

Información Importante

La Universidad Santo Tomás, informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del catálogo en línea, página web y Repositorio Institucional del CRAI-USTA, así como en las redes sociales y demás sitios web de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan finalidad académica, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor, nunca para usos comerciales.

De conformidad con lo establecido en el Artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, la Universidad Santo Tomás informa que “los derechos morales sobre documento son propiedad de los autores, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.”

Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación, CRAI-USTA

Universidad Santo Tomás, Bucaramanga

Evaluación de las concentraciones de acetaminofén presentes en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad Pontificia Bolivariana Seccional Bucaramanga y su efecto tóxico sobre el *Allium Cepa*

Claudia Sofía Quintero Duque

**Trabajo de grado para optar el título de
Magíster en Ciencias y Tecnologías Ambientales**

**Director del Proyecto
Alexandra Cerón Vivas, Ingeniera Sanitaria- Ph.D**

**Codirector del Proyecto
Martha Cervantes Díaz – M. Sc.**

**Universidad Santo Tomás, Bucaramanga
División de Ingenierías y Arquitectura
Maestría en Ciencias y Tecnologías Ambientales
Bucaramanga
2019**

Dedicatoria

La autora expresa los agradecimientos a mis padres, trabajadores incansables y excelente ejemplo a seguir. A mi esposo William por su amor incondicional y su gran apoyo en todos los momentos de mi vida. A mis hijos Andrés y Santiago, quienes son una parte esencial de mi existir. A mis amigas del alma: Claudia y Angélica, por su amistad sincera, cariño y apoyo permanente. A los profesores Luis Eduardo Castillo y Johan Fernando Suárez por haberme apoyado en la realización de la maestría. Al personal del Laboratorio de Estudios Ambientales: Diego, Felisa, Alcides Yefferson y el Sr German del Departamento de Compras, así como a todas las personas que contribuyeron con su apoyo académico y moral, para el desarrollo de mi trabajo de grado.

Agradecimientos

La autora expresa agradecimientos a la Universidad Pontificia Bolivariana, por la financiación del trabajo a través del proyecto “Ocurrencia y destino de contaminantes farmacéuticos de una planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Pontificia Bolivariana-seccional Bucaramanga, PTAR UPB” aprobado por la Dirección de Investigaciones bajo el código 057-0116-2400. Igualmente, al Laboratorio de Estudios Ambientales, por permitir utilizar sus instalaciones y equipos. A la Universidad Santo Tomás, Seccional Bucaramanga, por su apoyo en la revisión y desarrollo de la metodología. Igualmente, a Dra Alexandra Cerón Vivas y Codirectora M.Sc Martha Cervantes Díaz, por su aceptación y confianza en mi trabajo, adicionalmente por los valiosos aportes en el desarrollo de la investigación.

Contenido

	Pág.
Contenido	5
Lista de tablas	8
Resumen	12
Abstract.....	14
Introducción.....	16
1 . Objetivos	17
1.1 Objetivo General.....	17
1.2 Objetivos Específicos	17
2 Marco Teórico.....	18
2.1 Definición del sistema de tratamiento de aguas residuales	18
2.1.1 Planta de tratamiento de la Universidad Pontificia Bolivariana (PTAR – UPB)...	18
2.1.2 Origen de los compuestos farmacéuticos en las aguas residuales.....	22
2.1.3 Consumo y presencia de los fármacos en el Ambiente.....	26
2.1 Determinación analítica del acetaminofén	28
2.2.1 Preparación de la muestra.	28
2.2.2 Análisis cromatográfico.....	29
2.2 Evaluación Ecotoxicológica del Acetaminofén.....	30
3 Metodología	33
3.1 Muestreo	34

3.2	Pretratamiento de lodos y muestras líquidas	36
3.2.1	<i>Procedimiento para el pretratamiento de lodos y extracción de muestras líquidas y lodos.</i>	37
3.3	Estandarización de la técnica de cromatografía líquida de alta resolución HPLC para la determinación de Acetaminofén.....	39
3.3.1	<i>Reactivos</i>	39
3.3.2	<i>Condiciones de operación.</i>	39
3.4	Determinación de la concentración efectiva utilizando el método <i>Allium cepa</i> e identificación de las divisiones mitóticas.....	44
3.4.1	<i>Materiales y Reactivos</i>	44
4	Resultados y análisis	48
4.1	Caracterización Analítica del Acetaminofén.....	48
4.1.1	<i>Validación del método por cromatografía líquida de alta resolución.</i>	48
4.2	Determinación de acetaminofén en muestras líquidas y lodos.....	53
4.2.1	<i>Tecnologías utilizadas para la remoción de acetaminofén en aguas y lodos.</i>	62
4.3	Determinación de la concentración efectiva del acetaminofén mediante el Método <i>Allium cepa</i>	63
5	Conclusiones	67
6	Recomendaciones	68
7	Referencias bibliográficas.....	70
8	Apéndices.....	83

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. <i>Condiciones establecidas para la realización del ensayo.</i>	41
Tabla 2. <i>Condiciones estándares para ensayo Allium cepa.</i>	45
Tabla 3. <i>Condiciones estándares para ensayo Allium cepa.</i>	48
Tabla 4. <i>Resultado de repetibilidad del método</i>	48
Tabla 5. <i>Porcentaje de error generado al adicionar 5 ml de patrón en el efluente y efluente del RAP.</i>	54
Tabla 6.. <i>Porcentaje de recuperación en muestras líquidas procedentes del Efluente y Efluente del RAP pertenecientes a la planta de tratamiento de aguas residuales de la UPB.</i>	54
Tabla 7. <i>Pruebas t- student y F Fischer para intercepto y pendientes de las muestras adicionadas.</i>	55
Tabla 8. <i>Resultados del afluyente, efluente rap, efluente de la planta y lodos procedentes del Sistema de Tratamiento.</i>	56
Tabla 9. <i>Resultados del muestreo realizado en los puntos anteriormente descritos.</i>	59
Tabla 10. <i>Porcentajes de remoción de las diferentes etapas del sistema de tratamiento.</i>	60

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. <i>Etapas involucradas en la PTAR-UPB.</i>	18
Figura 2. <i>Sistema secundario- terciario de tratamiento y el lecho de secado que brinda las condiciones necesarias para realizar su compostaje.</i>	20
Figura 3. <i>Etapas involucradas en la producción de abono a partir de los lodos de los canales y tratamiento preliminar.</i>	21
Figura 4. <i>Origen y ruta de los contaminantes.</i>	22
Figura 5. <i>Rutas de transformación de las sustancias farmacéuticas.</i>	23
Figura 6. <i>Fármacos más comunes encontrados en suelo, aire y agua.</i>	24
Figura 7. <i>Transformaciones que sufre el acetaminofén una vez es ingerido por el ser humano, en la figura b. se presentan las estructuras intermedias en el proceso de degradación fisicoquímica o biológica</i>	26
Figura 14. <i>Esquema para el montaje del Allium Cepa.</i>	47
Figura 15. <i>Curvas de calibración en el intervalo bajo y rango alto de calibración.</i>	49
Figura 16. <i>Dispersión de los datos obtenidos en muestras adicionadas en el efluente del RAP y efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales UPB.</i>	50
Figura 17. <i>Cromatograma del afluente de la PTAR – UPB. Fuente: Laboratorio de Estudios Ambientales de la UPB.</i>	51
Figura 19. <i>Comportamiento de las muestras adicionadas en las muestras del efluente del RAP y Efluente del sistema.</i>	53

Figura 21. <i>La concentración efectiva para el patrón puro estuvo entre 48.18 ppm y 42.5 ppm con una desviación estándar de 4.01 ppm.....</i>	63
Figura 22. <i>La concentración efectiva obtenida con la pastilla comercial estuvo entre 134 ppm y 145 ppm con una desviación estándar de 7.14 ppm.....</i>	64
Figura 23. <i>Descripción de los cambios en las divisiones mitóticas en células de Allium Cepa expuestas a distintas concentraciones de acetaminofén.....</i>	65
figura 24. <i>Relación entre las áreas del acetaminofén puro y acetaminofén procedente de las pastillas.</i>	84

Lista de apéndices

Apéndice A. Pruebas preliminares y recomendaciones frente al manejo del equipo.

Apéndice B. Recomendaciones frente a la utilización de la pastilla como patrón secundario en la implementación del método.

Apéndice C. Resultados involucrados en los límites de detección y cuantificación del método.

Resumen

Actualmente, el acetaminofén (ACE) es el analgésico más utilizado en la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades en humanos y animales, que finalmente se dispone en el agua al ser excretado en la orina y heces fecales y que finalmente llegan a las plantas de aguas residuales (PTARs) las cuales han sido diseñadas y construidas principalmente para remover materia orgánica y en menor grado nutrientes y microorganismos. Por lo tanto, estimar la concentración la concentración del acetaminofén en la PTAR UPB, constituye un gran avance en la región, ya que la Universidad Pontificia Bolivariana, es la única institución académica que posee un sistema de tratamiento para sus aguas residuales. Adicionalmente, el efluente es vertido en un cuerpo de agua superficial (Quebrada Menzuly), por lo que es de importancia analizar la concentración efectiva del acetaminofén, con el fin de analizar con aproximación su influencia ecotoxicológica.

En este estudio se evaluó la concentración del acetaminofén en la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Pontificia Bolivariana (PTAR – UPB) en las muestras procedentes del Afluente, Reactor de Flujo a Pistón y Efluente, junto con los lodos utilizando cromatografía de alta resolución (HPLC), adicionalmente se evaluó efecto tóxico empleando como bioindicador el *Allium Cepa*. Los resultados obtenidos de las matrices extraídas (extracción líquido-líquido) de los lodos y muestras líquidas que fueron analizadas por HPLC, arrojaron datos con un coeficiente de variación entre 0.3% en matrices líquidas y 10% en lodos, porcentajes de recuperación entre 92% -101% en matrices líquidas y y límite de detección de 20 ng/L. Las desviaciones entre los valores obtenidos son pequeños y se deben a la influencia de la matriz y pretratamiento de la muestra. Los resultados muestran concentraciones de

acetaminofén entre 460 ng/L y 80 ng/L en el afluente y efluente, respectivamente. En los lodos del reactor de flujo a pistón se obtuvo una concentración 5.2 mg/Kg y en los lechos de secado de 3.4 mg/Kg. La remoción obtenida en la PTAR- UPB por degradación varía entre 88% y 91%, por sorción fue 12% y un 34.7% permaneció en el efluente final. De acuerdo con lo anterior, en la PTAR predominó el proceso de degradación del acetaminofén en la fase líquida y la adsorción en los lodos fue menor. La evaluación ecotoxicológica del acetaminofén (método *Allium Cepa*) evidenció que la concentración encontrada en el efluente final es menor que la concentración efectiva hallada en el patrón puro (45.34 ppm) y en la pastilla (139.5 ppm), indicando que el contenido de acetaminofén en el efluente no es potencialmente tóxico.

Palabras clave: Acetaminofén, Planta de Aguas Residuales, HPLC, Método *Allium cepa*, concentración efectiva.

Abstract

At the end of XX century, scientists have been worried about increase of acetaminophen (ACE) consumption, that increase its concentration and toxic effects, due to concentration in sewage and rivers, springs. Additionally, its frequency of disposal in urine and stool make to acetaminophen increase its presence in sewage of waste water treatment plants whose design is based on organic matter removal and solids, otherwise microorganisms and other nutrients in low grade, This investigation takes into account two stages: First, to be know (ACE) concentration, its relevant results are related to new knowledge, because PTAR UPB just only treatment system build in academic institution in Floridablanca-Santander. Additionally, final effluent is poured in a Menzuly spring, for that reason to know is very important to know ecotoxicological influence.

The methodology based on High Performance Liquid Chromatography was used for the characterization of acetaminophen showed a precision with coefficient of variation between 0.3% -10%, recovery percentages between 92% -101%, detection limit of 20 ng / L, the deviations between the low obtained values could be related to the influence of the matrix and pretreatment of the sample. The results showed acetaminophen concentrations between 460 ng / L and 80 ng / L in the tributary and effluent respectively. In the case of Reactor sludge, 5.2 mg / kg and Drying Beds of 3.4 mg / kg were obtained. The removal obtained in the plant by degradation varied between 88% and 91%, per 12% more and 34.7% remain in the final effluent. Thus, drug removal processes are favored in the liquid phase and the solid phase adsorption phenomenon. The ecotoxicological evaluation of acetaminophen (*Allium cepa* method) threw values in the pure standard (45.34 ppm)

and tablet (139.5 ppm), this indicates that the content of acetaminophen in the Effluent is not potentially toxic.

Keywords- Acetaminophen, Validation, High performance liquid chromatography, *Allium cepa* Test, Effective concentration.

Introducción

Los compuestos farmacéuticos forman parte de un grupo importante de sustancias emergentes de alto consumo, que han sido consideradas como contaminantes del recurso hídrico desde hace tres décadas. La ocurrencia de muchos de estos compuestos y su efecto tóxico son aún desconocidos, por lo que internacionalmente no están incluidas dentro de las sustancias de interés sanitario que requieren un manejo especial. La resolución 0631 de 2015 de la normatividad Colombiana, exige que los vertimientos a cuerpos hídricos, dependiendo de su origen, cumplan con una serie de parámetros (límites máximos permisibles), dentro de los cuales las sustancias farmacéuticas no están contempladas (Colombia., 2015).

Los requerimientos ambientales de las descargas puntuales en cuerpos receptores, han fomentado el uso de las plantas de tratamiento, cuyo diseño depende de las características endémicas del agua residual y los requisitos para su descarga final. En este último caso, las investigaciones se han enfocado a escala piloto pero aún no se ha implementado a gran escala para el tratamiento de sustancias de origen farmacéutico como el acetaminofén, que asegure la eficiencia del sistema de tratamiento y la disminución de la carga contaminante.

Las bajas concentraciones de acetaminofén reportadas en varias investigaciones, no están asociadas con su persistencia en el ambiente, sin embargo, la razón principal de su incidencia negativa radica en el hecho de su continua disposición y transformación en otros productos denominados metabolitos, considerados más tóxicos y persistentes que el compuesto de origen, con efectos biológicos negativos sobre los organismos que estén expuestos (Rivera-Jaimes et al., 2018).

En concordancia con la problemática expuesta anteriormente, surgen los objetivos del trabajo de grado, cuyo alcance es evaluar la concentración de acetaminofén presente en las diferentes

etapas de la planta de tratamiento de agua residual de la Universidad Pontificia Bolivariana (PTAR – UPB) junto con las remociones que se llevan a cabo en la planta de aguas residuales. Paralelamente, determinar el efecto potencial del analgésico utilizando como biomonitor el *Allium Cepa*.

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Evaluar las concentraciones en las diferentes etapas de acetaminofén presente en la planta de tratamiento de agua residual de la Universidad Pontificia Bolivariana (PTAR – UPB) y su efecto tóxico sobre el *Allium Cepa*.

1.2 Objetivos Específicos

- Determinar la eficiencia de remoción de acetaminofén presente en muestras líquidas y sólidas provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales de la UPB- Bucaramanga.
- Implementar y evaluar un método analítico basado en HPLC -UV que permita determinar la concentración de acetaminofén presente en muestras líquidas y lodos procedentes de la planta de tratamiento de aguas residuales de la UPB.
- Evaluar la ocurrencia del acetaminofén como contaminante emergente presente en las muestras líquidas y lodos de la planta de tratamiento de aguas residuales empleando como biomonitor *Allium cepa*, con el fin de determinar su efecto tóxico.

2 Marco Teórico

2.1 Definición del sistema de tratamiento de aguas residuales. El tratamiento de aguas y las plantas de tratamiento de agua se define: Como un conjunto de sistemas y operaciones unitarias de tipo físico, químico o biológico, cuyo papel radica principalmente en la eliminación o reducción de las cargas contaminantes que generan impacto en aguas naturales, de abastecimiento, de proceso o residuales. Su finalidad es asegurar que las aguas cumplen con las características que definen su uso final (Phong Vo et al., 2019).

2.1.1 Planta de tratamiento de la Universidad Pontificia Bolivariana (PTAR – UPB).

La PTAR-UPB trata el agua residual proveniente de los baños, cafeterías, laboratorios y lavado de las instalaciones físicas. El sistema de tratamiento consta de tres niveles: tratamiento preliminar, secundario con degradación anaerobia y secundario – terciario que utiliza buchón de agua. Además, se cuenta con un tanque de regulación de caudales con un sistema de bombeo y una cámara de separación de caudales al inicio del tratamiento anaerobio. En la figura 1 se visualizan los diferentes niveles del sistema de tratamiento de aguas residuales de la PTAR-UPB.

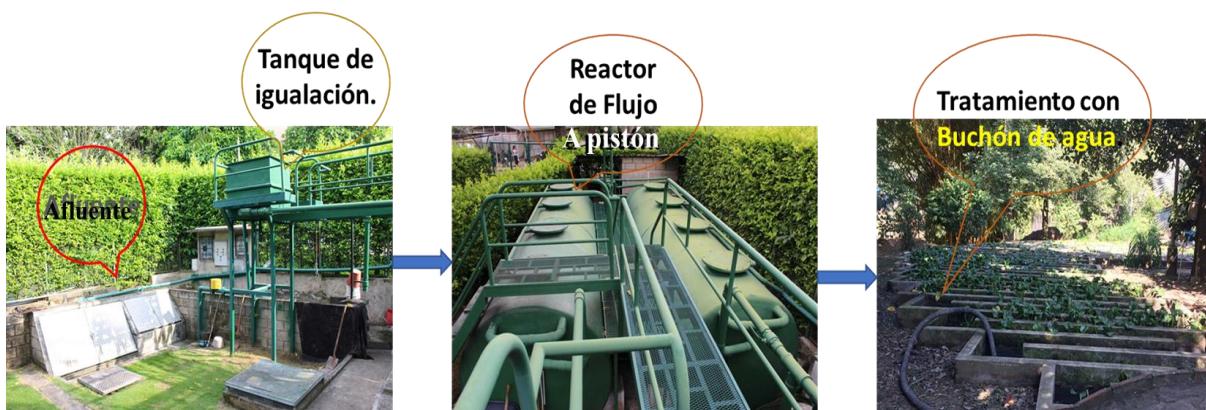


Figura 1. Etapas involucradas en la PTAR-UPB.

2.1.1.1 Descripción de la planta de tratamiento. La descripción de cada una de las etapas de tratamiento de la PTAR – UPB, se presenta a continuación:

- **Tratamiento preliminar:** Tiene como objetivo remover del afluente, aquellos materiales que generan interferencias en los procesos posteriores. cuenta con un sistema de dos unidades de rejillas finas construidas de un material plástico con un sistema de desarenador y trampa de grasas, que se encarga de separar las grasas provenientes de las cafeterías y restaurantes, y separar las arenas que se puedan originar en el lavado de algunas instalaciones.
- **Tratamiento secundario:** Esta fase se usa principalmente para la remoción de DBO y sólidos suspendidos, se realiza a través de degradación anaerobia y consta de dos reactores anaerobios de flujo a pistón (RAP), con volumen útil de aproximadamente 22 m³, y un tiempo de retención hidráulico de 20 horas, la purga de lodo digerido del sistema se realiza dos veces al año aproximadamente. Para garantizar un flujo constante de entrada al reactor de flujo a pistón, la planta posee un tanque de igualación.
- **Tratamiento secundario - terciario:** consiste en un sistema de canales con 300 metros de longitud con una sección de 42 cm de ancho por 90 cm de altura, donde se realiza la degradación de la materia orgánica que no ha sido removida en los RAP. En los 20 metros iniciales se realiza una inyección de aire intermitente (1hr on – 1 hr off) en el sistema de tratamiento y posteriormente, los canales están cubiertos por plantas acuáticas flotantes (*Eichhornia crassipes*) para remover adicionalmente algunos nutrientes.

2.1.1.2 Utilización de los lodos. Los lodos procedentes del sistema secundario (lodos de RAP) son mezclados con los procedentes del tratamiento preliminar, posteriormente se someten a un proceso de degradación microbiológica en un lecho de secado, como se observa en la figura 2 .



Figura 2. Sistema secundario- terciario de tratamiento y el lecho de secado que brinda las condiciones necesarias para realizar su compostaje.

Para garantizar las condiciones de compostaje se retira el material que por sus condiciones de tamaño y degradabilidad, pueden inhibir el proceso. Una vez mezclados los lodos se asegura su homogeneidad y humedad mediante el volteo y adición de agua al material. En la figura 3, se describen las etapas involucradas en la obtención del compost.

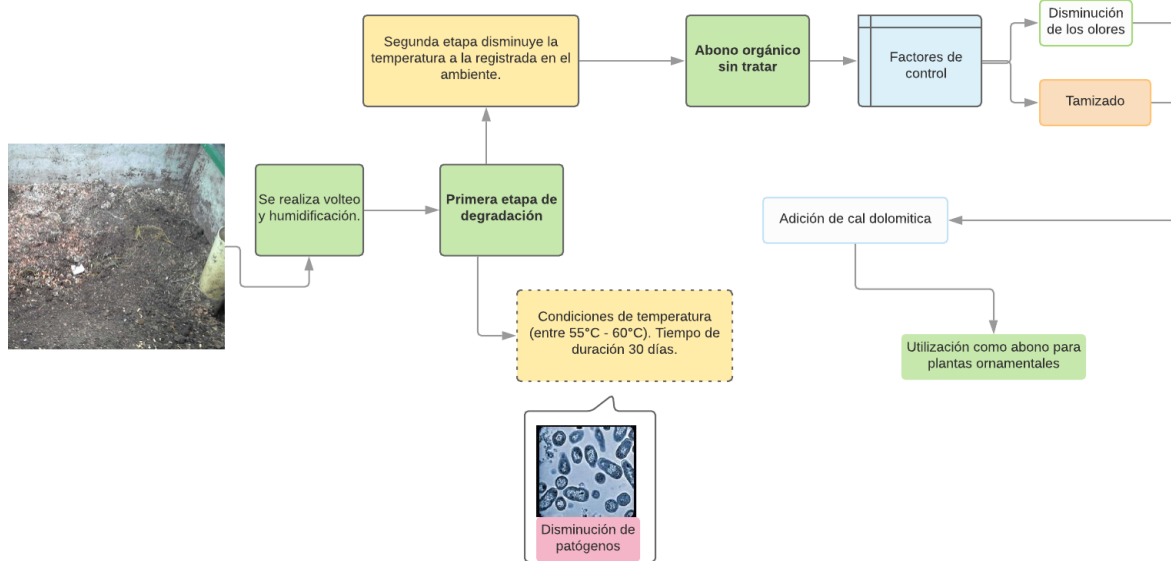


Figura 3. Etapas involucradas en la producción de abono a partir de los lodos de los canales y tratamiento preliminar.

2.1.1.3 Finalidad del Sistema de tratamiento y su acción sobre los fármacos. Es importante resaltar que el sistema de tratamiento está diseñado para la remoción de materia orgánica, por lo que se desconoce su función en la degradación de los medicamentos y sustancias emergentes presentes en las aguas residuales. Las etapas involucradas en los sistemas de tratamiento de aguas residuales (EDAR) pueden garantizar la remoción de ciertos medicamentos en mayor o menor medida. Sin embargo, su eliminación depende de la solubilidad misma sustancia, por ejemplo: la carbamazepina se elimina escasamente del agua, sin embargo, el ibuprofeno tiene una reducción del 60-90%, el hecho de que no se detecten residuos de fármacos en el efluente de la PTAR, no significa que hayan sido eliminados, ya que pueden degradarse en productos que no se monitorean (Moreno-Ortiz et al., 2013).

2.1.2 Origen de los compuestos farmacéuticos en las aguas residuales. Dependiendo del origen, el agua residual puede contener fármacos, que son depositados en los afluentes de los sistemas de tratamiento y finalmente en las fuentes superficiales. El esquema general del origen y ruta de los contaminantes farmacéuticos se presentan en la figura 4.

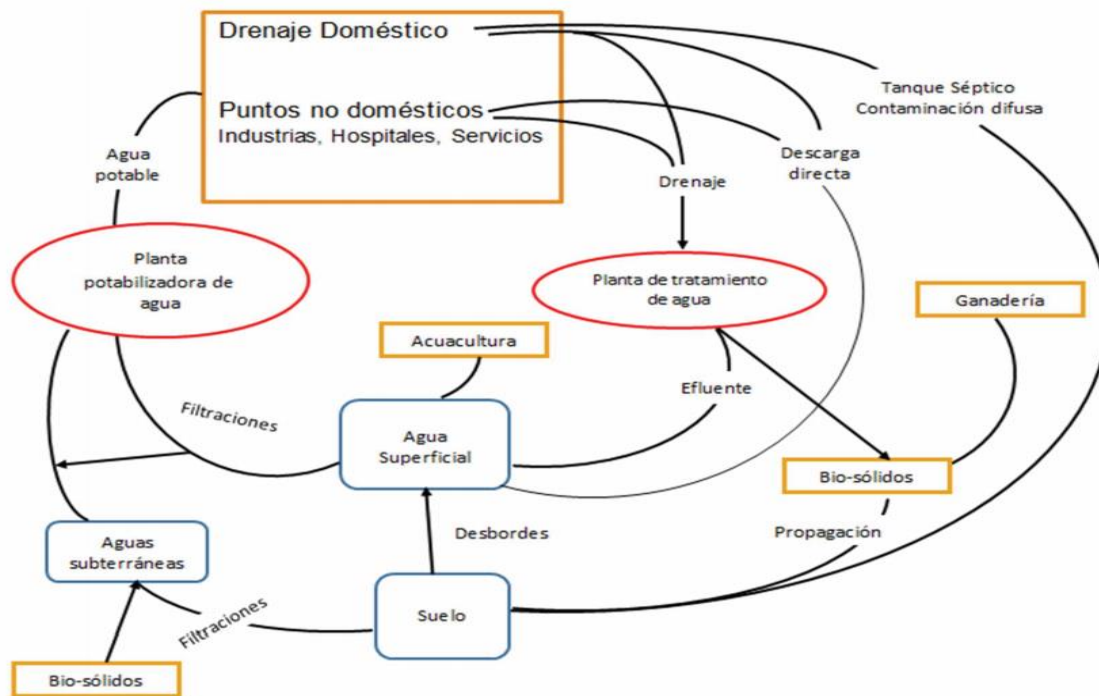


Figura 4. Origen y ruta de los contaminantes. (Mompelat, Le Bot, & Thomas, 2009)

Los fármacos pueden ingresar al ambiente desde descargas directas de aguas residuales o aguas tratadas, que se disponen como biosólidos o infiltraciones que convergen al ciclo formando parte del agua potable (“Dev. Surf. Contam. Clean.,” 2013; Fatta-Kassinos, Vasquez, & Kümmerer, 2011; Petrie, Barden, & Kasprzyk-Hordern, 2015). Una vez es consumido el fármaco por los seres humanos o animales, se excreta a través de la orina y heces fecales en forma de metabolitos y sólo el 5% permanece inalterado. En el momento que llegan al medio ambiente, los fármacos se presentan en su composición original, como metabolito o producto transformado (Ver figura 5),

afectando de manera similar a los órganos, tejidos, células o biomoléculas de los organismos expuestos.

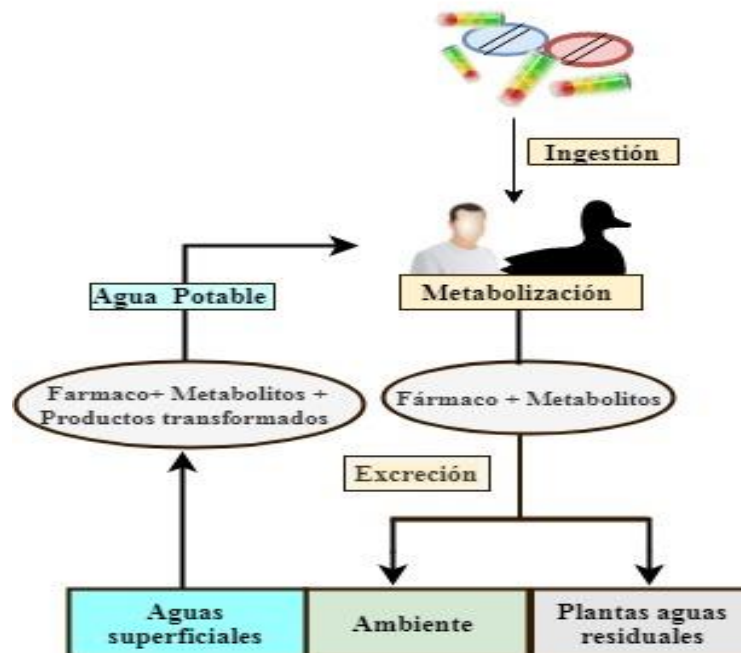


Figura 5. Rutas de transformación de las sustancias farmacéuticas. Fuente: La autora

Debido a la importancia de conocer la incidencia de estas sustancias emergentes a nivel sanitario, en 1976 se realizó el primer estudio sobre la contaminación por productos farmacéuticos en una planta de tratamiento de residuos ubicada en Kansas City (USA) detectando clorofenoxibutirato y ácido salicílico, metabolitos del clofibrato y aspirina (Santos et al., 2010) . Posteriormente, se realizaron estudios de fármacos en plantas de tratamiento de aguas residuales, principalmente por las vías de ingreso y su liberación continua en el ambiente, además de generar alteración en los ciclos vitales de la flora y fauna.(Peñate, Javier, Haza, Wilhelm, & Delmas, 2009)

La presencia potencial de medicamentos para uso humano en el ambiente acuático, cobró la

importancia suficiente ante dos hallazgos importantes: el primero fue el realizado por Thomas Ternes, en relación a que muchos desechos farmacéuticos humanos estaban presentes en efluentes de agua tratada (Richardson & Ternes, 2011). El segundo fue el hallazgo del etinilestradiol (EE2) y su contribución a la feminización de los peces machos en ríos (Peñate et al., 2009).

En la actualidad, el consumo de diferentes tipos de medicamentos hace aún más compleja su caracterización y tratamiento. En la figura 6, se presenta una relación de los medicamentos con mayor presencia en el ambiente.

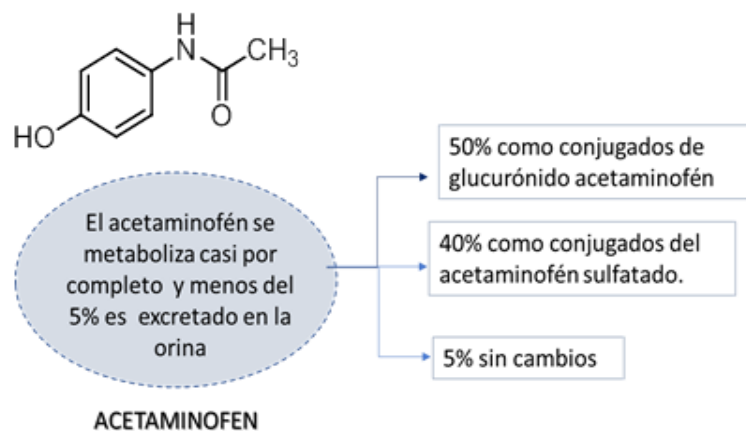


Figura 6. Fármacos más comunes encontrados en suelo, aire y agua. (Peñate et al., 2009)

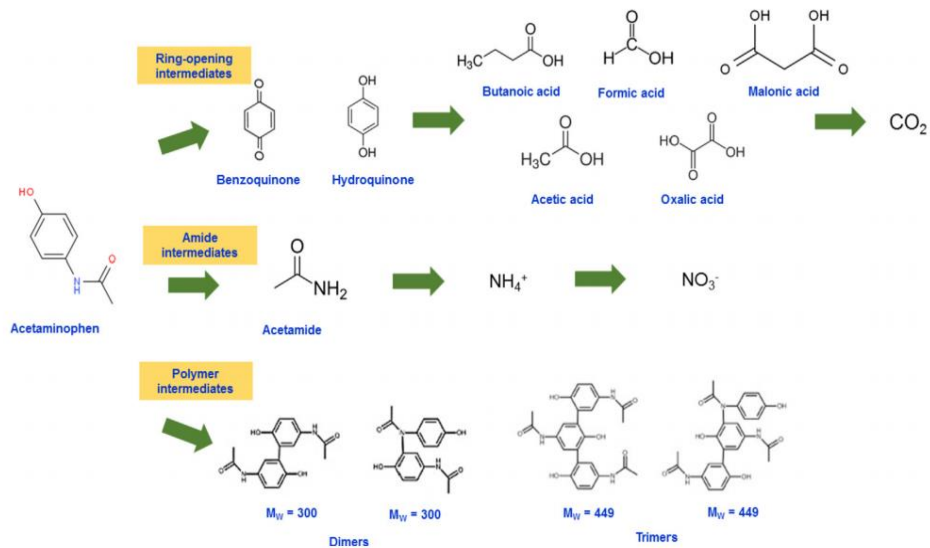
Actualmente, hay más de 3000 compuestos farmacéuticos divididos en 24 clases terapéuticas, entre los cuales los antibióticos y analgésicos/anti-inflamatorios, son los más utilizados (Verma et al., 2017). El acetaminofén o paracetamol (N-acetyl-p-aminofenol, APAP) es un buen ejemplo de analgésicos que junto con los opioides débiles como la codeína y antiinflamatorios como el

ibuprofeno y la aspirina, son de amplio consumo (Bennin & Rother, 2015; Golar, 2011). En la Figura 6, se observa que el APAP es uno de los analgésicos más detectados en afluentes y efluentes de plantas de tratamiento, ríos y lodos. (Quesada et al., 2014)

La estructura del acetaminofén, corresponde a un radical amino - carboxilo unido al fenol, su ruta metabólica incluye la formación de conjugados de glucurónido- acetaminofén y conjugados de acetaminofén- sulfatado, finalmente, el 5% del acetaminofén se excreta inalterado (Xiao et al., 2013), sin embargo, para el caso de los procesos de tratamiento fisicoquímico y biológico, se han establecido las estructuras intermedias que se generan algunas de ellas conducen a la liberación de CO₂, como se presenta en las estructuras b, que se muestran en la figura 7.



a. Metabolitos procedentes de la ingesta de acetaminofén.



b. Estructuras intermedias procedentes de los tratamientos fisicoquímicos y biológicos.

Figura 7. En la figura a. se presenta las distintas transformaciones que sufre el acetaminofén una vez es ingerido por el ser humano, en la figura b. se presentan las estructuras intermedias en el proceso de degradación fisicoquímica o biológica (Aminoshariae & Khan, 2015; Xiao et al., 2013; Vo, Hoang Nhat Phong et al., 2019).

2.1.3 Consumo y presencia de los fármacos en el Ambiente. El aumento en el consumo de medicamentos es proporcional al crecimiento demográfico y económico, que junto con la automedicación ocasionan el incremento de su concentración en el ambiente. Diferentes investigaciones realizadas en Europa, Asia y África, muestran que el acetaminofén y el ibuprofeno son los antipiréticos que más frecuentemente se detectan (frecuencia de detección: 60%) en aguas superficiales y hospitalarias. (Halling-SortLuo, Wang, & Wang, 2015; Lin et al., 2019; Fent, Weston, & Caminada, 2006; Desbiolles, Malleret, Tiliacos, Wong-Wah-Chung, & Laffont-Schwob, 2018;). La investigación realizada por Hoang Nhat Phong Vo (2019), muestra que a nivel mundial es constante la presencia de acetaminofén en plantas de tratamiento, teniendo niveles

mayores en Estados Unidos que en países como Francia, Alemania, Reino Unido y Colombia. Por ejemplo, en el año 2006, Baltimore (USA) reportó 0.96 mg ACE/L y estos valores aumentaron 100 veces más mg/L después del año 2012. A pesar de reportar que el 45% de las descargas presentes en los hospitales presentaban concentraciones detectables de acetaminofén, las cuales se incrementaban en invierno debido al patrón de consumo alcanzando niveles de 220 mg/L en los efluentes de los hospitales. Para el caso de Colombia las concentraciones en los efluentes de las plantas de tratamiento variaron entre 9.2 a 39.2 mg/L, estos valores estuvieron muy cercanos a los reportados en las plantas de tratamiento de Asia .

En el caso de Colombia, la información reportada por los laboratorios al Sistema de información de Precios de Medicamentos (SISMED) en el periodo de 2012 a 2014, reveló que las ventas de todas las formas de acetaminofén tuvieron un total de 137 millones de empaques por un billón de pesos colombianos, esto indica que el bajo costo de inversión en cualquier tipo de acetaminofén durante un año (3650 pesos colombianos/año), favorecen su accesibilidad y consumo, incrementando su venta. (Observamed & Colombiana, 2013).

El impacto que generan los vertimientos de varios contaminantes orgánicos emergentes en ambiente acuático; es cada vez más preocupante porque representan una amenaza para el medio, generando efectos como la toxicidad aguda y crónica de los organismos y personas expuestas, bioacumulación en el ecosistema, pérdida de hábitats y biodiversidad, así como su influencia negativa sobre la salud humana.

Los fármacos están abundantemente distribuidos en los sistemas acuáticos y terrestres y presentes en las heces, residuos sanitarios y plantas de tratamiento de aguas residuales. Su distribución ambiental, como en el caso del acetaminofén y sus metabolitos ha generado preocupación entre los investigadores, autoridades reguladoras y la comunidad en general.

Siendo un analgésico y antipirético seguro y eficaz, ampliamente disponible como medicamento de uso frecuente. A pesar de su seguridad cuando no se utiliza correctamente, es uno de los fármacos más comunes cuyo efecto tóxico produce hepatotoxicidad en dosis de 325 mg/Kg, puede también puede afectar los riñones, corazón y sistema nervioso central(Acevedo-Barrios, Severiche-Sierra, & Jaimes Morales, 2017)(Botero-Coy et al., 2018).

2.1 Determinación analítica del acetaminofén

La cromatografía es el método de análisis químico para la separación de los componentes de una mezcla, por distribución entre dos fases una móvil y la otra estacionaria. Este proceso se lleva a cabo por la absorción entre las fases sólida – líquida, con la ayuda de la polaridad de las moléculas involucradas los distintos medios, actividad del adsorbente, fuerza de elución del disolvente, coeficiente de reparto entre la fase móvil y la fase estacionaria, son algunos de los factores que influyen en la separación por cromatografía.

En la fase móvil, es importante tener como base la escala de Hildebrand, en donde la fuerza del solvente, es particular para cada uno de los solventes. Acorde con esta escala los solventes más activos son aquellos que contienen grupos hidroxilos. En ocasiones, es indispensable la mezcla de fases móviles, que incrementen la polaridad mejorando significativamente la separación de los picos asociados con cada compuesto (Snyder, 1975) .

2.2.1 Preparación de la muestra. La caracterización de las sustancias farmacéuticas se encuentran documentadas en las normas *Pharmacopea*, desarrolladas en el control de calidad de los medicamentos que se comercializan (Rodríguez-Nogales, Roura, & Contreras, 2005). De manera aislada, se han propuesto métodos cuantitativos para la determinación de acetaminofén en

pastillas comerciales que contienen además del componente activo, cafeína hasta en un 40% (Lee, 2017). Esta condición facilita su detección, como se puede observar en la metodología desarrollada en la Universidad Central de Venezuela, estableciendo curvas patrón desde 5 ppm hasta 20 ppm, utilizando como técnica instrumental HPLC. (Amaro, Rosa; Gómez, Luis; Vita, 2008). Dentro de los tipos de técnicas que han sido utilizadas para la detección del acetaminofén en matrices líquidas y sólidas, se incluyen: Espectroscopía Ultravioleta – Visible (UV-VIS), Cromatografía de gases (CG), y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). (Arikan, Rice, & Codling, 2008; Bahnick & Markee, 1985; Ekpeghere, Lee, Kim, Shin, & Oh, 2017; Katsoyiannis., 2012; Lai, Lin, Tung, Lo, & Lin, 2016; McClellan & Halden, 2010; Rojas Mantilla Astrid Dayana, 2016; Roose & Brinkman, 2005; Sun et al., 2015; Yamamoto et al., 2009; Zhang & Zhou, 2008)

2.2.2 Análisis cromatográfico. En los últimos años, los métodos analíticos basados en el uso de la espectroscopía en especial infrarrojo (IR) y Raman han demostrado ser útiles para el análisis de diferentes compuestos químicos incluyendo el análisis de productos farmacéuticos. La utilización de la cromatografía de gases acoplado a masas, suele ser el método más utilizado para detectar los metabolitos que se generan de la estructura original de la sustancia. Sin embargo, en mezclas complejas procedentes de las plantas de aguas residuales o aguas superficiales, las metodologías basadas en HPLC al ser no destructivas, facilitan la identificación, separación y cuantificación de las moléculas originales. Adicionalmente, al adaptar HPLC a un espectrómetro de masas, se pueden detectar los distintos metabolitos que se pueden formar durante los procesos de transformación fisicoquímica y biológica en las plantas de tratamiento (Krzeminski et al.,

2019a; S. W. Li & Lin, 2015; A. Y. Lin, Lin, Tung, & Chary, 2010; Rica & López, 2015; Castro-Suarez, Pájaro-Payares, Espinosa-Fuentes, & Meza-Fuentes, 2017).

El punto más crítico previo al análisis cromatográfico es la extracción del analito de interés, en la mayoría de los casos, la falta de automatización hace que esta etapa involucre mayor tiempo, pudiendo superar el 60% del tiempo total del análisis. Paralelamente, la extracción consume en alto grado disolventes orgánicos algunos de ellos con alta toxicidad. El método de extracción seleccionado dependerá de la naturaleza de los compuestos, así como de sus propiedades físico-químicas y de los sistemas analíticos disponibles. Aunque existen diferentes métodos como Extracción líquido-líquido (LLE), Extracción sólido-líquido (SPE), Microextracción en fase sólida (SPME), algunas de ellas se describen a continuación:

Extracción Líquido-líquido (LLE): La LLE se suele aplicar a la separación de analitos no polares o semipolares en muestras acuosas. Los disolventes más empleados son: n-hexano y el ciclohexano, principalmente. Sin embargo, la selección del disolvente y el ajuste de la fase acuosa son también fundamentales, ya que el pH, el efecto de la adición de sal y la presencia de reactivos de pares iónicos, tienen una marcada importancia en el equilibrio de distribución.

Una vez extraído el analito de interés se selecciona el método cromatográfico que se requiera, para el caso del acetaminofén, se reporta que la utilización de Cromatografía Líquida de Alta Resolución o HPLC es el método más adecuado. (Arias Villamizar, Carmen Alicia; Escudero de Fonseca, 2011; Flores, Salcedo, & Fernández, 2011; Jean et al., 2012; A. Y. Lin et al., 2010)

2.2 Evaluación Ecotoxicológica del Acetaminofén

Las pruebas de toxicidad permiten evaluar la “biodisponibilidad de contaminantes presentes en muestras compuestas por mezclas complejas, valiéndose de las respuestas a los distintos niveles

de organización biológica, que van desde alteraciones bioquímicas y moleculares, hasta disfunción endocrina, y modificaciones conductuales y fisiológicas (efectos sobre crecimiento, reproducción). Existe una gran variedad de bioensayos toxicológicos como microtox utilizando *V. fischeri*, para sustancias farmacéuticas buscar otros ensayos, dentro de los cuales el ensayo de toxicidad aguda con bulbos de cebolla *Allium cepa* (aceptado como biomonitor ecotoxicológico), mide el grado de inhibición en el crecimiento de la raíz, determinado de forma fácil y rápida la toxicidad en un ecosistema acuático, en términos de la concentración efectiva (EC 50). (Jean et al., 2012)(Andreozzi et al., 2004; Daniela Morais Leme, 2009; Kirkland, 1998; Lee, 2017; Nunes, Antunes, Santos, Martins, & Castro, 2014). Entre las especies utilizadas, el *Allium Cepa*, permite evaluar daños en el DNA, tales como aberraciones y disrupciones en el ciclo mitótico, cabe resaltar que el alcance del proyecto no incluye la determinación del índice mitótico. El ensayo de *Allium cepa se* caracteriza por su bajo costo y fácil manipulación. Entre las ventajas que ofrece se encuentra el empleo de cortos periodos de tiempo para su ejecución, así como la facilidad de metabolizar las sustancias a las que está expuesta. Igualmente, los bioensayos citotóxicos permiten evaluar el comportamiento químico y eco toxicológico, utilizando diferentes organismos, dentro de los cuales las plantas mayores son reconocidas como excelentes modelos genéticos para detectar mutágenos ambientales y son frecuentemente utilizados en estudios de monitoreo. (Aminoshariae & Khan, 2015; Bhat, Singh, Singh, & Vig, 2018; Corrêa Martins, Souza, & Silva Souza, 2016; Leme & Marin-Morales, 2009; Ortiz de García, García-Encina, & Irusta-Mata, 2017; Vancouver Island University, 2008).

Adicionalmente a la cuantificación de los contaminantes farmacéuticos, se incluye la evaluación ecotoxicológica, con el fin de determinar su ocurrencia y destino ambiental. (Jos et al., 2003). Particularmente, en los sistemas de tratamiento se han encontrado cambios significativos

en los niveles de persistencia de los fármacos, debido a las diferencias en la solubilidad que facilitan su eliminación en los ecosistemas acuáticos.(Bhat et al., 2018). El impacto que se genera por su disposición final en cuerpos receptores, se ha evaluado a través del potencial de toxicidad en términos de la concentración efectiva (CE), este valor ha sido reportado en ciertos medicamentos del grupo de analgésicos, sin embargo a nivel ambiental se han realizado mediciones de la concentración efectiva, a nivel de crustáceos como *Daphnia magna* *Daphnia longispina*, (Nunes et al., 2014; McAllister, 2018;Tejada, Quiñones, & Peña, 2014;Arikan, Rice, & Codling, 2008; Bai, Meng, Xu, Zhang, & Guo, 2014; Matamoros, Nguyen, Arias, Salvadó, & Brix, 2012; Walters, McClellan, & Halden, 2010; WOLFF, 2006; Zhang & Zhou, 2008;Nunes, Antunes, Santos, Martins, & Castro, 2014). Para el caso de su concentración en lodos, esta puede llegar a ser muy baja, con una vida media entre 1hora y 4 horas, con baja volatilidad ($k_H = 5.0 \times 10^{-9}$), generando cambios insignificantes en el proceso de degradación y sorción en sólidos, junto con bajos niveles de concentración.(Vancouver Island University, 2008).

3 Metodología

El desarrollo del presente trabajo que está vinculado al proyecto aprobado por la Dirección General de investigaciones de la Universidad Pontificia Bolivariana: “Contaminantes farmacéticos en una planta de aguas residuales institucionales” con código 057-0116-2400. En la Figura 8 se muestran las distintas etapas involucradas en la metodología del trabajo de grado.

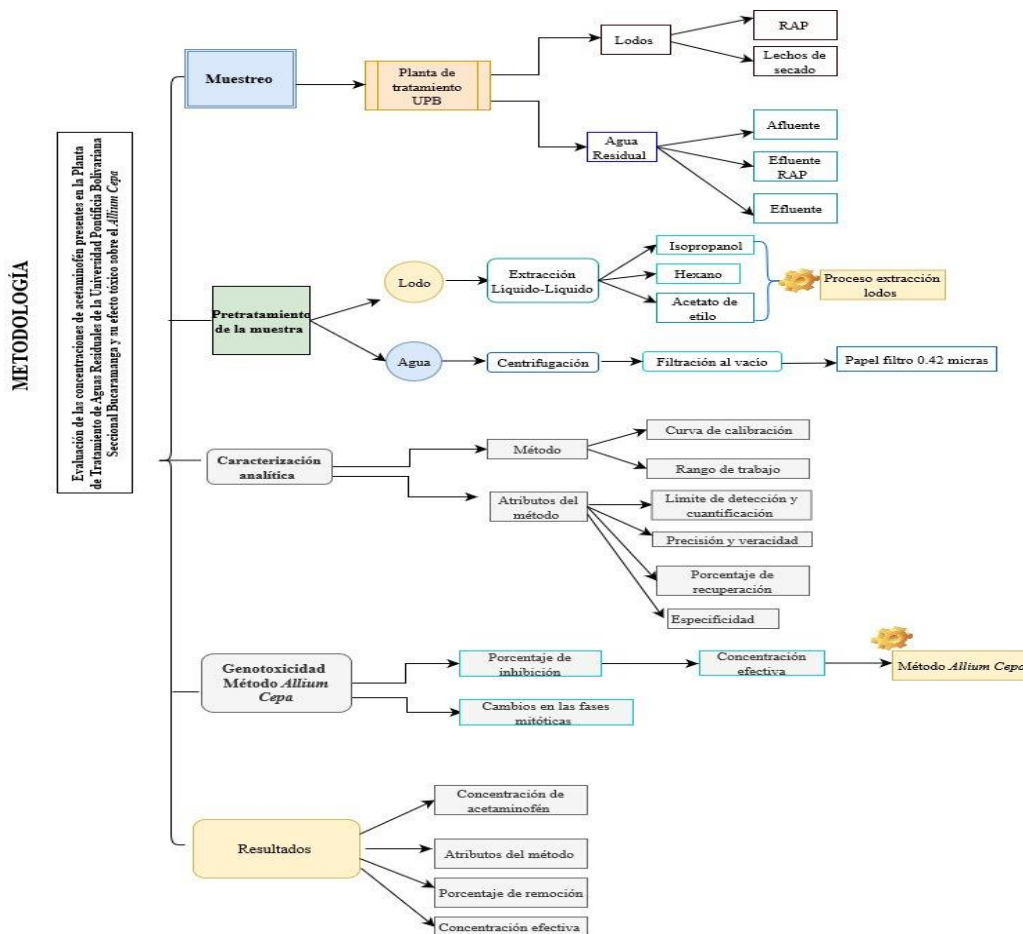


Figura 8. Diagrama de actividades del presente trabajo de grado.

Como se puede observar, el trabajo de grado tuvo como alcance el muestreo, pretratamiento de las muestras de aguas residuales y lodos procedentes de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la UPB. Para su caracterización se estableció las condiciones y atributos de la técnica química HPLC. Las pruebas ecotoxicidad se realizaron bajo el método *Allium Cepa*

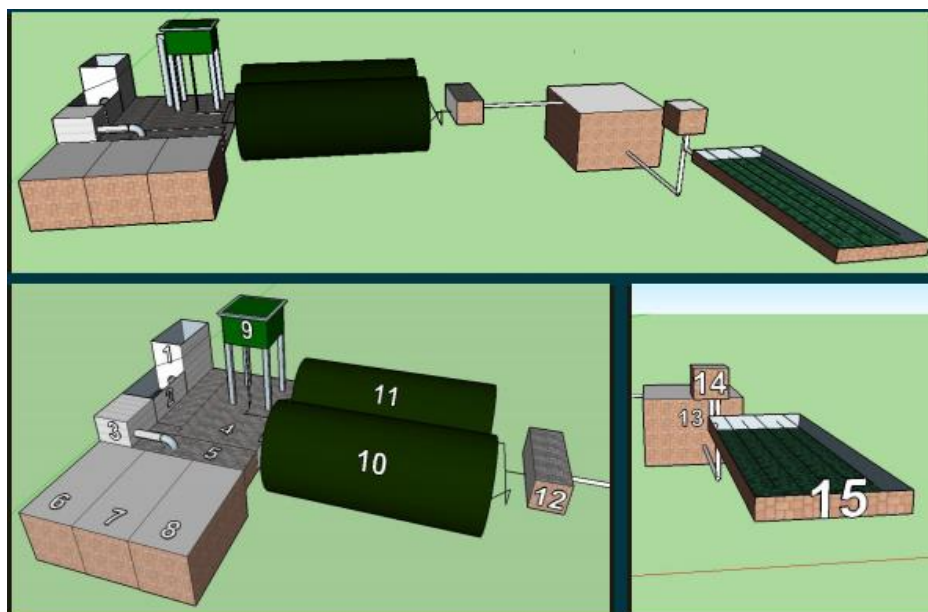
determinando la concentración efectiva del acetaminofén. A continuación, se detalla la metodología empleada.

3.1 Muestreo

Para estimar la población que consume acetaminofén en la Universidad Pontificia Bolivariana, que finalmente aporta al afluente de la Planta de Aguas Residuales, se realizó un estudio preliminar que arrojó los siguientes resultados: Para una población de aproximadamente 5344 estudiantes de pregrado, 797 docentes y administrativos, con horarios comprendidos entre las 6:00 am y 8:00 pm en el funcionamiento ordinario de sus actividades académicas, el consumo de acetaminofén en el último mes es de 55% en alumnos, el 42% en docentes y 57% de administrativos. Con relación al género, los hombres manifestaron mayor consumo con un 60% frente al 50% de las mujeres. El mayor consumo por edad está entre los 26 a los 30 años con un 63%, seguido de 60% en la franja de edad de 31 a 35 años. El 63% de los individuos que manifestaron el consumo de acetaminofén, utilizaron los baños en promedio 5 veces por día (Ceron, Alexandra; Quintero, Claudia Sofía; León, 2017) .

Lo anterior indica que existe una alta probabilidad de encontrar acetaminofén en las aguas residuales de la Planta de Aguas Residuales de la UPB. Para realzar el seguimiento en las distintas etapas del sistema de tratamiento se realizó el muestreo en 3 puntos de la PTAR-UPB (ver figura 9): afluente (punto 1), salida de los reactores anaerobios de flujo a pistón (Punto 10) y efluente final (Punto 15). Las jornadas de aforo y muestreo se realizaron de 9:00 am a 4:00 pm, teniendo en cuenta el mayor flujo de población dentro de la Universidad, obteniéndose una muestra compuesta en cada una de las estaciones monitoreadas. Las muestras fueron envasadas en recipientes ámbar, almacenadas y refrigeradas a una temperatura de 4 °

C aproximadamente. Además, se tomaron muestras sólidas en dos puntos de muestreo: Reactor Flujo a Pistón y Lecho de secado.



(1-Rejillas), (2 - Cámara de quietamiento), (3 - Trampa de grasas), (4- Cámara de bombas), (5- Tanque 1), (6-Tanque 2),(7-Tanque 3), (8-Tanque 4), (9- Cámara separación de caudales), (10-Rap 1), (11-Rap 2), (12-Camara de Inspección), (13- Pozo de succión), (14- Tanque elevado), (15-Canales)

Figura 9. Esquema de la planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Universidad Pontificia Bolivariana.

Fuente: (Rojas Mantilla Astrid Dayana, Torres Daniela. 2016)

En el caso de los lodos, las muestras se tomaron en la purga del reactor de flujo a pistón y canales del sistema de tratamiento. Su recolección se realizó utilizando botellas plásticas, los lodos posteriormente se sometieron a secado por vacío. Una vez maceradas se colocaron en bolsas de plásticas con sello hermético y su almacenamiento fue máximo de un mes a una temperatura de 4 °C. (Sanderson, Brain, Johnson, Wilson, & Solomon, 2004).

Con el fin de determinar la degradación y el grado de sorción del acetaminofén en lodos, se realizaron balances de masa cuantificando los procesos de remoción durante el tratamiento del agua residual. El cálculo del balance de masa se realizó de acuerdo con la ecuación 1 .

$$m_{afl} = m_{ef} + m_{deg} + m_{sor} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

$$m_{afl} \text{ (g/d)} = \text{caudal promedio (m}^3\text{/d)} \times \text{concentración media del afluente (g/m}^3\text{)}$$

$$m_{ef} \text{ (g/d)} = \text{caudal promedio (m}^3\text{/d)} \times \text{concentración media del efluente (g/m}^3\text{)}$$

$$m_{sor} \text{ (g/d)} = \text{tasa de producción promedio de biosólidos (kg/d)} \times \text{concentración media de los biosólidos (mg/kg)} \times 10^{-3}$$

m_{deg} (g/d) = Se calcula por diferencia. Se refiere a la masa de contaminante que fue degradada en los procesos de tratamiento.

El porcentaje de remoción de contaminantes farmacéuticos por degradación y sorción fue calculado con las siguientes ecuaciones:

$$\%R_{deg} = (m_{deg}/m_{inf}) \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

$$\%R_{sor} = (m_{sor}/m_{inf}) \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

3.2 Pretratamiento de lodos y muestras líquidas

Debido a la composición compleja de las muestras de lodo y aguas residuales involucradas en el proyecto, fue necesario realizar extracción líquido-líquido del analito, utilizando una mezcla de hexano-isopropanol-acetato de etilo.

Para el caso de los lodos, inicialmente se realizó secado en vacío, ya que exponer la muestra directamente a la radiación solar o calórica causan la degradación del acetaminofén. Una vez

retirada la humedad se maceró y tamizó (tamíz 200), para finalmente realizar el proceso de extracción.

3.2.1 Procedimiento para el pretratamiento de lodos y extracción de muestras líquidas y lodos. Con el fin de obtener una mezcla homogénea a partir de los lodos, se recurrió al secado utilizando tres procesos: Sistema de vacío en cabina extractora, secado en estufa a 50°C y secado al sol. Cabe resaltar que al lodo original se adicionó 1 g de acetaminofén, con el fin de evidenciar el porcentaje de recuperación en la extracción. El esquema realizado para el pretratamiento de lodos, se describe en la Figura 10.

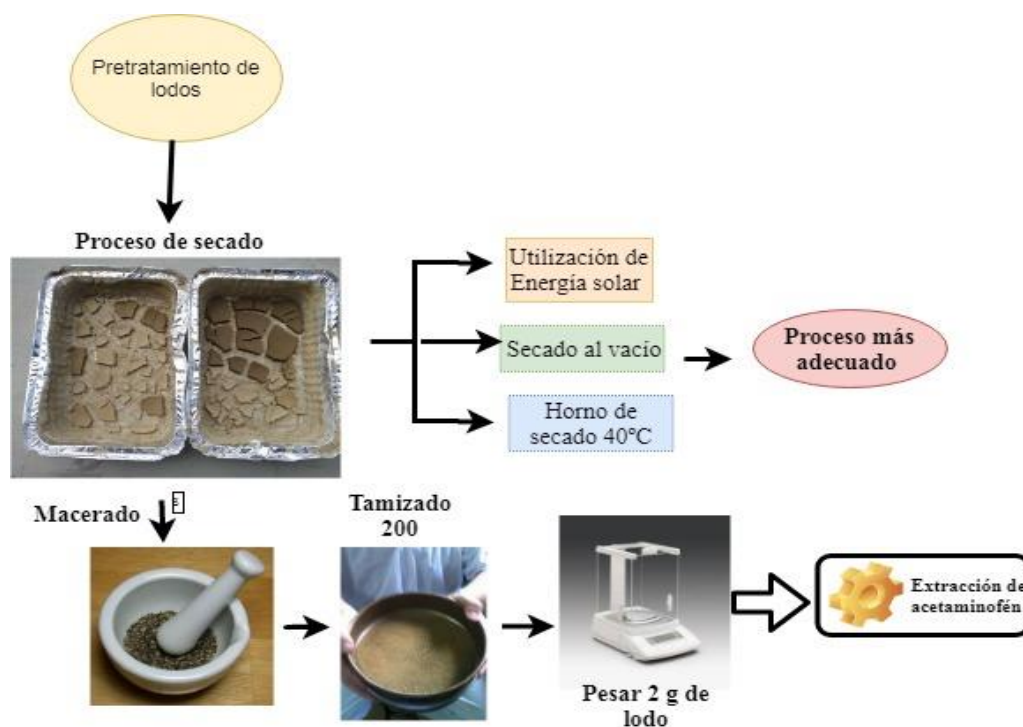


Figura 10. Esquema para el pretratamiento de los lodos. Fuente: El autor.

Posteriormente, se realizó el pretratamiento de las muestras líquidas y lodos. Sin embargo, para los lodos la extracción con solvente, se realizó en el material tamizado. Las diferentes etapas para la extracción en lodos y muestras líquidas, se presentan en la figura 11.

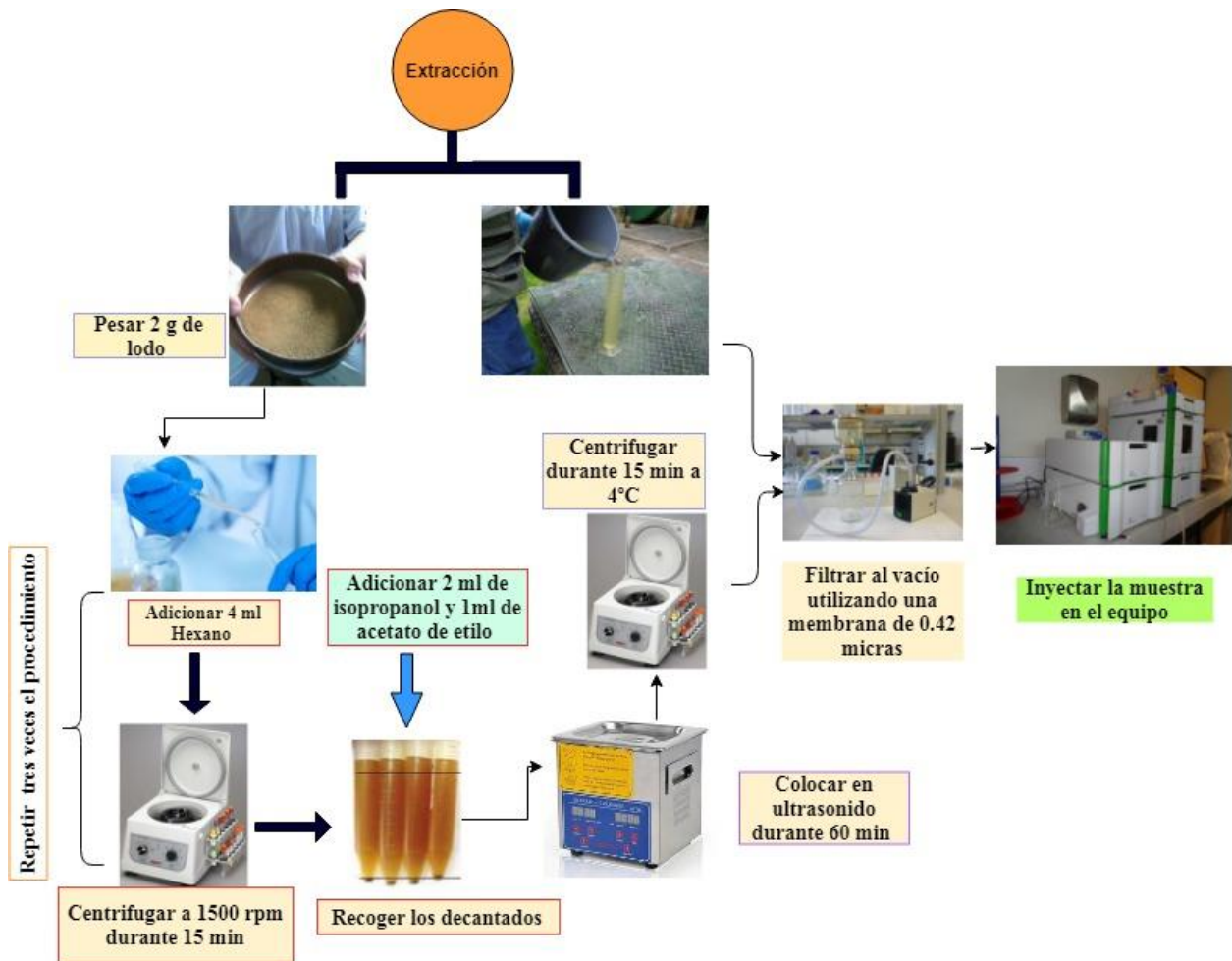


Figura 11. Extracción de las muestras líquidas y lodos. Fuente: El autor.

Para el caso de las matrices líquidas, se analizaron duplicados para muestras procedentes de la planta de tratamiento. Para los lodos, se realizaron duplicados por cada proceso de secado, con el fin de evaluar la homogeneidad de la mezcla sólida y la precisión del método.

3.3 Estandarización de la técnica de cromatografía líquida de alta resolución HPLC para la determinación de Acetaminofén.

3.3.1 Reactivos. Los productos químicos utilizados fueron de grado analítico y tipo HPLC: Hexano (Merck, Darmstadt, Alemania), , alcohol isopropílico ((Merck, Darmstadt, Alemania), acetato de etilo (Merck, Darmstadt, Alemania), patrón acetaminofén (Panreac Química, S.A., Barcelona, Spain), patrón cafeína(Sigma Aldrich, St. Louis, EE.UU.) , patrón amoxicilina (Sigma Aldrich, St. Louis, EE.UU). El metanol (Panreac Química, S.A., Barcelona, Spain), ácido acético, al 3% (Merck, Darmstadt, Alemania) y agua ultra pura tipo HPLC, se usaron en la preparación de la fase móvil. Esta solución se filtró a través de una membrana Millipore de 0,45 μm (São Paulo, Brasil) y se desgasificó mediante sonicación durante 10 minutos antes de su uso. Las soluciones stock se prepararon en agua ultrapura, se utilizó ultrasonido para asegurar la homogeneidad de la disolución.

3.3.2 Condiciones de operación. Para llevar a cabo la implementación de la técnica y cada método, se tuvo en cuenta la metodología empleada por la norma Pharmacopea (Beale, 2017). Las condiciones de operación empleadas para el análisis del acetaminofén se presentan a continuación:

Para el desarrollo del proyecto se empleó un Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución marca Flexar (Perkin Elmer) equipado con detector UV, con un sistema de bombeo, inyector automático 507e y un detector UV a una temperatura de 35°C (Ver figura 12).

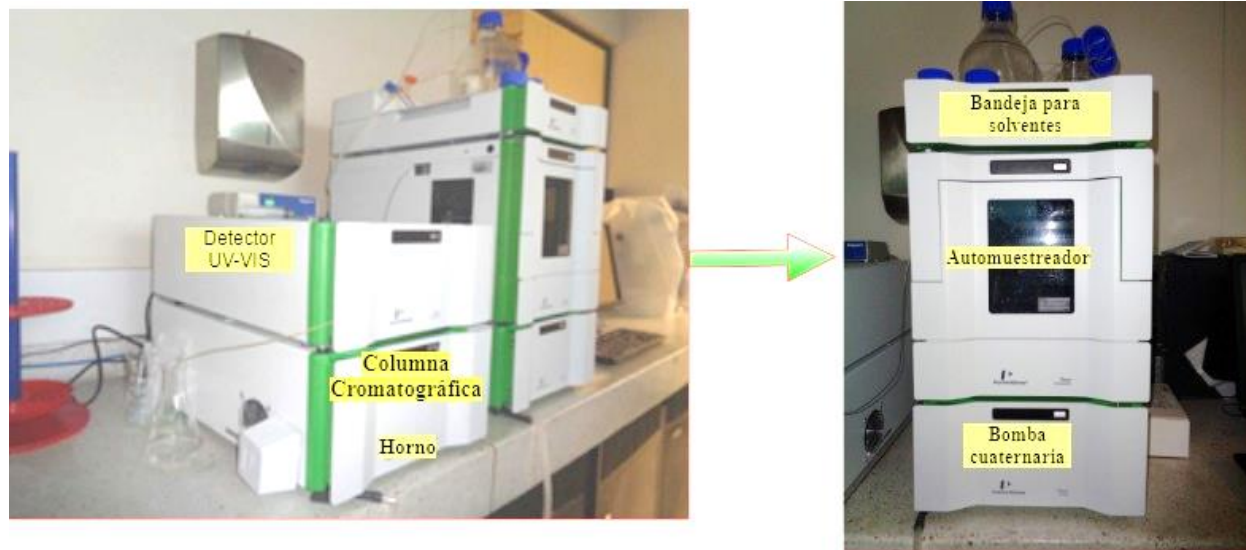


Figura 12. Equipo Flexar ubicado en el Laboratorio de Estudios Ambientales LEA, de la Universidad Pontificia Bolivariana. Fuente: La autora.

Las condiciones del equipo se establecieron de acuerdo con ensayos preliminares que aparecen en el apéndice 1. Estas pruebas fueron la base para establecer las condiciones del ensayo descritas en la tabla 1. La cuantificación de acetaminofén se realizó utilizando HPLC, utilizando como fase móvil Agua: Metanol en proporción 50:50, aplicando el modelo isocrático, con un flujo de 1ml/min y un volumen de inyección de 20 μ L. Los rangos de trabajo se definieron acorde con la linealidad obtenida a partir de concentraciones de 0.01 hasta 10 ppm.

Tabla 1. Condiciones establecidas para la realización del ensayo.

Ítem	Descripción
Equipo	Flexar con detector UV-VIS y auto muestreador
Fase estacionaria	Columna Brownlee Analytical C18 con dimensiones 150 x 4.6 mm y tamaño de partícula de 5 µm con tamaño de poro: 110Å, con relleno de Silano hexadentado.
Fase móvil con porcentaje de mezcla.	*Agua Ultrapura:Metanol en proporción 50:50.
Solventes de extracción	Hexano, alcohol isopropílico
Temperatura Horno	35°C
Longitud de onda	254 nm
Presión (modo isocrático)	1960 Psi utilizando un sistema de bomba cuaternaria.
Volumen de inyección	20 µL
Software	Chromera V- 2012.
Tiempo de corrida de muestra	7 minutos
Tiempo de retención	2.6± 0,2 min para patrones puros 3,1+/- 0,2 min en muestras ambientales
Membrana de filtración	LiChrosorb 0,42 micras

*Las fases móviles fueron seleccionadas según lo establecido en la norma Pharmacopea, teniendo en cuenta la absortividad molar.(Díaz, Sacristán, & Borja, 2011; E.Clesceri, 2015; Snyder, 1975).

Dentro de los atributos obtenidos se determinó el límite de detección, la repetibilidad en las curvas de calibración, especificidad, precisión de la medición y el porcentaje de recuperación en muestra adicionada. Igualmente, cada análisis se acompañó por un blanco de reactivos. Tanto las muestras, como los blancos, fueron filtradas utilizando cartucho HPLC LiChrosorb 0,42 micras. A continuación, se realiza la descripción de cada uno de los atributos contemplados en la metodología.

- **Especificidad** Se prepararon patrones de acetaminofén con rangos de concentración entre 0.01 ppm hasta 10 ppm, utilizando agua ultra pura micro filtrada para su dilución. Las muestras líquidas se conservaron en recipientes ámbar a una temperatura de 4°C. Para dar inicio al análisis, las muestras se filtraron al vacío, utilizando papel *whatman* 0.47µm. En el caso de muestras sólidas o lodos de la PTAR, se secaron al vacío y se almacenaron en bolsas marca Ziploc. Antes de realizar su análisis se extrajeron con una mezcla hexano-acetato de sodio-acetato de etilo, con el fin de concentrar el analito para su posterior inyección en el HPLC Flexar. Para corroborar que existe separación de los dos componentes en las muestras líquidas y sólidas, se preparó una mezcla de acetaminofén, amoxicilina en relación 1:1.

- **Precisión intermedia y veracidad.** Se realizaron repetitividads en muestras y patrones. Se calculó la desviación estándar (δ), el promedio (x) y la precisión en términos de coeficiente de variación (CV) para cada analito tomando datos de diferentes concentraciones. La precisión expresada como coeficiente de variación aceptado fue de $<10\%$, se asumió este valor debido a que es un requisito establecido en la validación de métodos analíticos. La veracidad está incluida dentro de la precisión, linealidad y especificidad del analito. Su determinación se realiza a través de las pruebas estadísticas ANOVA y T- Student
 - **Rango de Linealidad.** La linealidad del método se evaluó a partir de las curvas de calibración. En el caso de acetaminofén, requirieron dos curvas rango bajo y alto, entre 0.01 ppm hasta 0.1 ppm y 0.1ppm hasta 10 ppm, con el fin de evaluar el rango de concentración requerido para las concentraciones reportadas en la bibliografía. (Daughton, 2016; Papageorgiou, Kosma, & Lambropoulou, 2016). Para el análisis de la linealidad del sistema para patrones adicionados se utilizaron 2 concentraciones entre 0.02 ppm y 0.183 ppm, con un estándar interno de 100 ppm de acetaminofén en los dos casos (Trejos & Myriam, 2008).
 - **Límites de detección y cuantificación.** Se determinó de acuerdo con la más baja concentración a la cual el equipo emite una respuesta. En la siguiente ecuación, se observan las variables asociadas con el cálculo del límite de detección (Brouwer, Kofman, & Brinkman, 1995).

$$S_0 + \frac{S_y}{x} \sqrt{\frac{1}{m}} * \frac{1}{N} * \frac{x^2}{\sum_{i=1}^N (x_i - x)^2} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde: S_y/x : es la desviación estándar de los residuales de la curva de calibración.

b_1 : es la pendiente de la curva.

N número de patrones involucrados en la calibración

x_i es cada una de las concentraciones de los patrones

3.4 Determinación de la concentración efectiva utilizando el método *Allium cepa* e identificación de las divisiones mitóticas.

El uso del método *Allium cepa*, es reconocido para la evaluación de los compuestos solubles e insolubles en el agua, así como los efectos que se generan en mezclas complejas. La metodología ha sufrido modificaciones relacionadas con la evaluación de las aberraciones cromosómicas, que permiten detectar agentes genotóxicos (Daniela Morais Leme, 2009).

3.4.1 Materiales y Reactivos. Los productos químicos utilizados fueron de grado analítico: Ácido Clorhídrico (Merck, Darmstadt, Alemania), ácido acético, al 3% (Merck, Darmstadt, Alemania) y agua embotellada. La cebolla utilizada procede de Ocaña (Norte de Santander), una vez se haya obtenido los ápices de la raíz, se realiza la coloración de los tejidos utilizando orceína.

- **Preparación de soluciones.** Se prepararon soluciones de acetaminofén como patrón puro y como producto comercial, en concentraciones de 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm y 200 ppm, para las soluciones de 300 ppm, 500 ppm y 800 ppm, se evaluaron preliminarmente y fueron descartadas debido a que generaron apoptosis en el *Allium Cepa*.

- **Determinación de la toxicidad del acetaminofén.** Empleando bulbos de *Allium cepa*. Se eligieron cebollas moradas con un tamaño similar para cada concentración a evaluar. Seguidamente se les quitó la primera capa y se limpió su base radicular dejando los brotes para que se puedan desarrollar durante la prueba, posteriormente, se dejaron sumergidas en agua declorada por 2 horas. Una vez transcurrido el tiempo, cada cebolla se colocó en contacto con las soluciones de acetaminofén (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm y 200 ppm), con un control negativo utilizando agua embotellada comercial, para luego dejarse en oscuridad por un periodo de tiempo de 5 días con el fin de permitir nuevo desarrollo radicular. Los experimentos se realizaron con tres repeticiones a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Las condiciones requeridas para el ensayo *Allium Cepa* se presentan en la Tabla 2

Tabla 2. *Condiciones estándares para ensayo Allium cepa.*

Concentraciones para evaluar	50 ppm, 100 ppm, 150 ppm y 200 ppm
Condición de Temperatura	Ambiente
Tiempo de análisis	5 días
Condición de almacenamiento	Oscuridad

Una vez culminado el tiempo de exposición de las cebollas, se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento de las raíces, mediante la comparación de la longitud promedio de las raíces expuestas a cada concentración con las raíces que germinaron en los controles, luego se calculó la CE_{50} .

Para establecer la genotoxicidad, se cortó el ápice de 2-3 mm de la punta de la raíz, correspondientes a raíces que midieran menos de 2,5 cm. Seguido, se sumergió los ápices en HCl 1N por 20 min. Una vez transcurrido el tiempo, se lavó cuidadosamente tres veces con agua destilada con el fin de eliminar el ácido y se sumergió en colorante de aceto-orceína durante 20 min para su coloración. Se colocaron las puntas de las raíces coloreadas sobre láminas porta objetos, y se cubrió con una laminilla, de tal manera que se ejerció presión fuerte sobre ellas con el dedo pulgar (“Squash”) y la raíz expusiera una capa fina del tejido vegetal. Las observaciones de las fases mitóticas se llevaron a cabo en un microscopio marca OLYMPUS CX23 con un objetivo de 40X, para su lectura. se tomó como referencia la Figura 13.

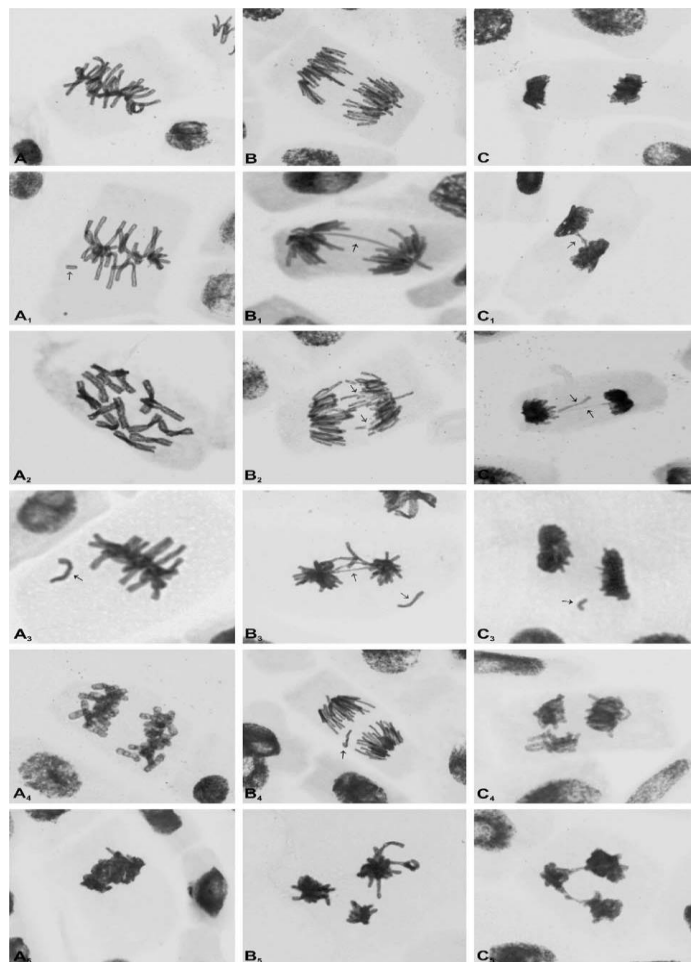


Figura 13 . Aberraciones cromosómicas observadas en células meristemáticas de. *Allium cepa* expuestas a los agentes químicos (A)Metafase normal; (A1) Metafase con rompimiento

cromosómico; (A2) C-metafase; (A3) Metafase con pérdida de cromosoma; (A4) Célula binucleada en metafase; (A5) Metafase con cromosoma adherido; (B) Anafase normal; (B1) Anafase con puente cromosómico; (B2) Anafase con ruptura de puente; (B3) Anafase con puente y pérdida cromosómica; (B4) Anafase con pérdida de cromosoma; (B5) Anafase multipolar ; (C) Telofase normal; (C1) Telofase con Puente cromosómico ; (C2) Telofase con Puente y pérdida de cromosoma; (C3) Telofase con ruptura cromosómica; (C4) Telofase multipolar; (C5) Telofase multipolar con puente cromosómico. Fuente:(Daniela Morais Leme, 2009)

El resumen del método *Allium Cepa* que se presenta en la figura 14, se incluye las etapas requeridas para la observación de los cambios en las fases mitóticas.

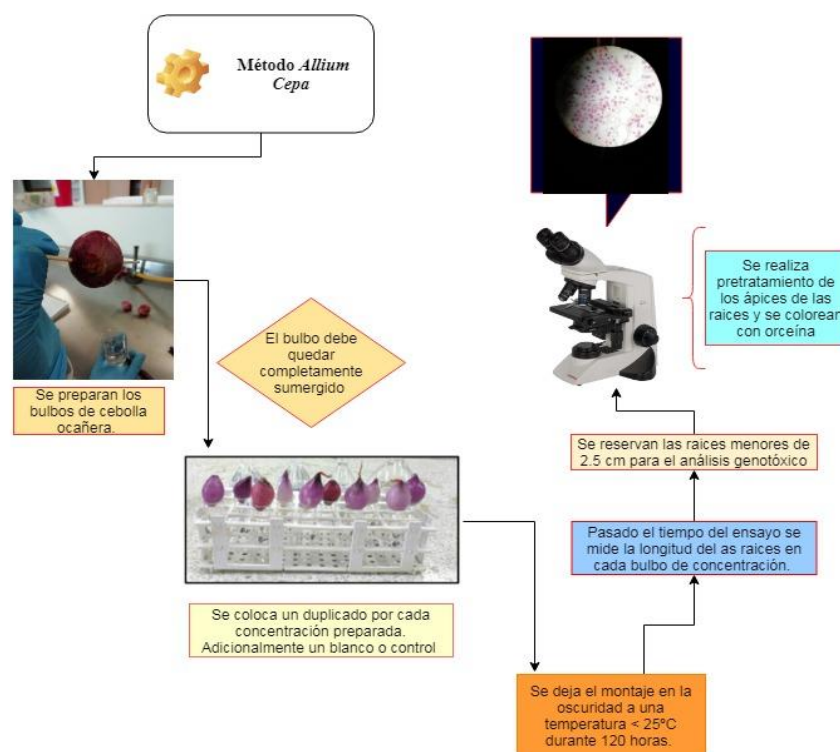


Figura 8. Esquema para el montaje del *Allium Cepa*. Fuentes: (Morais Leme Daniela, 2009) ;(Matamoros et al., 2012)

Las condiciones estándares para llevar a cabo el ensayo se presentan en la tabla 7, una de las condiciones de mayor criticidad son la temperatura y la luminosidad.

Tabla 3. *Condiciones estándares para ensayo Allium cepa.*

Concentraciones para evaluar	1, 10, 100 y 1000 ppm
Condición de Temperatura	Ambiente
Tiempo de análisis	5 días
Condición de almacenamiento	Oscuridad

4 Resultados y análisis

4.1 Caracterización Analítica del Acetaminofén.

4.1.1 Validación del método por cromatografía líquida de alta resolución. Para evaluar el desempeño del método cromatográfico utilizado en la cuantificación del acetaminofén, se calculó la precisión intermedia por cada lote de muestras analizadas (seis en total). Los resultados se muestran en la tabla 3.

Tabla 4. Resultado de repetibilidad del método.

Concentración Muestra (mg/L ACE)	Repetibilidad de la muestra (mg/L ACE)	XProm (mg/L ACE)	S ACE (mg/L ACE)	CV (%)
0,467	0,465	0,466	0,0014	0,3035
0,32	0,335	0,3275	0,01061	3,239
0,591	0,601	0,596	0,0071	1,186
0,013	0,015	0,014	0,0014	10,101
0,334	0,34	0,337	0,0042	1,259
0,492	0,51	0,501	0,01273	2,540

S: Desviación estándar. CV: Coeficiente de variación. Xprom: Concentración promedio.

Fuente: El autor.

De acuerdo con los resultados el %R&R es menor o igual al 10%, lo que indica que la medición es aceptable en las muestras analizadas.

Adicionalmente, se debe establecer el rango de linealidad para la concentración del acetaminofén, para tal fin se realizó el análisis de dos curvas de calibración en dos intervalos: bajo (0.02-0.1 mg/L) y medio(0.1- 10 ppm), los factores de correlación obtenidos estuvieron cercanos a 1, como se evidencia en las curvas que se se presentan en la figura 15.

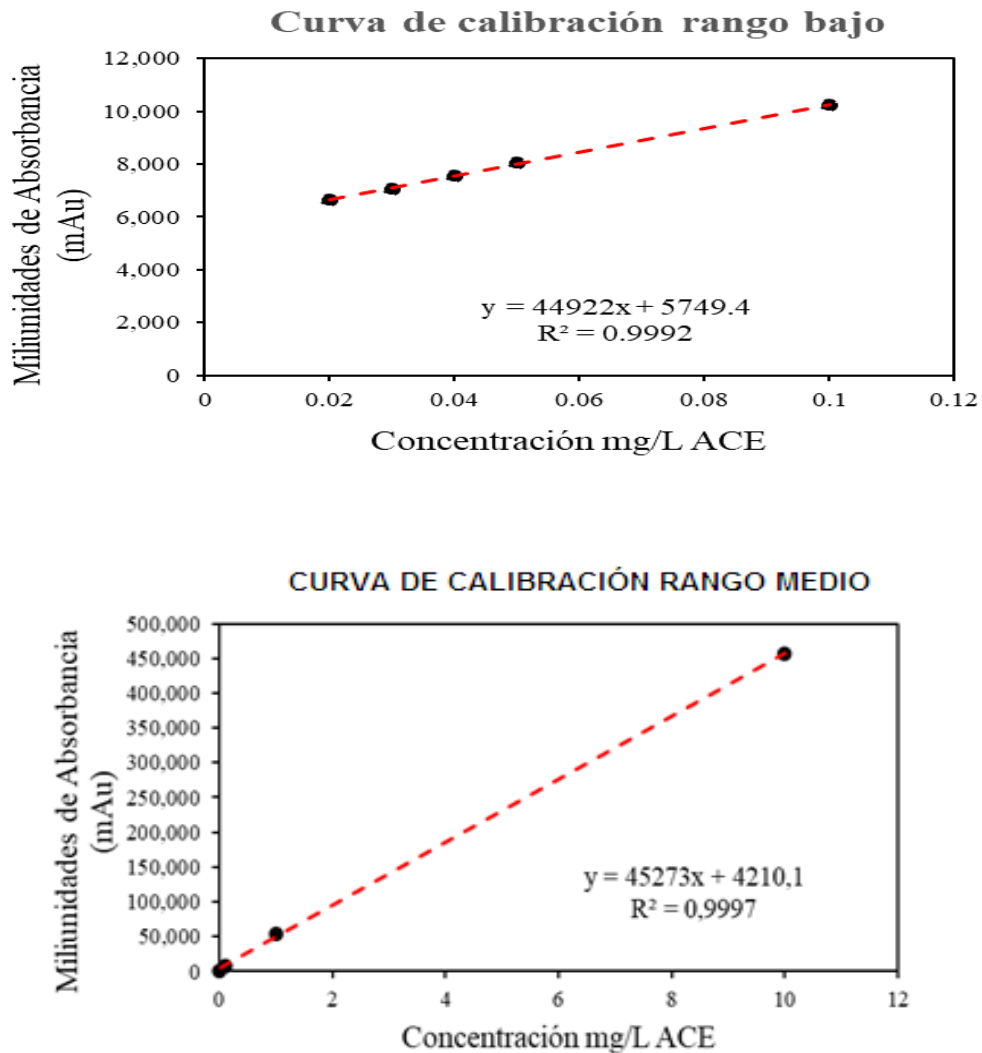


Figura 95. Curvas de calibración en el intervalo bajo y rango alto de calibración. Fuente: El autor.

En donde Y representa el área del pico en mili unidades de absorbancia (mAU) y X está asociada con la concentración. Las curvas obtenidas tienen factores de correlación de 0.9997 y 0.9992 para los rangos alto y bajo respectivamente, asegurando el cumplimiento del criterio de linealidad.

Debido a que la curva de calibración en el rango , es la que más se ajusta a las concentraciones que se encontraron con frecuencia en las muestras de aguas residuales y lodos, se prepararon adicionalmente dos curvas adicionales utilizando muestras de diferente composición, con el fin de evaluar si existen datos atípicos asociados con el efecto matriz y la retención del analito en la columna, los resultados se relacionan en la figura 16.

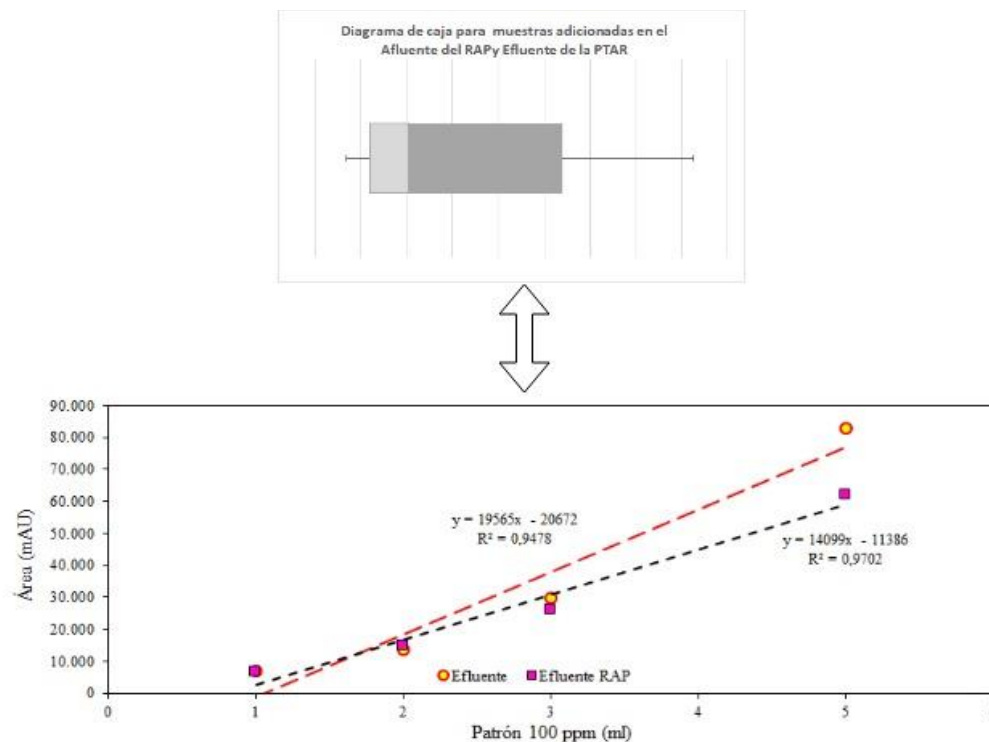


Figura 106. Dispersión de los datos obtenidos en muestras adicionadas en el efluente del RAP y efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales UPB.

Acorde con el diagrama de caja, las áreas obtenidas en las muestras efluente del RAP y efluente de la PTAR no presentan datos atípicos, lo que indica que factores como complejidad de la matriz y comportamiento de la columna cromatográfica no generan interferencias en el desarrollo del método. Con el fin de comprobar el desempeño del método, se evaluaron otros atributos que se relacionan a continuación:

- **Especificidad:** Para comprobar la validación, se preparó una mezcla de acetaminofén, amoxicilina y cafeína en relación 1:1:1 (figura 17) muestran diferentes tiempos de retención de 2,6 min, 3.075 min y 4.202 min, respectivamente. Lo anterior indica que la fase móvil y la columna, tienen las condiciones para una separación efectiva del acetaminofén y otros componentes de la mezcla.

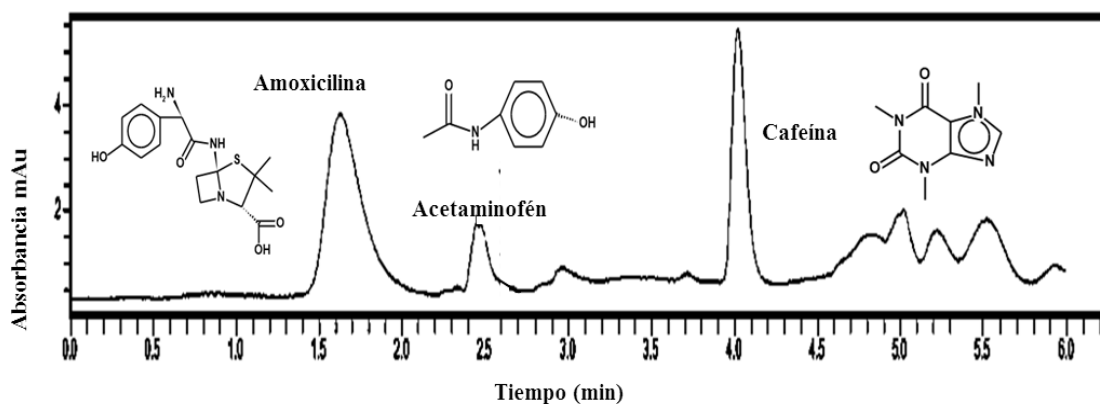


Figura 11. Cromatograma del afluente de la PTAR – UPB. Fuente: Laboratorio de Estudios Ambientales de la UPB.

- **Precisión intermedia y veracidad:** Acorde con los valores reportados en la tabla 3, la desviación y coeficiente de variación, muestran que el método es aplicable a las diferentes concentraciones detectadas en los puntos monitoreados. El resultado del coeficiente de variación

menor o igual al 10% indica que las mediciones realizadas son aceptables para la cuantificación del acetaminofén.

- **Límite de detección.** Con el fin de determinar la señal mínima que arroja el equipo, bajo las condiciones de validación se realizaron pruebas con una curva baja desde 0.02 hasta 0.1 ppm. En la figura 18 se muestra, el patrón más bajo que arrojo una medida superior al ruido de la línea base.

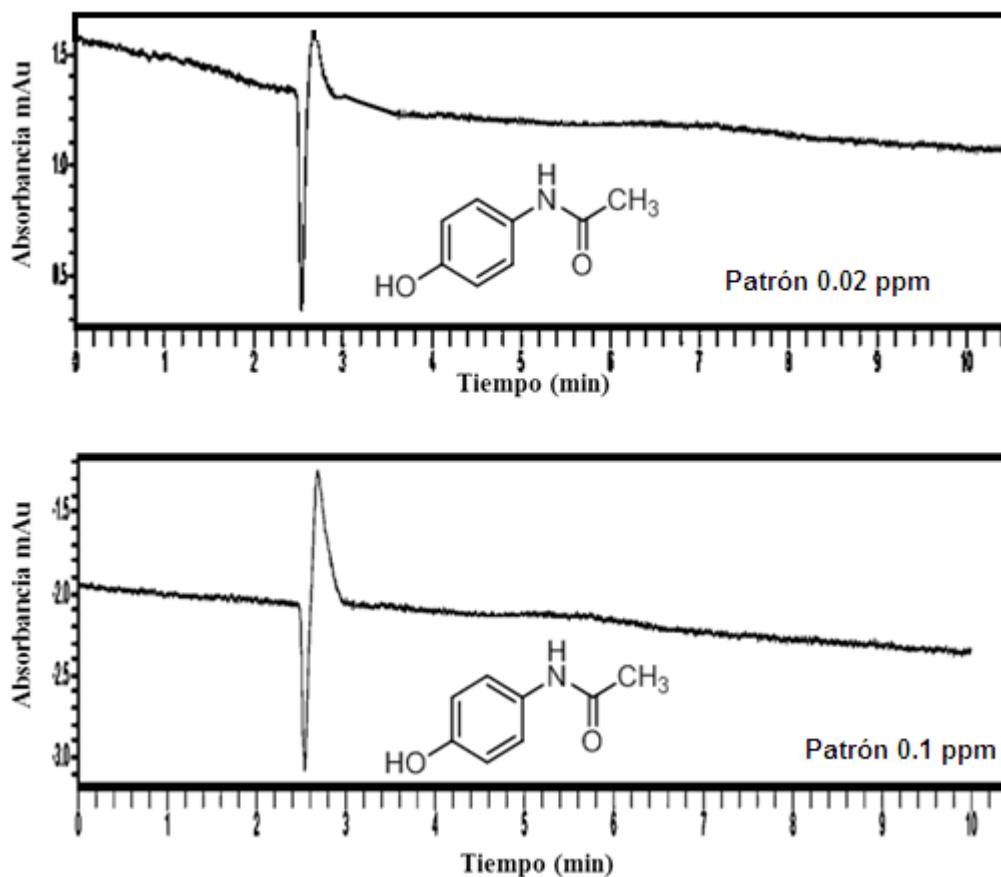


Figura 18. Determinación del límite de detección del método implementado.

Acorde con lo anterior el límite de detección es 0.01ppm Ver apéndice 3 y el límite de cuantificación es 0.02 ppm es decir 20 $\mu\text{g/L}$ de acetaminofén.

4.2 Determinación de acetaminofén en muestras líquidas y lodos.

Para el caso de la matriz líquida, se realizaron adiciones de 1ml, 2ml, 3ml, 4ml y 5 ml del patrón de 100 ppm de acetaminofén, a las muestras: efluente del sistema y efluente del RAP. Con esta prueba se evaluaba la influencia del tipo de matriz de agua residual, los resultados se presentan en la figura 19.

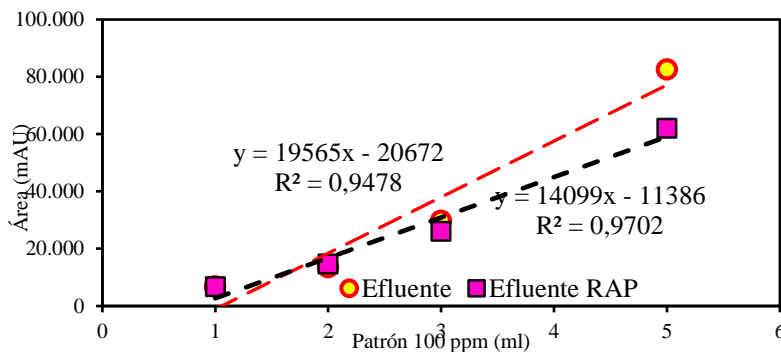


Figura 12. Comportamiento de las muestras adicionadas en las muestras del efluente del RAP y Efluente del sistema. Fuente la autora.

Los factores de correlación obtenidos, reflejan que a pesar de haber adicionado las mismas cantidades del patrón de 100 ppm, la muestra del efluente del rap y efluente del sistema, presentan regresiones lineales con factores de correlación de 0.9702 y 0.9478 respectivamente. Según la figura 19, se observa que el intervalo lineal disminuye debido a la adición de 5 ml. Con el fin de calcular el porcentaje de error generado en el punto máximo de cada una de las curvas, se elaboró la tabla 5.

Tabla 5. Porcentaje de error generado al adicionar 5 ml de patrón en el efluente y efluente del RAP.

Punto de muestreo	Volumen máximo Teórico (ml)	Valor experimental (mAU)	Valor Teórico $R^2 = 0,999$ (mAU)	Volumen experimental	% error
Efluente sistema	5	82547	55000	3,87	22,6
Efluente RAP	5	62076	45000	3,99	20,2

Fuente: La autora.

De acuerdo con los resultados obtenidos, el mayor porcentaje de error se presenta en el efluente del sistema, debido principalmente a que no existe una alta concentración de acetaminofén, lo que implica que cualquier error aleatorio o sistemático asociado con el arrastre de columna, influye en la muestra de menor concentración.

El punto de corte con el eje X, permite determinar los ml de efluente y efluente del RAP que contienen las mezclas adicionadas para cada caso. A partir de este corte se calculó el porcentaje de recuperación para las muestras líquidas de Efluente y Efluente del RAP, los resultados muestran un porcentaje de recuperación del 99.12% para el efluente de la PTAR y 100.98% para el efluente del RAP, como es evidencia en la tabla 6.

Tabla 6.. Porcentaje de recuperación en muestras líquidas procedentes del Efluente y Efluente del RAP pertenecientes a la planta de tratamiento de aguas residuales de la UPB. Fuente: La autora.

Muestra	Vstandard adicionado (Y=0)	Conc del patrón adicionado (ppm)	Vol mad (ml)	Conc muestra Efluente (ppm)	Concentración de la adición (Ca) (ppm)	Conc teor de la adición (Cateo)	% recup
Efluente	0,8075	100	98	0,02	0,824	1,97	99,12
Efluente RAP	1,056	100	98	0,02	1,07	1,98	100,98

RAP

Nota: Los valores obtenidos del volumen estándar adicionado se calcular a partir la figura 18.

Ecuaciones utilizadas:

$$Ca = Vstad * \frac{Cstand}{Vol\ mad} \text{ Ecuación 5}$$

Donde: Ca: Concentración de la adición; Vstad: Volumen standard adicionado.

Cstand: Concentración del standard; Volmad: Volumen de muestra en las adiciones

$$Cateo = \frac{(Cpatrón*Volpatrón)}{Vtotal} + \frac{(Cmuestra*Volmuestra)}{Vtotal} \text{ Ecuación 6}$$

Donde : Cateo: Concentración de la adición teórica. Cpatrón: concentración patrón. Volpatrón: Volumen patrón. Cmuestra: Concentración muestra..Volmuestra: Volumen muestra.Vtotal: Volumen total

Para evaluar el comportamiento lineal de las muestras adicionadas, se aplicaron los criterios estadísticos t –student para el intercepto y la pendiente, los resultados que se presentan en la tabla 7, indican que los datos tienen un comportamiento normal, con coeficientes de determinación 0.996 y 0.992. Igualmente, el análisis de varianza de la regresión mediante el test F, indica que la desviación a la linealidad no es significativa.

Tabla 7. Pruebas t- student y F Fischer para intercepto y pendientes de las muestras adicionadas.

Media	33132,25	Media	27387,5
Error típico	17161,2467	Error típico	12223,04002
Mediana	21609,5	Mediana	20355
Moda	#N/A	Moda	#N/A
Desviación estándar	34322,4934	Desviación estándar	24446,08005
Varianza de la muestra	1178033553	Varianza de la muestra	597610829,7
Curtosis	2,33972316	Curtosis	1,948870221
Coefficiente de asimetría	1,5618285	Coefficiente de asimetría	1,40985504
Rango	75784	Rango	55312
Mínimo	6763	Mínimo	6764
Máximo	82547	Máximo	62076
Suma	132529	Suma	109550
Cuenta	4	Cuenta	4
Mayor (1)	82547	Mayor (1)	62076
Nivel de confianza (95,0%)	54614,7461	Nivel de confianza (95,0%)	38899,16856

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,996078417
Coefficiente de determinación R²	0,992172212
R² ajustado	-2
Error típico	19615,78845
Observaciones	1

Análisis de Varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	4	1,4605E+11	36512804614	571,549635	4,67
Residuos	2	511070988	255535494,2		
Total	6	1,4656E+11			

Los resultados de la concentración de acetaminofén en muestras líquidas y sólidas se presentan en la tabla 8. De acuerdo con los resultados obtenidos en la PTAR – UPB, las concentraciones de acetaminofén en el afluente, efluente del RAP y efluente final variaron entre 304ng/L y 616 ng/L, 81 ng/L y 285 ng/L, 76 ng/L y 84 ng/L, respectivamente, evidenciándose una reducción de este compuesto en cada una de las etapas de la PTAR-UPB.

Tabla 8. Resultados del afluente, efluente rap, efluente de la planta y lodos procedentes del Sistema de Tratamiento.

Punto de muestreo	Acetaminofen* (ng/L)
Muestras Líquidas	
Afluente	460 ± 156
Efluente RAP	183 ± 102
Efluente final	80 ± 4
Muestras Sólidas (mg/kg)	
Lodos RAP	5.2
Lechos de secado	3.4

Fuente la autora.

Según las concentraciones obtenidas, sus valores en el afluente fueron comparados con los reportados por otros autores de estudios en aguas residuales. En Corea, las concentraciones de acetaminofén en el afluente de una planta de aguas residuales eran cercanas a 10 $\mu\text{g/L}$, con una disminución en la concentración del efluente cercana al 99% Radjenovic et Al (2017), Behera et Al (2011), encontraron concentraciones de acetaminofén en los afluentes a procesos de lodos activados y lodos de 7,01 y 11,04 $\mu\text{g/L}$, respectivamente, reportan concentraciones de acetaminofén en el afluente, de 960 ng/L y efluente por debajo del límite de detección.

En el caso de los lodos, la sorción de microcontaminantes ocurre principalmente por absorción, relacionada con las interacciones hidrofóbicas que ocurren entre los grupos alifáticos y aromáticos presentes en la estructura del acetaminofén y la membrana celular lipofílica de los microorganismos, así como con la fracción grasa de los lodos. La adsorción involucra interacciones electrostáticas de los grupos cargados positivamente con las superficies, cargadas negativamente, de los microorganismos y del lodo. La planta de tratamiento de la UPB realiza el proceso de compostaje con los lodos de los canales, ya que los lodos del RAP se encuentran dentro del reactor, lo que impide su utilización o tratamiento.

Los resultados de la caracterización por cromatografía HPLC del Afluente, Efluente del reactor de flujo a pistón (RAP) y Efluente, se presentan en la figura 20.

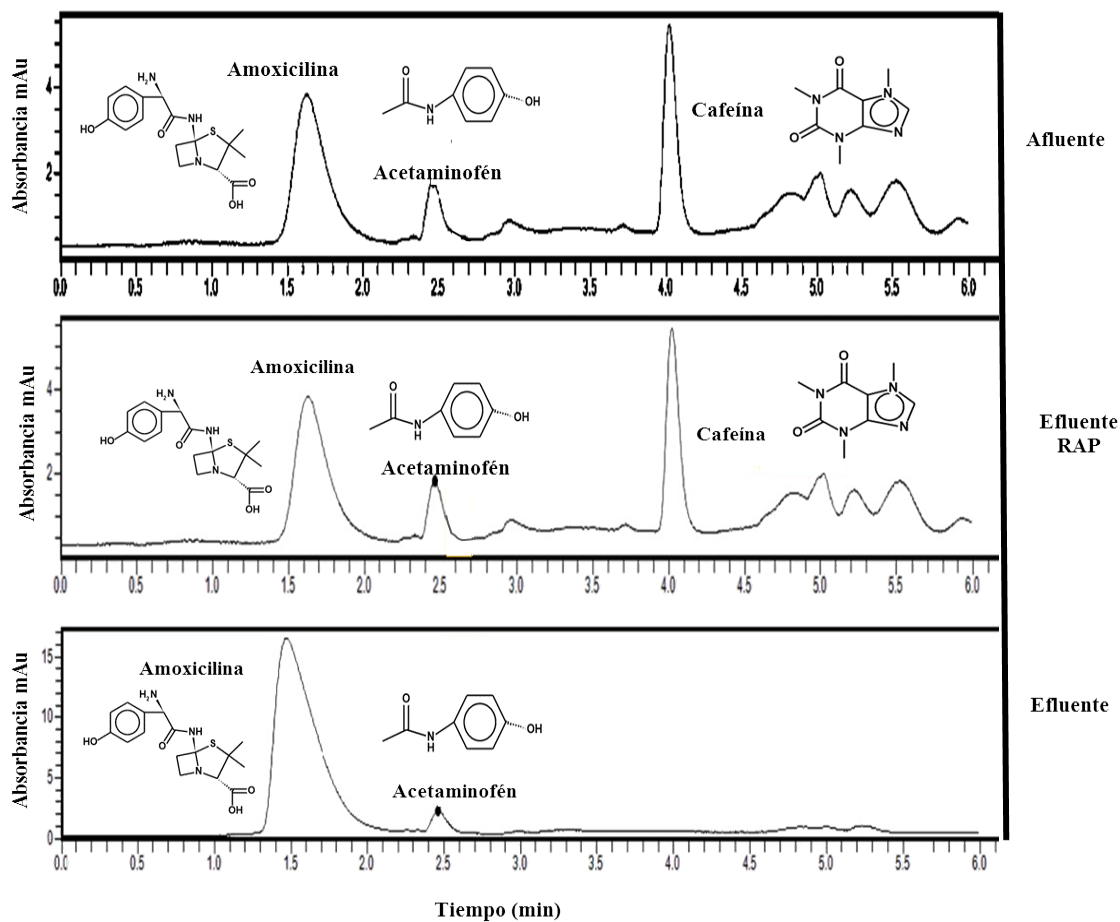


Figura 20. Cromatogramas en orden descendente para el Afluente, Efluente del RAP y Efluente de la PTAR – UPB.

Los resultados obtenidos en los lodos el Reactor de Flujo a Pistón (RAP) poseen mayor concentración que en los procedentes de canales. Igualmente, se puede inferir que el acetaminofén presenta fenómenos de adsorción como se evidencia su alta presencia en el extracto, frente al acetaminofén que permanece en la fase sólida.

Con el fin de evaluar los procesos de remoción del acetaminofén y de sorción en lodos se realizaron los cálculos del balance de masa basados en el caudal registrado en la tabla 9.

Tabla 9. Resultados del muestreo realizado en los puntos anteriormente descritos.

Variable	Afluente	Efluente RAP	Efluente final
Caudal (L/s)	1,28 ± 0,52	1,29 ± 0,68	0,88 ± 0,62
Temp. ,C)	24,6 ± 0,3	24,4 ± 0,9	27,6 ± 1,3
pH (un)	8,4 ± 0,7	7,1 ± 1,0	7,8 ± 0,7
Cond. (µs/cm)	956 ± 297	942 ± 477	1184 ± 146
DBO (mg/L)	233,8 ± 143,1	112,0 ± 77,4	88,2 ± 51,9
DQO (mg/L)	410,8 ± 108,4	280,3 ± 142,7	186,1 ± 82,2
NTK (mg/L)	131,2 ± 26,2	114,4 ± 42,0	72,1 ± 16,3

Fuente: La Autora.

Con el fin de determinar el destino y las remociones del acetaminofén en el tren de tratamiento de la PTAR – UPB, se realizaron los cálculos de balance de masas según las ecuaciones descritas en la metodología. La información se resume en la tabla 10. La eliminación del acetaminofén en el tratamiento de aguas residuales puede ocurrir a través de la degradación y la sorción en sólidos, ya que el proceso de volatilización se considera insignificante debido a su baja constante de Henry (k_H) de $5,0 \times 10^{-9}$ (Vancouver Island University, 2008).

Tabla 10. Porcentajes de remoción de las diferentes etapas del sistema de tratamiento.

Balance de Masa (g/d)			
Global			
Afluente	Efluente	Sorción	Degradación
0,053	0,006	0,003	0,044
Tratamiento Primario-Secundario			
0,053	0,018	0,002	0,033
Tratamiento Terciario			
0,018	0,006	0,002	0,010
Remoción (%)			
Global			
Sorción	Degradación	Efluente	
5.80	82,67	11,53	
Tratamiento Primario-Secundario			
2.96	62.75	34.29	
Balance Tratamiento Terciario			
11,27	55,10	33,63	

Fuente: La autora.

En el tratamiento primario-secundario se obtuvo un 62.75% de remoción por degradación y 2.96% por sorción, bajo condiciones anaerobias, el tratamiento terciario arrojó una remoción por degradación de 55.10% y sorción de 11.27%. En el balance de masa global, se encontró que el acetaminofén se remueve en el tren de tratamiento por degradación en porcentajes que varían entre 71% y 91%, por sorción en un 5.8% y el 11.53% restante puede permanecer en fase acuosa sin sufrir ningún tipo de transformación hasta llegar al cuerpo de agua receptor del vertimiento de la universidad. Los compuestos con coeficientes de adsorción bajas como el acetaminofén tienden a

permanecer en la fase acuosa, favoreciendo así su movilidad a través de la PTAR y el medio receptor (Carballa et al., 2004). Estudios previos han reportado eficiencias de remoción similares que oscilan entre 76 – 99% (Pal, Gin, Lin, & Reinhard, 2010).

De acuerdo con los resultados, la degradación del acetaminofén es el principal mecanismo de eliminación en la PTAR-UPB, coincidiendo con lo reportado por otros autores. (Xu, Radjenovic, Yuan, & Ni, 2017) , investigaron el potencial de degradación y adsorción del paracetamol en ambientes acuosos a escala de laboratorio, encontrando a la biodegradación como el principal mecanismo de la degradación de este fármaco Yan et Al (2010) investigaron la ocurrencia y eliminación de 21 compuestos farmacéuticos en PTARs municipales, incluyendo el acetaminofén, el cual no se acumuló en lodos y su eficiencia de remoción se atribuyó principalmente a la degradación microbiana.

A pesar de las altas eficiencias de remoción obtenidas durante el tratamiento de aguas residuales en la universidad, el acetaminofén no se logra eliminar por completo durante el tratamiento. Por tanto, este compuesto es liberado al medio acuático y puede ser considerado como una fuente puntual de contaminantes farmacéuticos en el agua de la quebrada Mensulí. Según Huguet et al (2017), el paracetamol se detectó en el sistema acuático, a pesar de que se retira fácilmente de la planta de tratamiento de aguas residuales. En Europa, se detectaron concentraciones entre 59 a 220 ng/L en los efluentes de las PTARs, igualmente se reportaron valores de 12 a 770 ng/L en agua dulce, generando un impacto potencial para los organismos acuáticos.

Aunque el acetaminofén se detectó en bajas concentraciones, no se debe ignorar el impacto de su ocurrencia sobre la salud humana o ambiental. Por lo anterior, es necesario realizar más investigación sobre los compuestos farmacéuticos presentes en los vertimientos, así como en las

fuentes hídricas de la región, para cuantificar el riesgo ambiental y establecer estrategias para su eliminación.

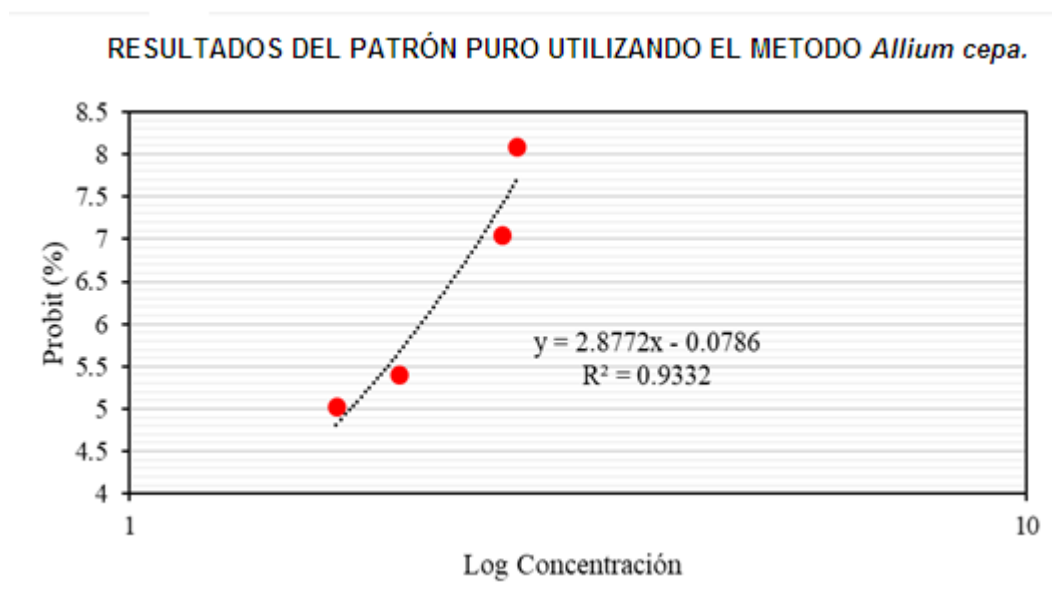
4.2.1 Tecnologías utilizadas para la remoción de acetaminofén en aguas y lodos. Debido a la dificultad en la remoción de los fármacos presentes en las aguas residuales y lodos procedentes de las plantas de tratamiento, diferentes autores han propuesto alternativas para su manejo, como la utilización de humedales, implementación de tecnologías avanzadas en procesos de oxidación (ozonización, fotólisis, foto-fenton, sonólisis, oxidación electroquímica), absorción con carbono activado, separación por membrana y uso de biorreactores de membrana. (De la Cruz et al., 2012; Gorito, Ribeiro, Almeida, & Silva, 2017; Y. Li, Zhu, Ng, & Tan, 2014a, 2014b; MacLeod & Wong, 2010). En el caso de los sistemas de tratamiento secundario de aguas residuales, se encontraron mayores eficiencias en los biorreactores de membrana y reactores de biopelícula que en los reactores de lodos activados, debido a su mayor tiempo de retención hidráulico (TRH) y en lodo (TRS). (Krzeminski et al., 2019b). Es importante resaltar que en la literatura, el acetaminofén (ACE) no está reportado como fármaco persistente en el agua, lo que indica su permanencia en lodos.

Por lo tanto, el ACE presente en las aguas residuales es adsorbido en los lodos, finalmente se disponen en rellenos sanitarios o son utilizados como sustrato para la obtención de abonos, siendo de importancia conocer los distintos mecanismos implementados para su eliminación. Procesos biológicos como la codigestión de lodo con cosustratos en condiciones mesofílicas e hipertermofílicas y la recuperación de fósforo a bajo costo, presentan los mejores resultados en las investigaciones realizadas.

Para el caso de la planta de tratamiento de la Universidad Pontificia Bolivariana, la remoción del ACE debe realizarse en lodos, lo que implica que se utilice un proceso de codigestión con sustratos, aprovechando la temperatura ambiente, que puede variar entre 20° C – 35°C, en caso de requerir hipertermofilia se tendría que garantizar una temperatura superior a los 50°C hasta máximo 100°C.

4.3 Determinación de la concentración efectiva del acetaminofén mediante el Método *Allium cepa*.

Acorde con la metodología planteada anteriormente se realizaron mediciones tanto en patrón puro como en el medicamento comercial. En la figura 21, se presenta la concentración efectiva del acetaminofén en concentración de mg/L.



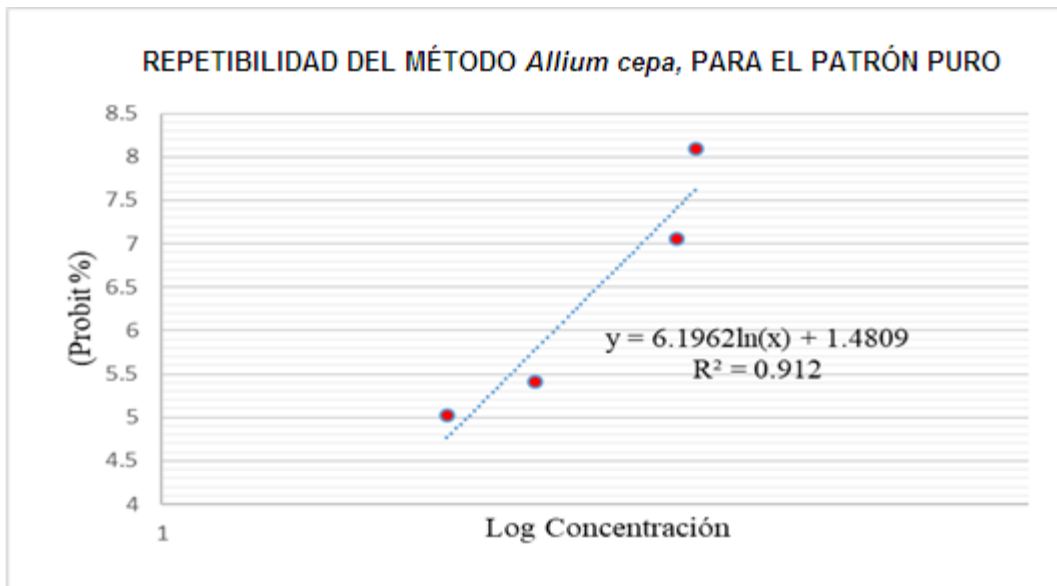


Figura 21. La concentración efectiva para el patrón puro estuvo entre 48.18 ppm y 42.5 ppm con una desviación estándar de 4.01 ppm.

Con el fin de comprobar el grado de toxicidad debido a la presencia del en el medicamento adquirido comercialmente de acetaminofén, se evaluaron distintas concentraciones de acetaminofén teniendo en cuenta su concentración en el producto comercial, en la figura 22, se presentan los resultados.

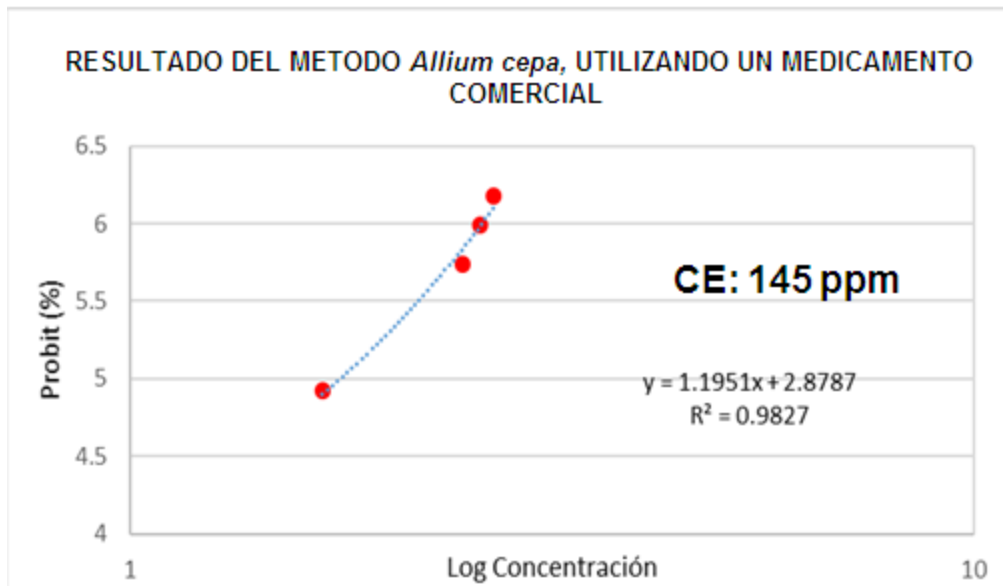


Figura 22. La concentración efectiva obtenida con la pastilla comercial estuvo entre 134 ppm y 145 ppm con una desviación estándar de 7.14 ppm.

Es importante resaltar que la experimentación con la pastilla tuvo mayor desviación, lo que indica que existen varios factores que influyen en la determinación de la concentración efectiva, ya que requirió de por lo menos 10 ensayos para poder llegar al valor final.

Una vez determinada la concentración efectiva se realizó la identificación de los posibles cambios en las divisiones mitóticas, que se traducen como aberraciones cromosómicas en divisiones mitóticas, para las diferentes concentraciones de acetaminofén. Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 23, para las distintas concentraciones de acetaminofén, tanto en patrón puro, como en pastilla.

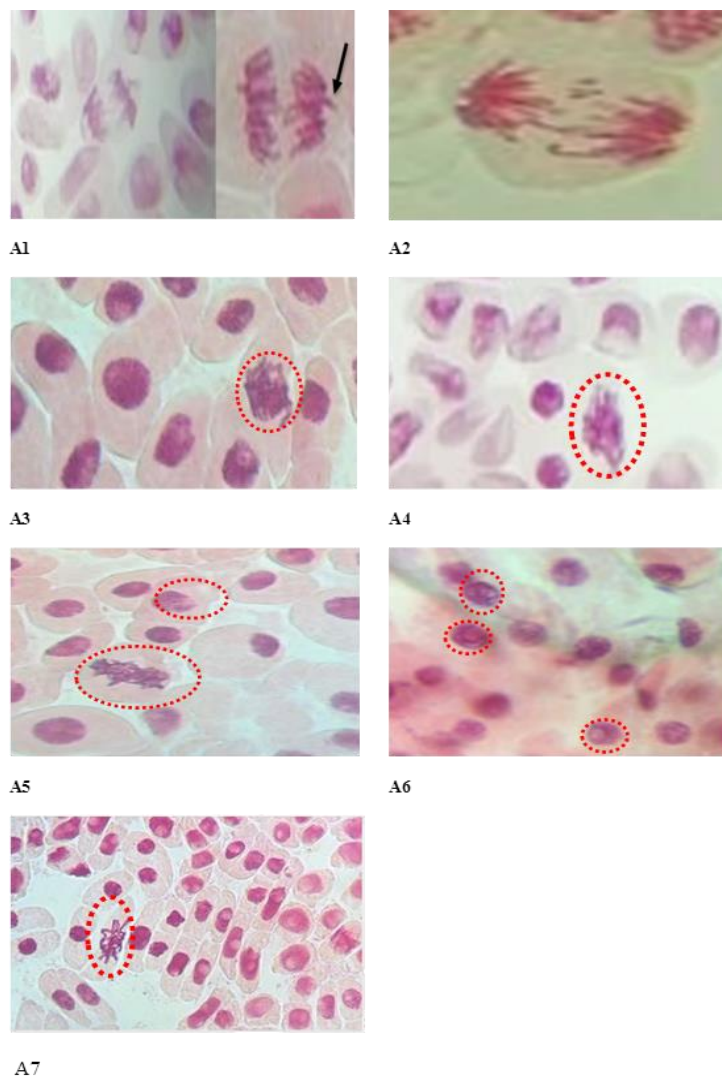


Figura 23. Descripción de los cambios en las divisiones mitóticas en células de *Allium Cepa* expuestas a distintas concentraciones de acetaminofén.

A1: Cromosoma errante en anafase, para la concentración de 50 ppm. A2: Puente en anafase, para la concentración de 100 ppm. A3: Profase con núcleo sincrónico o Telofase multipolar, encontrada en la concentración de 150 ppm de acetaminofén. A4: Metafase pegajosa, encontrada en la concentración de 150 ppm. A5: Anafase con rompimientos cromosómicos para una concentración de 300 ppm, adicionalmente se observan células micronucleadas. A6: Celulas nucleadas en

interfase, encontrada en la concentración de 800 ppm. A7: Metafase con ruptura de cromosoma para una concentración de 800 ppm.

De acuerdo con los resultados frente a los cambios en la división mitótica, se encontraron cambios en varias de las fases de división celular que según la clasificación realizada por Daniela Morais et Al, están asociadas con aberraciones cromosómicas (Daniela Morais Leme, 2009).

5 Conclusiones

La técnica HPLC con detector UV, muestra ser un método que cumple con los requisitos de linealidad, en los rangos de concentración baja (0.01ppm – 0.1 ppm) y concentración media (0.1 ppm – 10 ppm), con coeficientes de correlación de 0.9997 y 0.9992. En las muestras adicionadas en el efluente y efluente del RAP, se obtuvieron coeficientes de correlación múltiple de 0.996 y coeficiente de determinación 0.9921, lo que indica un comportamiento normal en los datos a pesar del efecto matriz que poseen las muestras analizadas.

Debido a las diferencias significativas entre las curvas preparadas a partir de patrón puro y el medicamento comercial, es indispensable realizar la purificación previa del acetaminofén, para evitar interferencias y daños en la columna cromatográfica. Igualmente, el pH debe ser considerado en los procesos de extracción de acetaminofén. como se evidenció en los lodos (proceso realizado a pH= 4 unidades).

El método implementado muestra especificidad en la separación efectiva del acetaminofén frente a otros analitos y metabolitos generados. Igualmente, los resultados obtenidos en la precisión y coeficiente de variación del método, indican su aplicabilidad en matrices sólidas y líquidas.

La concentración detectada del acetaminofén en el afluente, efluente del reactor de flujo a pistón y efluente del tratamiento terciario fue de 46 $\mu\text{g/L}$, 18.3 $\mu\text{g/L}$ y 8 $\mu\text{g/L}$ respectivamente, con desviaciones estándar de 0.14, 1.4 y 1.7 $\mu\text{g/L}$. Los resultados globales muestran que los procesos de sorción del fármaco (3%) ocurren en menor proporción frente a la degradación que se favorece en sistema terciario (71.01%).

El uso que se le dá a los lodos procedentes de la planta de tratamiento. involucra que en su contenido está presente el acetaminofén. Lo anterior indica que el biosólido requiere de un tratamiento para la eliminación del fármaco.

La concentración efectiva para el patrón puro del acetaminofén se encuentra entre 48.18 – 42.15 ppm. para el caso del medicamento comercial su concentración efectiva corresponde a 145 ppm. lo anterior indica que los componentes diferentes al acetaminofén ejercen un efecto antagónico sobre el componente activo, es decir disminuye su acción inhibitoria, sin embargo, los cambios en las divisiones mitóticas detectadas en el *Allium cepa* se observan desde la concentración de 50 ppm hasta 800 ppm de acetaminofén, indicando que el fármaco tiene un efecto genotóxico en el ambiente.

6 Recomendaciones

Se recomienda estudiar el proceso que más se ajuste a las necesidades de la Universidad. Se propone utilizar humedales para la remoción de acetaminofén, así como la implementación de tecnologías avanzadas en procesos de oxidación (ozonización, fotólisis, foto-fenton, sonólisis, oxidación electroquímica), utilización de carbón activado como absorbente, realizar la separación por membrana y el uso de biorreactores de membrana, han sido evaluadas de acuerdo con su efectividad en la remoción de fármacos en aguas residuales.

Para continuar con la evaluación de la ocurrencia del acetaminofén en el agua y lodos, se recomienda analizar la toxicidad del efluente de la PTAR, debido a que la concentración de acetaminofén en el agua residual está por debajo de la concentración efectiva CE, cabe resaltar que por el origen del agua y su complejidad, pueden existir efectos sinérgicos o antagónicos, con otras sustancias emergentes que afectan finalmente su destino y ocurrencia en el ambiente.

Debido al alcance de la investigación, es importante determinar las condiciones REDOX que ocurren en el lodo, ya que el trabajo llevado a cabo por Wilt et Al, menciona que los fenómenos de sorción en los fármacos son favorecidos por condiciones REDOX, aumentando la actividad metanogénica, acompañada por la reducción del sulfato (Wilt, He, Sutton, Langenhoff, & Rijnaarts, 2018).

7 Referencias bibliográficas

- Acevedo-Barrios, R. L., Severiche-Sierra, C. A., & Jaimes Morales, J. D. C. (2017). Efectos tóxicos del paracetamol en la salud humana y el ambiente. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(1), 139–149. <https://doi.org/10.22490/21456453.1845>
- Amaro, Rosa; Gómez, Luis; Vita, R. A. M. 2013. (2008). *Guía de metodos cromatográficos* (1st ed.; U. C. de Venezuela, Ed.). Retrieved from [http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/LIApregrado/archivos/Guia para cromatografia.pdf](http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/LIApregrado/archivos/Guia_para_cromatografia.pdf)
- Aminoshariae, A., & Khan, A. (2015, May 1). Acetaminophen: Old Drug, New Issues. *Journal of Endodontics*, Vol. 41, pp. 588–593. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.01.024>
- Andreozzi, R., Caprio, V., Ciniglia, C., de Champdoré, M., Lo Giudice, R., Marotta, R., & Zuccato, E. (2004). Antibiotics in the Environment: Occurrence in Italian STPs, Fate, and Preliminary Assessment on Algal Toxicity of Amoxicillin. *Environmental Science & Technology*, 38(24), 6832–6838. <https://doi.org/10.1021/es049509a>
- Arias Villamizar, Carmen Alicia;Escudero de Fonseca, A. (2011). Estudio preliminar de la presencia de compuestos emergentes en las aguas residuales del Hospital Universidad del Norte. In I. 978-607-607-015-4 (Ed.), *IV Simposio iberoamericano de gestion y tratamiento de residuos* (pp. 275–280). Mexico: Red iberoamericana en gestion y aprovechamiento de residuos.
- Arikan, O. A., Rice, C., & Codling, E. (2008). Occurrence of antibiotics and hormones in a major agricultural watershed. *Desalination*, 226(1–3), 121–133. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.01.238>

- Bahnick, D. A., & Markee, T. P. (1985). Occurrence and Transport of Organic Microcontaminants in the Duluth-Superior Harbor. *Journal of Great Lakes Research*, 11(2), 143–155. [https://doi.org/10.1016/S0380-1330\(85\)71753-4](https://doi.org/10.1016/S0380-1330(85)71753-4)
- Bai, Y., Meng, W., Xu, J., Zhang, Y., & Guo, C. (2014). Occurrence, distribution and bioaccumulation of antibiotics in the Liao River Basin in China. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 16(3), 586. <https://doi.org/10.1039/c3em00567d>
- Beale, D. J. (2017). Mislabeling of Study Design and Overstatement of Findings in “rechallenging Statin Therapy in Veterans with Statin-Induced Myopathy Post Vitamin D Replenishment.” *Journal of Pharmacy Practice*, 30(3), 385. <https://doi.org/10.1177/0897190017699760>
- Bennin, F., & Rother, H.-A. (2015). “But it’s just paracetamol”: Caregivers’ ability to administer over-the-counter painkillers to children with the information provided. *Patient Education and Counseling*, 98(3), 331–337. <https://doi.org/10.1016/J.PEC.2014.11.025>
- Bhat, S. A., Singh, J., Singh, K., & Vig, A. P. (2018). Genotoxicity monitoring of industrial wastes using plant bioassays and management through vermitechnology: A review. *Agriculture and Natural Resources*, 51(5), 325–337. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2017.11.002>
- Botero-Coy, A. M., Martínez-Pachón, D., Boix, C., Rincón, R. J., Castillo, N., Arias-Marín, L. P., ... Hernández, F. (2018). ‘An investigation into the occurrence and removal of pharmaceuticals in Colombian wastewater.’ *Science of the Total Environment*, 642, 842–853. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.088>
- Brouwer, E. ., Kofman, S., & Brinkman, U. A. T. (1995). Selected procedures for the monitoring of polar pesticides and related microcontaminants in aquatic samples. *Journal of Chromatography A*, 703(1–2), 167–190. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)01237-9](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)01237-9)
- Carballa, M., Omil, F., Lema, J. M., Llompart, M., García-Jares, C., Rodríguez, I., ... Ternes, T.

- (2004). Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Research*, 38(12), 2918–2926. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.03.029>
- Castro-Suarez, J. R., Pájaro-Payares, A. A., Espinosa-Fuentes, E., & Meza-Fuentes, E. (2017). Vibrational detection of acetaminophen in commercial tablets by ATR-FTIR spectroscopy and Chemometrics. *Proceedings of the LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education and Technology, 2017-July(July)*, 19–21. <https://doi.org/10.18687/LACCEI2017.1.1.319>
- Ceron, Alexandra; Quintero, Claudia Sofía; León, M. (2017). *Ocurrencia y destino de contaminantes farmacéuticos en una planta de tratamiento de aguas residuales institucionales*. Bucaramanga.
- Colombia., M. de A. y D. S. de. *Resolución_631_de_2015_vertimientos.* , Pub. L. No. 0631–2015, 1 (2015).
- Corrêa Martins, M. N., Souza, V. V. de, & Silva Souza, T. da. (2016). Cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of sewage sludge on *Allium cepa*. *Chemosphere*, 148, 481–486. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.071>
- Daniela Morais Leme, M. A. M.-M. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 682, 71–81. Retrieved from www.elsevier.com/locate/reviewsmr
- Daughton, C. G. (2016). Pharmaceuticals and the Environment (PiE): Evolution and impact of the published literature revealed by bibliometric analysis. *Science of the Total Environment*, 562, 391–426. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.109>
- De la Cruz, N., Giménez, J., Esplugas, S., Grandjean, D., de Alencastro, L. F., & Pulgarín, C. (2012). Degradation of 32 emergent contaminants by UV and neutral photo-fenton in

- domestic wastewater effluent previously treated by activated sludge. *Water Research*, 46(6), 1947–1957. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2012.01.014>
- Desbiolles, F., Malleret, L., Tiliacos, C., Wong-Wah-Chung, P., & Laffont-Schwob, I. (2018). Occurrence and ecotoxicological assessment of pharmaceuticals: Is there a risk for the Mediterranean aquatic environment? *Science of the Total Environment*, 639, 1334–1348. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.351>
- Developments in Surface Contamination and Cleaning. (2013). In *Developments in Surface Contamination and Cleaning*. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-7879-3.00001-7>
- Díaz, M., Sacristán, M., & Borja, C. (2011). Curso de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): Prácticas de laboratorio y cuestiones teórico-prácticas. Parte II. Práctica de laboratorio: análisis cuantitativo básico. *Reduca (Biología)*, 4(3), 33–47. Retrieved from <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/842/857>
- E.Clesceri, L. E. A. et A. (2015). *Standard Methods of water and wastewater 23th edition*.
- Ekpeghere, K. I., Lee, J.-W., Kim, H.-Y., Shin, S.-K., & Oh, J.-E. (2017). Determination and characterization of pharmaceuticals in sludge from municipal and livestock wastewater treatment plants. *Chemosphere*, 168, 1211–1221. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.077>
- Fatta-Kassinos, D., Vasquez, M. I., & Kümmerer, K. (2011). Transformation products of pharmaceuticals in surface waters and wastewater formed during photolysis and advanced oxidation processes - Degradation, elucidation of byproducts and assessment of their biological potency. *Chemosphere*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.082>
- Fent, K., Weston, A. A., & Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 76(2), 122–159. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.09.009>

- Flores, J. R., Salcedo, A. M. C., & Fernández, L. M. (2011). Rapid HPLC Method for Monitoring Relevant Residues of Pharmaceuticals Products in Environmental Samples. *American Journal of Analytical Chemistry*, 02(01), 18–26. <https://doi.org/10.4236/ajac.2011.21003>
- Golar, S. K. (2011). Use and understanding of analgesics (painkillers) by Aston university students. *Bioscience Horizons*, 4(1), 71–78. <https://doi.org/10.1093/biohorizons/hzr009>
- Gorito, A. M., Ribeiro, A. R., Almeida, C. M. R., & Silva, A. M. T. (2017). A review on the application of constructed wetlands for the removal of priority substances and contaminants of emerging concern listed in recently launched EU legislation. *Environmental Pollution*. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.060>
- Halling-Sorensen, B., Nielsen, S. N., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Liitzhofl, H. C. H., & Jorgensen, S. E. (1998). Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment- A Review. In *Chemosphere* (Vol. 36).
- Informe final IEEE proyecto emergentes upb.* (n.d.).
- Jean, J., Perrodin, Y., Pivot, C., Trepo, D., Perraud, M., Droguet, J., ... Locher, F. (2012). Identification and prioritization of bioaccumulable pharmaceutical substances discharged in hospital effluents. *Journal of Environmental Management*, 103, 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.03.005>
- Jos, A., Repetto, G., Rios, J. C., Hazen, M. J., Molero, M. L., Del Peso, A., ... Cameán, A. (2003). Ecotoxicological evaluation of carbamazepine using six different model systems with eighteen endpoints. *Toxicology in Vitro*, 17(5–6), 525–532. [https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(03\)00119-X](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(03)00119-X)
- Katsoyiannis., N. R. A. C. ;Arminda A. c; A. (2012). Occurrence of organic microcontaminants in the wastewater treatment process. A mini review. *Journal of Hazardous Materials*,

- I*(Hazardous materials), 239–240. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.05.040>
- Kirkland, D. (1998). Chromosome aberration testing in genetic toxicology - Past, present and future. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 404(1–2), 173–185. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(98\)00111-0](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(98)00111-0)
- Krzeminski, P., Tomei, M. C., Karaolia, P., Langenhoff, A., Almeida, C. M. R., Felis, E., ... Fattakassinos, D. (2019a). Performance of secondary wastewater treatment methods for the removal of contaminants of emerging concern implicated in crop uptake and antibiotic resistance spread: A review. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.130>
- Krzeminski, P., Tomei, M. C., Karaolia, P., Langenhoff, A., Almeida, C. M. R., Felis, E., ... Fattakassinos, D. (2019b). Performance of secondary wastewater treatment methods for the removal of contaminants of emerging concern implicated in crop uptake and antibiotic resistance spread: A review. *Science of the Total Environment*, 648, 1052–1081. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.130>
- Lai, W. W. P., Lin, Y. C., Tung, H. H., Lo, S. L., & Lin, A. Y. C. (2016). Occurrence of pharmaceuticals and perfluorinated compounds and evaluation of the availability of reclaimed water in Kinmen. *Emerging Contaminants*, 2(3), 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.05.001>
- Lee, W. M. (2017). Acetaminophen (APAP) hepatotoxicity—Isn't it time for APAP to go away? *Journal of Hepatology*, 67(6), 1324–1331. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.07.005>
- Leme, D. M., & Marin-Morales, M. A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*.

<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>

Li, S. W., & Lin, A. Y. C. (2015). Increased acute toxicity to fish caused by pharmaceuticals in hospital effluents in a pharmaceutical mixture and after solar irradiation. *Chemosphere*, *139*, 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.06.010>

Li, Y., Zhu, G., Ng, W. J., & Tan, S. K. (2014a). A review on removing pharmaceutical contaminants from wastewater by constructed wetlands: Design, performance and mechanism. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.09.018>

Li, Y., Zhu, G., Ng, W. J., & Tan, S. K. (2014b). A review on removing pharmaceutical contaminants from wastewater by constructed wetlands: Design, performance and mechanism. *Science of The Total Environment*, *468–469*, 908–932. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2013.09.018>

Lin, A. Y., Lin, C. A., Tung, H. H., & Chary, N. S. (2010). Potential for biodegradation and sorption of acetaminophen, caffeine, propranolol and acebutolol in lab-scale aqueous environments. *Journal of Hazardous Materials*, *183(1–3)*, 242–250. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.07.017>

Lin, Y. C., Panchangam, S. C., Liu, L. C., & Lin, A. Y. C. (2019). The design of a sunlight-focusing and solar tracking system: A potential application for the degradation of pharmaceuticals in water. *Chemosphere*, *214*, 452–461. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.114>

MacLeod, S. L., & Wong, C. S. (2010). Loadings, trends, comparisons, and fate of achiral and chiral pharmaceuticals in wastewaters from urban tertiary and rural aerated lagoon treatments. *Water Research*. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.09.056>

- Matamoros, V., Nguyen, L. X., Arias, C. A., Salvadó, V., & Brix, H. (2012). Evaluation of aquatic plants for removing polar microcontaminants: a microcosm experiment. *Chemosphere*, 88(10), 1257–1264. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.004>
- McAllister, R. (2018). No Title.
- McClellan, K., & Halden, R. U. (2010). Pharmaceuticals and personal care products in archived U.S. biosolids from the 2001 EPA national sewage sludge survey. *Water Research*. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.12.032>
- Mompelat, S., Le Bot, B., & Thomas, O. (2009). Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environment International*, 35(5), 803–814. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.10.008>
- Moreno-Ortiz, V. C., Martínez-Núñez, J. M., Kravzov-Jinich, J., Pérez-Hernández, L. A., Moreno-Bonett, C., & Altagracia-Martínez, M. (2013). Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 44(4), 17–29.
- Nikolaou, A., Meric, S., & Fatta, D. (2007). Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(4), 1225–1234. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-1035-8>
- Nunes, B., Antunes, S. C., Santos, J., Martins, L., & Castro, B. B. (2014). Toxic potential of paracetamol to freshwater organisms: A headache to environmental regulators? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107, 178–185. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2014.05.027>
- Observamed, & Colombiana, F. M. (2013). *Informe SISMED 2012: Cinco años del Sistema de Información de Precios SISMED* (Vol. 23). Bogotá.

- Ortiz de García, S., García-Encina, P. A., & Irusta-Mata, R. (2017). The potential ecotoxicological impact of pharmaceutical and personal care products on humans and freshwater, based on USEtox™ characterization factors. A Spanish case study of toxicity impact scores. *Science of the Total Environment*, 609, 429–445. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.148>
- Pal, A., Gin, K. Y. H., Lin, A. Y. C., & Reinhard, M. (2010). Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Science of the Total Environment*, 408(24), 6062–6069. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.09.026>
- Papageorgiou, M., Kosma, C., & Lambropoulou, D. (2016). Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in Central Greece. *Science of The Total Environment*, 543, 547–569. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2015.11.047>
- Peñate, I. Q., Javier, U., Haza, J., Wilhelm, A., & Delmas, H. (2009). Contaminación de las aguas con productos farmaceuticos. Estrategias para enfrentar la problemática. *Revista CENIC : Ciencias Biológicas*, 40(3), 173–179.
- Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments. (2009). *Water Research*, 43(2), 351–362. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2008.10.039>
- Petrie, B., Barden, R., & Kasprzyk-Hordern, B. (2015). A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Research*, 72, 3–27. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2014.08.053>
- Phong Vo, H. N., Le, G. K., Hong Nguyen, T. M., Bui, X. T., Nguyen, K. H., Rene, E. R., ...

- Mohan, R. (2019). Acetaminophen micropollutant: Historical and current occurrences, toxicity, removal strategies and transformation pathways in different environments. *Chemosphere*, 236. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124391>
- Quesada, S., Tena, A., Guillén, D., Ginebreda, A., Vericat, D., Martínez, E., ... Barceló, D. (2014). Dynamics of suspended sediment borne persistent organic pollutants in a large regulated Mediterranean river (Ebro, NE Spain). *The Science of the Total Environment*, 473–474, 381–390. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.040>
- Rica, U. D. C., & López, P. (2015). Prueba De Disolución “in Vitro” De Tabletas De Acetaminofén, Cuantificando En Hplc Con Detector Electroquímico. *InterSedes: Revista de Las Sedes Regionales*, XVI(33), 26–37.
- Richardson, S. D., & Ternes, T. A. (2011, June). Water analysis: Emerging contaminants and current issues. *Analytical Chemistry*, Vol. 83, pp. 4616–4648. <https://doi.org/10.1021/ac200915r>
- Rivera-Jaimes, J. A., Postigo, C., Melgoza-Alemán, R. M., Aceña, J., Barceló, D., & López de Alda, M. (2018). Study of pharmaceuticals in surface and wastewater from Cuernavaca, Morelos, Mexico: Occurrence and environmental risk assessment. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.134>
- Rodriguez-Nogales, J. M., Roura, E., & Contreras, E. (2005). Biosynthesis of ethyl butyrate using immobilized lipase: A statistical approach. *Process Biochemistry*, 40(1), 63–68. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2003.11.049>
- Rojas Mantilla Astrid Dayana, T. D. (2016). Estudio de la presencia, ocurrencia y destino final, de un compuesto farmacéutico (acetaminofén) en una planta de tratamiento de agua residual institucional educativa. *Bucaramanga: Universidad Pontificia Bolivariana.No Title*

(Universidad Pontificia Bolivariana-Seccional Bucaramanga.). <https://doi.org/NA>

Roose, P., & Brinkman, U. A. T. (2005). Monitoring organic microcontaminants in the marine environment: principles, programmes and progress. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 24(11), 897–926. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.10.007>

Sanderson, H., Brain, R. A., Johnson, D. J., Wilson, C. J., & Solomon, K. R. (2004). Toxicity classification and evaluation of four pharmaceuticals classes: Antibiotics, antineoplastics, cardiovascular, and sex hormones. *Toxicology*, 203(1–3), 27–40. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.05.015>

Santos, L. H. M. L. M., Araújo, A. N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., & Montenegro, M. C. B. S. M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1–3), 45–95. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.100>

Snyder, L. R. (1975). Practical liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 104(2), 480–481. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)91881-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)91881-8)

Sun, J., Luo, Q., Wang, D., & Wang, Z. (2015). Occurrences of pharmaceuticals in drinking water sources of major river watersheds, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 117, 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.03.032>

Tejada, C., Quiñones, E., & Peña, M. (2014). Contaminantes Emergentes En Aguas: Metabolitos De Fármacos. *Universidad Militar Nueva Granada*, 1–48. <https://doi.org/10.18359/rfcb.341>

Trejos, N., & Myriam, C. (2008). Validación de una metodología analítica por HPLC para la cuantificación de sulfadiazina de plata en crema Validation of an analytical methodology by HPLC for the quantification of silver sulfadiazine in cream. 37(2), 191–199.

Vancouver Island University, U. (2008). Acetaminophen (Tylenol) : A Pain to the Environment.

Environmental Organic Chemistry, (12), 2008.

Verma, A., Nimana, B., Olateju, B., Rahman, M. M., Radpour, S., Canter, C., ... Kumar, A. (2017).

A techno-economic assessment of bitumen and synthetic crude oil transport (SCO) in the Canadian oil sands industry: Oil via rail or pipeline? *Energy*.
<https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.02.057>

Walters, E., McClellan, K., & Halden, R. U. (2010). Occurrence and loss over three years of 72 pharmaceuticals and personal care products from biosolids-soil mixtures in outdoor mesocosms. *Water Research*, 44(20), 6011–6020.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.051>

Wolff, M. S. (2006). Endocrine Disruptors: Challenges for Environmental Research in the 21st Century. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1076(1), 228–238.
<https://doi.org/10.1196/annals.1371.009>

Xiao, H., Song, H., Xie, H., Huang, W., Tan, J., & Wu, J. (2013). Transformation of acetaminophen using manganese dioxide - mediated oxidative processes: Reaction rates and pathways. *Journal of Hazardous Materials*, 250–251, 138–146.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.01.070>

Xu, Y., Radjenovic, J., Yuan, Z., & Ni, B. J. (2017). Biodegradation of atenolol by an enriched nitrifying sludge: Products and pathways. *Chemical Engineering Journal*, 312, 351–359.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.11.153>

Yamamoto, H., Nakamura, Y., Moriguchi, S., Nakamura, Y., Honda, Y., Tamura, I., ... Sekizawa, J. (2009). Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments. *Water Research*, 43(2), 351–362. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.10.039>

Zhang, Y., & Zhou, J. L. (2008). Occurrence and removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater. In *Chemosphere* (Vol. 73). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.06.001>

8 Apéndices

Apéndice A. Pruebas preliminares y recomendaciones frente al manejo del equipo.

Fecha	Descripción	Recomendaciones
24/02/2016	Prueba de solubilidad	Descartar las soluciones que incluya sales de fosfato en cualquier medio, pues generan taponamientos en la columna.
9/03/2017	Se realizó el montaje de los patrones utilizando como solvente Metanol/ácido acético 95/5.	Adicionar una sustancia polar, como el agua a los patrones. En cuanto al manejo del equipo se debe revisar que todas las variables queden debidamente programadas.
10/03/2017	Se realizó montaje de patrones utilizando 75 ml de fase móvil y aforar con mezcla de solventes.	De acuerdo con la investigación *Evaluación de la valoración y disolución de principio activo de amoxicilina en cápsulas de 500mg distribuida por las farmacias del PROAM versus amoxicilina de marca comercial distribuida en la ciudad capital de Guatemala. *Pag 34. El diluyente se utiliza para preparar patrones y demás, no utiliza la fase móvil como lo hicimos en este ensayo.

Nota: Las fechas tienen un lapso amplio en el tiempo, debido a diversos daños que sufrió el equipo durante su operación. Fuente: El autor.

Apéndice B Recomendaciones frente a la utilización de la pastilla como patrón secundario en la implementación del método.

Para comprobar la linealidad del método se analizaron cuatro niveles de concentración 0.1 ppm, 1 ppm, 5 ppm y 10 ppm tanto para patrón puro como pastilla, con el fin de determinar la influencia los excipientes en la validación.

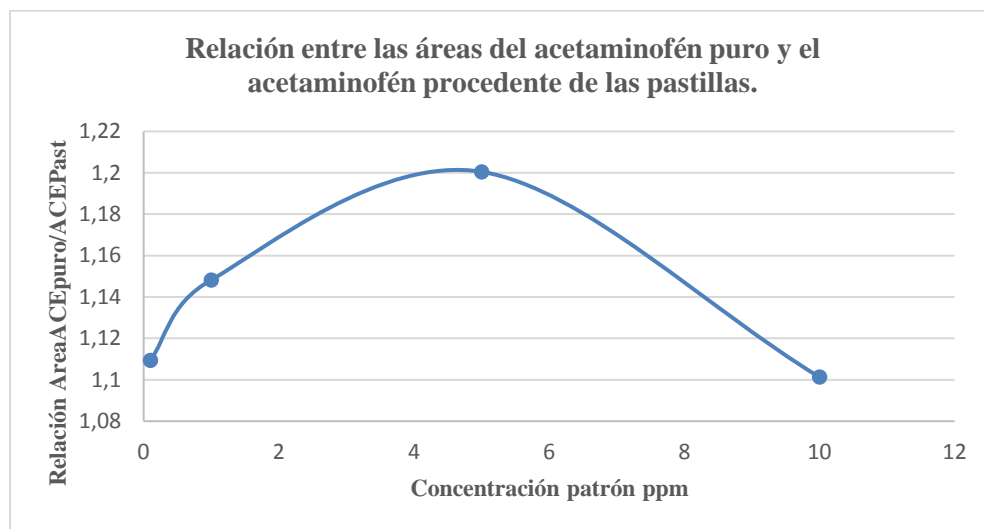


Figura 134. Relación entre las áreas del acetaminofén puro y acetaminofén procedente de las pastillas.

Acorde con los resultados de la figura 22, la linealidad se pierde en la concentración de 10 ppm, esto indica que si se trabaja con el comprimido de acetaminofén, solo se podrá garantizar la linealidad hasta 5 ppm, después de este valor existe una desviación de la regresión lineal colocar que se debe purificar la pastilla antes de realizar el método. Fuente: El autor

Apéndice C. Determinación de los límites de detección y cuantificación. Resultados y criterios de aceptación para el límite de detección.

Límite de detección	
Patrón (ppm)	Area mAu
0,02	6654
0,02	6654
0,02	6500
0,02	6580
0,02	6600
0,02	6550
Promedio	6590
Desviación estándar	54,9110392
Coefficiente de variación	0,83%

Para el límite de detección el criterio de aceptación es obtener un coeficiente de variación menor del 20% .

Resultados y criterios de aceptación para la determinación del límite de cuantificación

Limite de cuantificación	
Patrón	Area
0,01	2554
0,01	2555
0,01	2600
0,01	2460
0,01	2700
0,01	2500
0,01	2900
Promedio area	2610
Desviación estándar	149
Coefficiente de variación	5,70%

Para el límite de cuantificación el criterio de aceptación es obtener un coeficiente de

variación menor al 10%