran eluir a un tiempo relativamente corto con una concentración del modificador orgánico de polaridad: acetonitrilo de 65%. De esta manera se consiguió que el tiempo total de análisis no excediera los 12 minutos.

La supresión iónica necesaria para garantizar la adecuada retención de los cuatro analitos se logró ajustando el pH a 3 en el agua ultrapura a emplear como parte de la fase móvil, con ácido acético. La velocidad de flujo de fase móvil que garantizó un adecuado nivel de resolución entre los picos de los cuatro analitos en estudio fue de 0,9 mL/min., a una temperatura de columna de 25°C.

Se utilizó un detector ultravioleta visible de arreglo de diodos y los cromatogramas evaluados fueron los registrados 254nm.

A las condiciones de análisis seleccionadas, los tiempos de retención fueron: 1,75 min para el paracetamol, 5,56 min para ketorolaco, 6,42 min para diclofenaco y 6,62 min para ibuprofeno (figura 7).

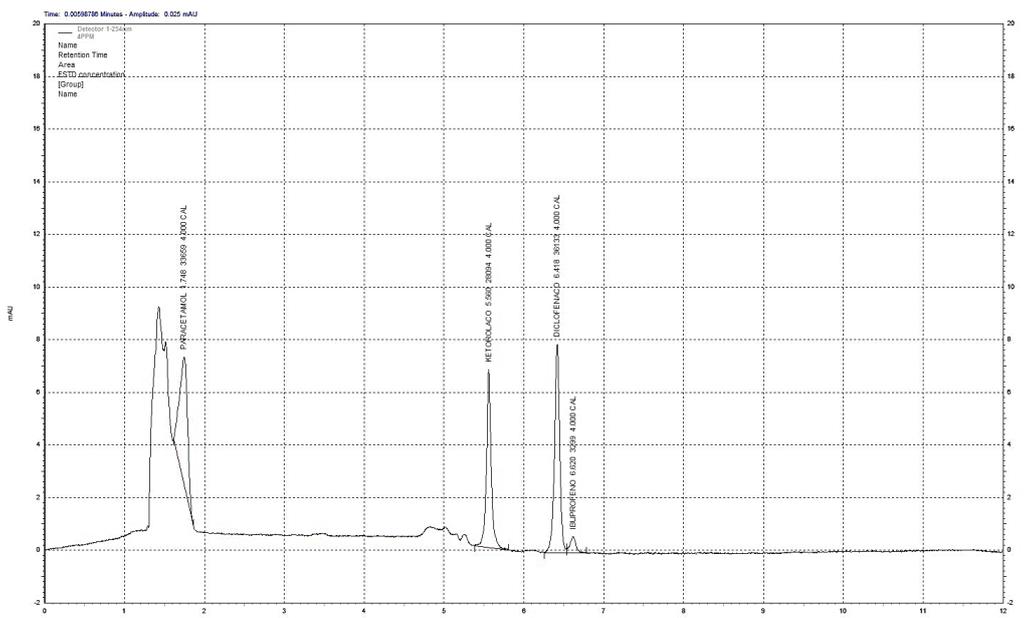


Figura 7. Cromatograma de patrones de paracetamol, ketorolaco, diclofenaco e ibuprofeno a las condiciones de separación seleccionadas.

Finalmente, para lograr picos con áreas dentro del intervalo de trabajo más adecuado se puso a punto un método de pre concentración con cartuchos de C18, previa acidificación de una porción de 100 mL de las muestras para garantizar un máximo de retención en la fase sólida y la eliminación de la matriz acuosa. Posteriormente, los analitos fueron eluidos del cartucho para la extracción en fase sólida con 1 mL de acetonitrilo. De esta manera se logró un factor de pre concentración de 100.

4.2.4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE PARACETAMOL, DICLOFENACO, KETOROLACO E IBUPROFENO EN AGUAS RESIDUALES HOSPITALARIAS MEDIANTE LA CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA EN FASE INVERSA.

Se construyeron las respectivas curvas de calibración para cada fármaco ácido en el intervalo de 0,5 a 10,0 mg/L con vistas a evaluar la linealidad (figura 8).

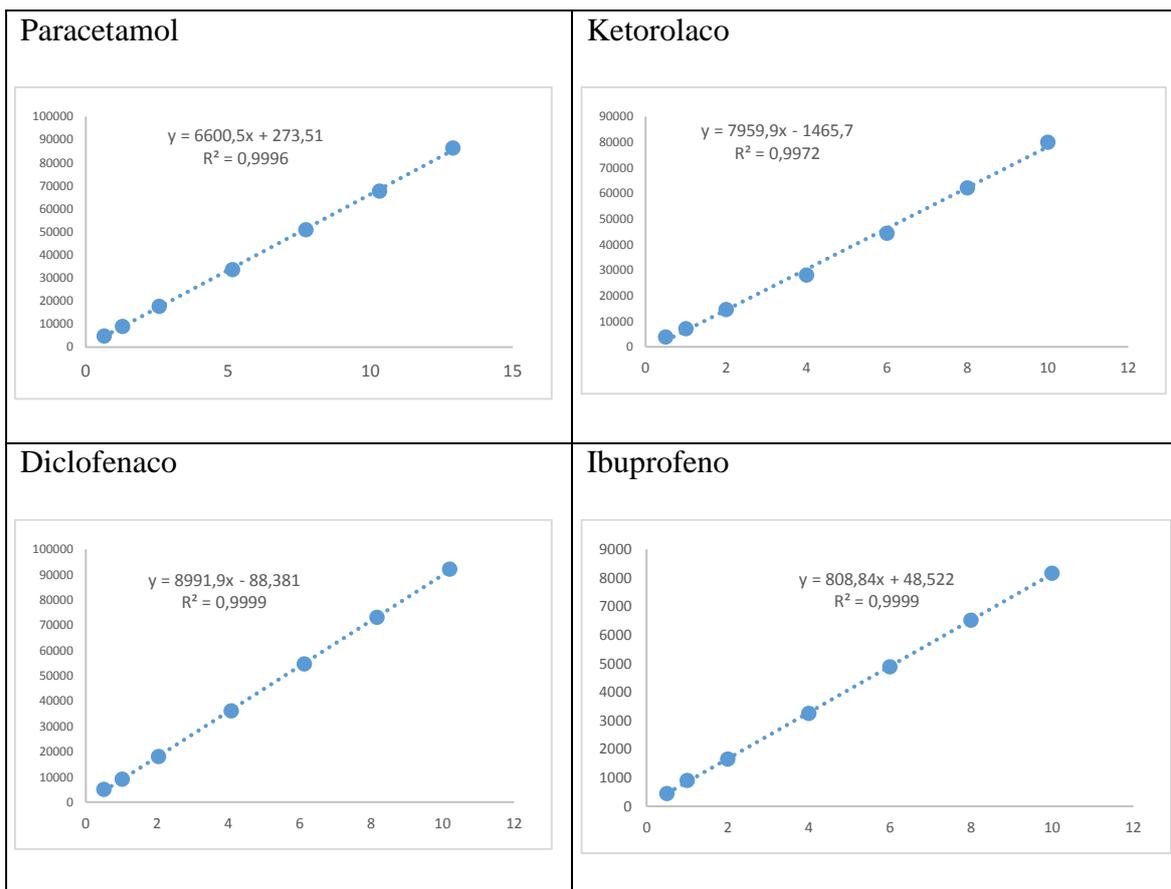


Figura 8. Curvas de calibración para los fármacos ácidos.

Los parámetros estadísticos evaluados se recogen en la (tabla 5).

Tabla 5. Parámetros de linealidad para los fármacos ácidos.

Parámetro estadístico	Paracetamol	ketorolaco	diclofenaco	ibuprofeno
R^2	0,9996	0,9972	0,9999	0,9999
R	0,9998	0,9986	0,9999	0,9999
CVf (%)	4,96	4,98	4,42	4,95

R^2 – coeficiente de determinación

R – coeficiente de correlación

CVf – coeficiente de variación de los factores de respuesta

Como se puede observar, todos los parámetros cumplen con los criterios de validación para la linealidad (EURACHEM, 2016).

La precisión se evaluó a tres niveles de concentración para cada fármaco y solamente en términos de repetibilidad por las mismas razones explicadas en el epígrafe 4.2.2., para el fármaco loratadina (tabla 6).

Tabla 6. Resultados numéricos del ensayo de repetibilidad para los fármacos ácidos.

Fármaco	Conc. (mg/L)	Desviación estándar	C.V. (%)
paracetamol	0,4985	0,003248	0,651
	5,079	0,056558	1,11
	10,09	0,1498	1,48
ketorolaco	0,5038	0,004614	0,916
	4,078	0,02709	0,6644
	10,04	0,06034	0,6008
diclofenaco	0,5099	0,01125	2,207
	4,024	0,009253	0,2300
	10,14	0,01025	0,1011
ibuprofeno	0,4924	0,006268	1,273
	3,908	0,01083	0,2771
	10,07	0,02618	0,2600

Es apreciable que la precisión es adecuada, en términos de repetibilidad, pues en la mayoría de los casos el coeficiente de variación es inferior al 1% (EURACHEM, 2016).

Los resultados del ensayo de recuperación (Tabla 7), a tres niveles de concentración permitieron evaluar la exactitud.

Tabla 7. Resultados numéricos de la prueba de recuperación.

	Conc. añadida (mg/L)	Conc. recuperada (mg/L)	Recuperación (%)
paracetamol	0,4985	0,5	99,70
	5,079	5	101,58
	10,09	10	100,88
ketorolaco	0,5038	0,5	100,77
	4,078	4	101,95
	10,04	10	100,44

diclofenaco	0,5099	0,5	101,971
	4,024	4	100,59
	10,14	10	101,39
ibuprofeno	0,4924	0,5	98,48
	3,908	4	97,69
	10,07	10	100,67

En todos los casos la recuperación es cercana al 100%, por lo que se puede afirmar que la exactitud del método desarrollado es adecuada (EURACHEM, 2016).

Los límites de detección y cuantificación fueron calculados para cada uno de los fármacos, empleando para ello diez inyecciones sucesivas de blanco de disolvente y los resultados se ofrecen en la (tabla 8).

Tabla 8. Resultados de la determinación de los límites de detección y cuantificación.

Fármaco	Desv. Est. (s)	3s	LD ($\mu\text{g/L}$)	10s	LC ($\mu\text{g/L}$)
paracetamol	127,04	381,11	0,2	1270,4	1,5
ketorolaco	35,670	107,00	2,0	356,70	2,3
diclofenaco	35,668	107,00	0,2	356,68	0,5
ibuprofeno	35,668	107,00	0,7	356,68	3,8

Todos los límites de detección y cuantificación se obtuvieron en el orden de las partes por billón, lo cual se debe a la sensibilidad lograda en términos de absortividad y al elevado factor de pre concentración que se logra al emplear la extracción en fase sólida en cartuchos de C18. Esto incide también en que se alcance un excelente nivel de especificidad del método al eliminarse completamente la matriz acuosa del agua residual, además de la eficacia de la separación del sistema cromatográfico (Figura 9).

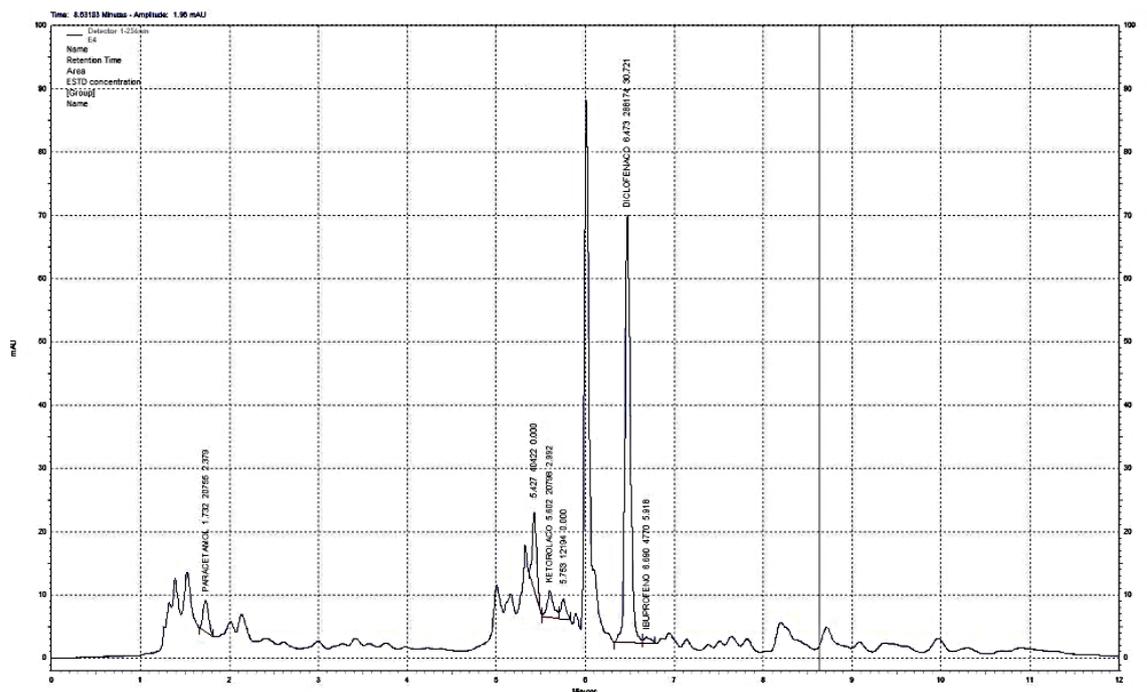


Figura 9. Cromatograma de una muestra de agua residual tomada a la entrada de la planta de tratamiento del hospital.

Teniendo en cuenta los resultados de todos los parámetros de desempeño analítico evaluados es posible afirmar que el método cromatográfico para la cuantificación de paracetamol, ketorolaco, diclofenaco e ibuprofeno en aguas residuales del hospital de IESS, Puyo, cumple con los requisitos de linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad y especificidad.

4.3. MUESTREO Y ANÁLISIS DE LAS AGUAS RESIDUALES A LA ENTRADA Y SALIDA DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DEL HOSPITAL DEL IESS, PUYO.

Como se ha explicado en el capítulo 3, para el muestreo de las aguas residuales se tomaron muestras compuestas durante siete días, a la entrada y a la salida de la planta de tratamiento y cada muestra simple se tomó a intervalos de media hora. Este procedimiento se llevó a cabo con el objetivo de lograr representatividad (TRAGUA, 2010).

Para el caso de loratadina, las concentraciones resultaron no detectables, lo cual significa que se encuentran por debajo de los 0,3 µg/L que corresponde al límite de detección. Este resultado es esperable pues se trata del fármaco menos utilizado en el hospital durante el período de tiempo en estudio. Adicionalmente, es importante resaltar que la loratadina es fácilmente degradable por microorganismos y por vía fotolítica en medios acuosos (Naitali & Ghoualem, 2017); (Cruz, 2010). Resulta importante destacar que a niveles de

concentración inferiores a las partes por millón (mg/L) este fármaco no se considera peligroso (Cruz, 2010).

En la (figura 10) se observa un cromatograma de una muestra de agua residual de salida.

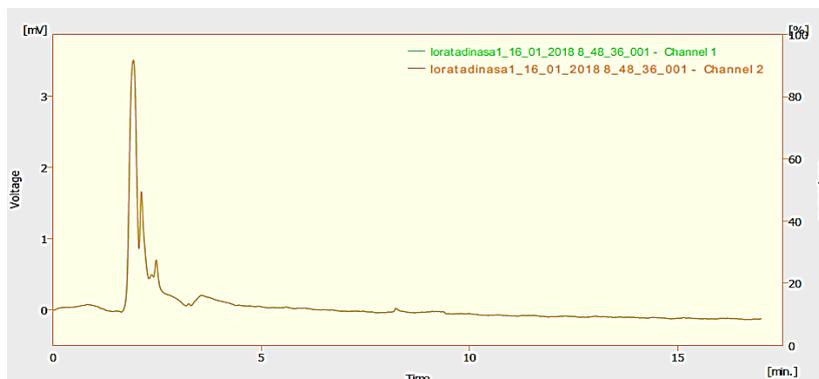


Figura 10. Cromatograma correspondiente a la muestra S1 (salida) bajo las condiciones de análisis de loratadina.

Los resultados de los análisis realizados para los fármacos ácidos se resumen en la (tabla 9).

Como se puede apreciar, en el caso del fármaco más consumido a nivel hospitalario en el período evaluado: paracetamol, los niveles encontrados en las aguas a la salida de la planta de tratamiento difieren significativamente de las concentraciones encontradas a la entrada, lo cual permite afirmar que el tratamiento convencional utilizado, que incluye un reactor biológico, produce la degradación de al menos el 65% de los residuos de este fármaco.

En general, las concentraciones encontradas de paracetamol en las aguas residuales resultan ser las más bajas, lo cual puede deberse a que para este fármaco se ha descrito un importante nivel de degradación por microorganismos, los cuales son abundantes en un agua residual de origen hospitalario (Ali, Khalid, Qais, & Wadhah, 2017) y una tendencia a la degradación fotolítica (MDH, 2014), además de que frecuentemente se encuentra adsorbido a los sólidos suspendidos (Lyman, 1990).

Finalmente debe indicarse que las bajas concentraciones encontradas, entre 0,6 y 1,6 $\mu\text{g/L}$, no representan un peligro para el medio acuático pues se han descrito concentraciones tóxicas en especies de peces de agua dulce superiores a 0,8 mg/L (Younghee, Kyungho, Sujung, & Jeongim, 2007), sin embargo, vale recomendar un análisis posterior de los lodos producidos en la planta de tratamiento.

Tabla9. Resultados de concentración de paracetamol, ketorolaco, diclofenaco e ibuprofeno en las aguas residuales del Hospital del IESS, Puyo.

M	Paracetamol			Ketorolaco			diclofenaco			ibuprofeno		
	C.µg/L	C.m.	i.c.	C.µg/L	C.m.	i.c.	C.µg/L	C.m.	i.c.	C.µg/L	C.m.	i.c.
E1	4,9867	1,6032	0,8988	22,800	27,700	9,581	404,58	400,56	30,13	29,715	41,957	9,261
E2	ND			19,979			381,71			44,613		
E3	ND			21,505			400,58			34,945		
E4	3,7595			27,970			320,58			58,373		
E5	ND			23,803			411,88			41,596		
E6	2,4763			57,431			431,28			25,981		
E7	ND			20,416			453,35			58,472		
S1	2,5596	0,5653	0,7335	26,935	23,257	3,373	417,67	392,09	13,94	29,901	46,978	11,08
S2	ND			17,740			415,56			25,066		
S3	ND			18,676			380,00			52,736		
S4	ND			21,447			369,82			43,995		
S5	1,3976			23,676			386,27			67,164		
S6	ND			23,028			374,37			48,433		
S7	ND			31,299			400,95			61,551		

M – muestra compuesta

C.µg/L – concentración en partes por billón

C.m. – concentración promedio

i.c. – intervalo de confianza

ND – no detectable

Respecto a los tres fármacos restantes puede decirse que los niveles de concentración encontrados a la salida de la planta de tratamiento no resultaron ser significativamente

diferentes a los de entrada, por lo que es posible afirmar que este tratamiento convencional empleado no permite eliminar sus residuos.

La concentración promedio encontrada en el agua residual de salida para diclofenaco fue de $392,09 \pm 13,94 \mu\text{g/L}$, sin embargo, en estudios recientes se ha descrito una concentración tóxica en peces de $5 \mu\text{g/L}$ (Schwaiger, Ferling, Mallow, Wintermayr, & Negele, 2014) . Para ibuprofeno se halló una concentración promedio a la salida de la planta de tratamiento de $46,978 \mu\text{g/L}$ y se ha descrito que, entre 1 y $100 \mu\text{g/L}$ puede ser nocivo para varias especies de peces (Flippin, Huggett, & Foran, 2007).

Para el ketorolaco se han informado concentraciones tóxicas en carpas entre 1 y $60 \mu\text{g/L}$ (Galar, García, Leobardo, & Morgain, 2015) y el nivel de concentración promedio determinado para las aguas residuales de salida analizadas en este estudio fue de $23,257 \mu\text{g/L}$

Lo anterior significa que la concentración encontrada para diclofenaco, ibuprofeno y ketorolaco en las aguas residuales de salida del hospital del IESS del Puyo pudieran originar un desequilibrio en la ictiofauna presente en los cuerpos de agua de la zona, ocasionando un impacto ambiental.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

5.1 CONCLUSIONES.

1. Los fármacos más consumidos en el Hospital del IESS de Puyo cuya presencia en sus aguas residuales a la salida de la planta de tratamiento pueden ocasionar un impacto ambiental, resultaron ser el antihistamínico loratadina y los analgésicos antipiréticos antiinflamatorios no esteroideos: diclofenaco, paracetamol, ibuprofeno y ketorolaco.
2. La técnica analítica desarrollada para la cuantificación de los analgésicos antipiréticos antiinflamatorios no esteroideos mediante cromatografía líquida de alta eficacia, permitió la determinación simultánea de los cuatro fármacos contaminantes en las aguas residuales hospitalarias.
3. Los dos métodos de análisis cromatográfico desarrollados permitieron la cuantificación confiable de los cinco contaminantes emergentes, según el procedimiento de validación realizado.
4. El fármaco loratadina no se encontró en niveles detectables en las aguas residuales hospitalarias debido a su menor consumo y residualidad y a su facilidad de degradación por microorganismos o por vía fotolítica en medios acuosos; el paracetamol fue encontrado en concentraciones no peligrosas debido a la eficacia del tratamiento convencional y su inestabilidad química.
5. Los contaminantes emergentes diclofenaco, ibuprofeno y ketorolaco no sufrieron degradación al ser sometidos al tratamiento convencional de las aguas residuales y son vertidos en concentraciones que pueden producir un impacto ambiental negativo.

5.2 RECOMENDACIONES.

Implementar un sistema de eliminación de los contaminantes emergentes: diclofenaco, ibuprofeno y ketorolaco de las aguas residuales del hospital del IESS a través del empleo de alguna tecnología no convencional como la biosorción, empleando residuos agroindustriales: bagazo de caña, cáscara de cacao o mesocarpio de coco.

CAPÍTULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AINIA. (2013). *El problema de los contaminantes emergentes*. Obtenido de <http://www.ainia.es/noticias/restos-de-antibioticos-en-aguas-el-problema-de-los-contaminantes-emergentes/>
- Ali, G. A.-K., Khalid, M. N., Qais, Y. M., & Wadhah, H. (2017). Occurrence of Paracetamol in Aquatic Environments and Transformation by Microorganisms: A Review. *Chronicles of Pharmaceutical Science*, 1(6), 341-355. Recuperado el 2 de Febrero de 2018, de [//scientiaricerca.com/submit-manuscript.php](http://scientiaricerca.com/submit-manuscript.php)
- Arias, C. A., & Fonseca, A. E. (2011). *Estudio preliminar de la presencia de compuestos emergentes en las aguas residuales del Hospital Universidad del Norte*. Bogota.
- AWARE. (2016). *Sustancias contaminantes prioritarias y emergentes*. Barcelona.
- Bastos, C., & Marcone, O. (2009). Quantitative determination of acetaminophen, phenylephrine and carbinoxamine in tablets by high-performance liquid chromat. *SciELO*, 32(7), 1951-1955. Recuperado el 23 de Enero de 2018, de http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422009000700044&script=sci_arttext
- Boyd. (2003). *toxnet*. Recuperado el 28 de Enero de 2018, de <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~LKmCMO:1>
- Buser. (1999). *Toxnet*. Recuperado el 28 de Enero de 2018, de <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~Hcm3x0:3>
- Campos, D. (2003). *la encuesta como tecnica de investigacion elaboracion de cuestionarios y tratamiento estatico de los datos*.
- CANARINA. (2012). *Contaminacion Ambiental*. Obtenido de <http://www.canarina.com/contaminacion-ambiental.htm>
- Capcha Espinoza, H. P., & Llanos Rebaza, G. P. (2007). *Desarrollo Y Validacion De Un Metodo Analitico Para La Cuantificacion De Dexametasona Y Clotrimazol En Crema, Por Hplc Y Analisis De Productos Comercializados En El Peru*. Lima.
- Cherfi, A., Archour, M., Otmani, S., & Morsli, A. (Agosto de 2015). Health risk assessment of heavy metals through consumption of vegetables irrigated with reclaimed urban wastewater in Algeria. *Environ Protec*. Recuperado el 30 de Noviembre de 2017
- Colborn. (1993). Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and human. Recuperado el 2 de Febrero de 2018, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2781844/#RSTB20090122C11>
- Cruz, S. (2010). *Loratadine*. Recuperado el 2 de Febrero de 2018
- CUSIRITATI. (2018). *El Metodo De Gradiente De HPLC*.
- Davis. (2002). Look back at the London smog of 1952 and the half century since. Recuperado el 2 de Febrero de 2018, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2781844/#RSTB20090122C14>

- DRUGBANK. (13 de junio de 2005). Recuperado el 26 de Enero de 2018, de drugbank.ca:
<https://www.drugbank.ca/drugs/DB01050>
- DRUGBANK. (13 de Junio de 2005). Recuperado el 28 de Enero de 2018, de
<https://www.drugbank.ca/drugs/DB00465>
- Ellis. (1882). *toxnet*. Recuperado el 28 de Enero de 2018, de <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~LKmCMO:1>
- EMUI . (2010). Metodo Analitico como Metodo Natural.
- Enviroment, P. i. (2004). Pharmaceuticals in the Enviroment. *Springer*, 95-463. Recuperado el 20 de Enero de 2017
- Espada, B. (22 de Enero de 2018). Loratadina:Dosis para que Sirve y Efectos Secundarios. *demedicina*. Recuperado el 28 de Enero de 2018, de <https://demedicina.com/loratadina-dosis-para-que-sirve-y-efectos-secundarios/>
- EURACHEM. (2016). *La Adecuacion Al Uso De Los Metodos Analiticos*. Madrid .
- Ferrari. (2003). *toxnet*. Recuperado el 28 de Enero de 2018, de <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~PhraBe:1>
- Flippin, J., Huggett, D., & Foran, C. (15 de Febrero de 2007). hanges in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *ELSEVIER*, 81, 73-78. Recuperado el 01 de Febrero de 2018, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X06004103?via%3Dihub>
- FVS. (2016). *Vida Sostenible*. Obtenido de Contaminacion del agua:
<http://www.vidasostenible.org/informes/el-problema-de-los-contaminantes-emergentes/>
- Gaete, F. (2014). *validacion de la metodologia analitica de Paracetamol y Aplicacion a un estudio de bioexencion*. Santiago.
- Galar, M., García, S., Leobardo, G. M., & Morgain, A. (Abril de 2015). Oxidative stress and genotoxicity induced by ketorolac on the common carp *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology*. doi: 10.1002/tox.22113
- Galarza, R. (26 de Marzo de 2004). *HidroRed*. Obtenido de Estado Y Gestion de los Recursos Hidricos en el Ecuador : <http://tierra.rediris.es/hidrored/basededatos/docu1.html>
- Gil, M. J., Soto, A. M., Usma , J. I., & Gutierrez, O. D. (2012). *Contaminates Emergentes en Aguas, efectos y posibles tratamientos*. Bogota.
- Gilpin, R. (2000). Neutral and Acid Drugs: Liquid Chromatography. Recuperado el 25 de Enero de 2018, de <http://cnqzu.com/library/Anarchy%20Folder/Chemistry/Crystalization,%20Purification,%20Separation/Encyclopedia%20of%20Separation%20Science/Level%20III%20-%20Practical%20Applications/PHARMACEUTICALS%20-%20Neutral%20and%20Acidic%20Drugs%20Liquid%20Chromatogr>
- Guideline, I. H. (Noviembre de 2005). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). Recuperado el 25 de Enero de 2018, de https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf

- Gutiérrez. (2013). Maestría en Química Analítica. Recuperado el 20 de Enero de 2017
- Hanson. (2011). Ecological Impacts of Toxic Chemicals. *Bentham Science Publishers*. Recuperado el 29 de Enero de 2018
- IESS. (2014). *Informe De Gestion*. Puyo.
- IESS. (2014). *Plan Medico funcional 2014*. Puyo.
- INEC. (2010). *Fasiculo Provincial De Pastaza* . Quito.
- INFOBAE. (01 de Diciembre de 2016). Sociedad. *La ONU informa crecimiento Poblacional en 2016*.
- ITD. (2016). *Protocolo De Toma De Muestras De Agua Residual*. Madrid.
- Kazakevich, Y., & Lobruto, R. (2007). HPLC for Farmaceutical Scientists. En Y. Kazakevich, & R. Lobrutto. United State: John Wiley & Son, Inc. Recuperado el 28 de Enero de 2018, de <https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=csAk-MpeTocC&oi=fnd&pg=PR5&dq=HPLC+for+pharmaceutical+Scientists&ots=Dn14RpYISI&sig=T7hf9srKV7htAufqle3AqS0m4UM#v=onepage&q=HPLC%20for%20pharmaceutical%20scientists&f=false>
- Kümmerer, K. (2011). Emerging contaminants. 69-87. Recuperado el 30 de Noviembre de 2017
- LA HORA. (5 de Junio de 2004). Preocupante situacion ambiental en el ecuador. *La situacion del Ecuador*.
- Lyman. (1990). *toxnet*. Recuperado el 28 de Enero de 2018, de <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~LkmCMO:1>
- Mayor, R. (1997). Practicla HPLC method development . Recuperado el 25 de Enero de 2018
- MDH. (2014). *Acetaminophen in Drinking Water*. Environmental Health Division, Departamento de Salud, Minnesota. Recuperado el 2 de Febrero de 2018, de www.health.state.mn.us/eh
- Medina Julca, J., & Berrocal Quinto, J. (2008). *Validacion de metodo analitico de valoracion de naproxeno 550mg. Tableta por cromatografia liquida de alta performance*. Lima.
- MUGS . (2017). Significativa la contaminacion del agua por sustacias emergentes, aun en dosis minimas. *MUGS Noticias*.
- Naitali, & Ghoualem. (2017). Biological degradation of Loratadine. *Journal of Materials and Enviromental Science* , 8(7), 2270-2275. Recuperado el 2 de Febrero de 2018, de http://www.jmaterenvirosci.com/Document/vol8/vol8_N7/243-JMES-Naitali.pdf
- Narvaez, J., & Jimenez, C. (2012). Pharmaceutical Products in the Enviroment: Sources. *Vitae, Revista de la facultad de quimica farmaceutica*, 19(1), 93-108. Recuperado el 2 de Febrero de 2018, de <file:///C:/Users/Usuario/Desktop/marco%20teorico/antropogenicos.pdf%20en%20el%20ambiente.pdf>
- NTE. (2013). *Agua. Calidad de agua. Muestreo. Manejo y conservacion de muestras*. Quito.
- NTE INEN-ISO 5725-3. (2014). *Exactitud (veracidad y precision) de los metodos y resultados de la mediciones parte 3. Mediciones intermedias de la precision de un metodo normalizado de medicion* . Quito.

- OMS. (2007). *Medicamentos esenciales de la OMS*. Ginebra.
- OMS. (2017). *Salud Ambiental*. Ginebra.
- Oreste, L. (2002). *Detector De Arreglo De Diodos*.
- Ortiz, M. (2017). El Comercio. *Datos Poblacion ecuatoriana*.
- Owens, B. (19 de Febrero de 2015). Pharmaceutical in the envioment: a growing problem. *The Pharmaceutical Journal*. Recuperado el 2 de Febrero de 2018, de <https://www.pharmaceutical-journal.com/news-and-analysis/features/pharmaceuticals-in-the-environment-a-growing-problem/20067898.article>
- Ozores, M. (2016). *Cromatografia De Liquidos* . Valladolid.
- Papadoyannis, I., & Samanidou, V. (2004). Validation of HPLC Instrumentation. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 27, 3103-3119. doi:10.1081/JLC-120029697
- Pastaza.com. (14 de 01 de 2015). *Ecuador*. Obtenido de Donde está Puyo Pastaza: <http://www.pastaza.com/>
- Perez, M. I. (2009). *Uso De La Tecnica Separativas Miniaturizadas Como Alternativa A La Determinacion De Antibioticos Beta-Lactamicos En Farmacos, Aguas Y Alimentos*. Granada.
- Petrie, B., Barden, R., & Kasprzyk, H. B. (1 de Abril de 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.053>
- Planeta Azul. (2017). *Distribucion del agua en nuestro Planeta*. Bogota.
- Pubchem. (16 de 09 de 2004). *Open Chemistry Database*. Recuperado el 22 de Enro de 2018, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/acetaminophen#section=Top>
- QUIMINET. (2006). *Seleccion Y Uso De Solventes En Cromatogrfia HPLC*. Mexico D.F.
- Ramírez, I., Martínez, P., Quiroz, M., & Bandala, E. (Octubre de 2015). Efectos de los estrógenos como contaminantes emergentes en la salud y el ambiente . Recuperado el 30 de Noviembre de 2017
- Rivera Orozco, C. A., & Rodriguez Baez, M. R. (2006). *Uso De La Ecuacion De Horwitz En Laboratorio De Ensayos NMX-EC-17025-IMNC-2006*. Mexico.
- Robledo, V., Velázquez, M., Montañez, J. L., Pimentel, J. L., Vallejo, A. A., López, M. D., & Venegas, J. (Agosto de 2016). Hidroquímica y contaminantes emergentes en aguas residuales urbano industriales de morella, michoacan, mexico. *Rev.Int.Contam.Ambie*, 1-2. Recuperado el 30 de Noviembre de 2017
- Rodriguez, R. (2013). *Cromatografia En Fase Reversa*.
- Rogers. (1984). Recuperado el 28 de Enero de 2018, de <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~Hcm3x0:3>
- Sánchez. (2011). Ecological Impacts of Toxic Chemical. *Bentham Science Publishers*. Recuperado el 2 de Febrero de 2018

- Sanchez, E. (22 de Noviembre de 2015). *Toxamb*. Recuperado el 23 de Enero de 2018, de <https://toxamb.wordpress.com/2015/11/22/efectos-de-la-contaminacion-por-el-medicamento-antiinflamatorio-diclofenaco/>
- Scheurrell. (2009). *toxnet*. Recuperado el 28 de Enero de 2018, de <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~PhraBe:1>
- Schwaiger, Ferling, Mallow, Wintermayr, & Negele. (2014). Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. 141-150. doi:10.1016/j.aquatox.2004.03.014
- Shodex. (2017). *Cromatografía De Partición Y Adsorción*. New York. Obtenido de Columnas de fase reversa.
- Subodh, K. (26 de Octubre de 2006). Organic Chemistry. Recuperado el 2 de Febrero de 2018, de http://www.uobabylon.edu.iq/eprints/publication_11_8282_250.pdf
- Sui. (2011). *toxnet*. Recuperado el 28 de Enero de 2018, de <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~PhraBe:1>
- TEKNIKER . (2010). *Contaminantes emergentes en el agua*.
- TN Relaciones. (2016). *Contaminación Hospitalaria*. Malaga.
- TOXNET. (19 de Enero de 2012). Recuperado el 23 de Enero de 2018, de Toxicology data network: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~H3m4jy:1>
- TOXNET. (15 de Mayo de 2014). *Toxicology data network*. Recuperado el 23 de Enero de 2018, de <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+103-90-2>
- TOXNET. (s.f.). *Toxnet*. Recuperado el 2 de Febrero de 2018, de <https://toxnet.nlm.nih.gov/>
- TRAGUA. (2010). *Protocolo de técnicas de muestreo y técnicas analíticas de contaminantes emergentesy prioritarios*. Madrid.
- Youngee, K., Kyungho, C., Sujung, P., & Jeongim, P. (Mayo de 2007). Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea. *Environment International*. doi: 10.1016/j.envint.2006.11.017

CAPÍTULO VII. ANEXOS