



El Colegio de la Frontera Sur

**Fármacos y disruptores endócrinos en cuerpos de agua
superficial impactados por descargas de aguas residuales de
Tapachula Chiapas, México**

TESIS

presentada como requisito parcial para optar al grado de
Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural

por

Samuel Cruz Esteban

2013

Índice

Resumen	1
1.- Introducción	2
2.- Materiales y métodos	5
2.1.- Selección de los compuestos en estudio	5
2.2.- Reactivos	5
2.3.- Área de estudio, muestreo y caracterización de las muestras	6
2.4.- Preparación de las muestras y extracción en fase sólida (EFS)	8
2.5.- Análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM)	9
2.6.- Evaluación del riesgo ambiental	10
2.6.- Cálculos y análisis estadísticos	10
3.- Resultados y discusión	12
3.1.- Características físico-químicos de las muestras	12
3.2.- Análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM)	12
3.3.- Presencia de disruptores endócrino (DECs) y anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) en el agua de los ríos y aguas residuales	14
3.4.- Correlación entre los compuestos en estudio y los parámetros físico-químicos	18
3.5.- Evaluación del riesgo ambiental	27
4.- Conclusiones	29
5.- Referencias	30
Anexos	36

Resumen

Se evaluó y cuantificó la presencia de residuos de fármacos y de compuestos relacionados en cuerpos de agua superficial de la ciudad de Tapachula (Chiapas, México) impactados por la descarga de aguas residuales. Se consideraron siete diferentes moléculas bioactivas: tres anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs: naproxeno [NPX], ketoprofeno [KFN] e ibuprofeno [IBF]), dos disruptores endócrinos fenólicos (DECs: nonilfenol [NP] y bisfenol A [BPA]), un antibacteriano (triclosan metil [TCSM]) y un estimulante del sistema nervioso central (cafeína [CAF]). Se colectaron muestras de agua de dos ríos principales (Coatán y Texcuyuapan) y de un arroyo urbano (Coatancito), de una laguna costera (Barra San Simón) y del influente y efluente de la planta municipal de tratamiento de aguas residuales. Se realizaron tres muestreos durante la temporada de lluvia (agosto-noviembre) del año 2012. Los analitos de interés fueron extraídos mediante la técnica de extracción en fase sólida (EFS) y los extractos se analizaron por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM). Los resultados demostraron la presencia de IBF (3.97-31.30 $\mu\text{g L}^{-1}$), NP (1.17-31.02 $\mu\text{g L}^{-1}$), CAF (0.14-18.32 $\mu\text{g L}^{-1}$), NPX (17.83-142.50 $\mu\text{g L}^{-1}$), BPA (4.63-19.01 $\mu\text{g L}^{-1}$) y KFN (5.30-67.87 $\mu\text{g L}^{-1}$) en altas concentraciones. El cálculo de índices de riesgo ambiental permitió identificar que, debido a los niveles de concentración encontrada, el IBF, NP, NPX y BPA son las moléculas que representan el mayor riesgo hacia diferentes organismos acuáticos (algas, crustáceos y peces).

Palabras clave: Contaminantes emergentes, Extracción en fase sólida, CG-EM, índices de riesgo ambiental.

1 Introducción

En la última década ha crecido la preocupación por la presencia de contaminantes emergentes en el ambiente y por los efectos adversos que estos podrían ocasionar (Barceló y López, 2007). Esto debido a su amplio uso y por sus propiedades fisicoquímicas y toxicológicas. Anteriormente estas sustancias no eran consideradas como contaminantes, pero este criterio cambió debido a su constante introducción a los ecosistemas, principalmente acuáticos (Stasinakis, et al., 2011; Vulliet y Cren-Olive, 2011). La mayoría de estos contaminantes son parte de la vida cotidiana y son utilizados en diferentes áreas. Por ejemplo, los fármacos tienen una amplia utilidad tanto en humanos como en animales. Entre los llamados contaminantes emergentes también están los productos químicos del hogar, cuidado personal, productos y subproductos secundarios de la industria, entre otros (Vulliet y Cren-Olive, 2011).

Se sabe que estos contaminantes son introducidos al ambiente a través de escorrentías y descargas de aguas residuales municipales (Kolpin, et al., 2002; Filali-eknassi, et al., 2004), los efluentes hospitalarios (Kümmerer, 2001; Verlicchi, et al., 2010) y las actividades ganaderas (Shore y Shemesh, 2003), entre otros. Estas escorrentías y efluentes llegan a los ríos y posteriormente a los océanos, siendo ésta la principal vía de distribución en todos los compartimentos acuáticos. Como consecuencia, se les pueden hallar en distintos cuerpos de agua en concentraciones que van desde nanogramos hasta microgramos por litro, aún en aguas tratadas (Ternes, 1998; Moffat, et al., 2004).

En los últimos años, varios trabajos han demostrado la presencia de compuestos farmacéuticos en aguas residuales (Costanzo, et al., 2005; Siemens, et al., 2007), aguas superficiales (Corcoran, et al., 2010; Metcalfe, et al., 2011), aguas subterráneas (Cahill, et al., 2004; Vulliet y Cren-Olivé, 2011), agua de consumo humano (Ye, et al., 2007; Vulliet y Cren-Olivé, 2011), en suelos (Díaz-Cruz y Barceló, 2005) y en lodos (Buchberger, 2007). Por otro lado, se ha estimado el riesgo ambiental que presentan estos compuestos farmacéuticos haciendo uso del cociente de riesgo (Kim, et al., 2007; Gros, et al., 2010; García-Galán, et al., 2011; Stasinankis, et al., 2011).

Dentro de los contaminantes emergentes que han causado mayor interés se encuentran los disruptores endocrinos. El Bisfenol A (BPA), utilizado en la producción de retardantes de llama, policarbonato y resinas epoxi (Stasinakis, et al., 2011), como aditivos en la elaboración de papel térmico, ha sido detectado en aguas residuales municipales e industriales (Gómez, et al., 2007; Stasinakis, et al., 2008). Algunos estudios han demostrado que el BPA es ligeramente tóxico para los peces e invertebrados (Staples, et al., 1998), posee una actividad estrogénica débil, así como también una actividad antiandrogénica (Birkett y Lester, 2003). El Nonilfenol (NP), productos de la biotransformación de los NP etoxilatos, utilizado en procesos comerciales y en productos del hogar tales como textiles, detergentes y productos cosméticos (Birkett y Lester, 2003), ha sido detectado en aguas residuales tratadas (Stasinakis, et al., 2008) y en agua superficial (Kolpin, et al., 2002). El NP también ha sido reportado como posible causante de respuestas estrogénicas en algunos organismos acuáticos (Birkett y Lester, 2003) y actualmente está incluido en la lista de sustancias prioritarias en la Unión Europea (EU, 2001). Los medicamentos que también presentan un amplio uso en México son los anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs), principalmente naproxeno (NPX), ibuprofeno (IBF) y ketoprofeno (KFN) entre otros, de los

cuales se desconoce los efectos adversos que sus residuos pueden estar provocando al ambiente, principalmente a los organismos acuáticos. Varios estudios han demostrado la presencia de ellos en muestras de aguas residuales y de ríos, debido a que no se cuenta con un método de eliminación eficiente de estos residuos (Gómez, et al., 2007; Kasprzyk-Hordern, et al., 2008; Zhou, et al., 2009; Samaras, et al., 2010).

En México son escasos los estudios sobre la presencia y efectos de los fármacos en el ambiente. Uno de estos estudios se realizó en el valle del Mezquital, estado de Hidalgo, en el centro de México, donde se encontró presencia de fármacos, principalmente AINEs, antibacteriales y algunos agentes reguladores de lípidos, en muestras de aguas residuales (Siemens, et al., 2007). En otro estudio realizado en la península de Yucatán, se reportó la presencia de triclosan, NP, IBF, NPX, cafeína (CAF) y cocaína, en aguas subterráneas y aguas costeras (Metcalfé, et al., 2011).

El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de algunos compuestos farmacéuticos y disruptores endócrinos en cuerpos de agua superficial que son impactados por descargas de aguas residuales de Tapachula Chiapas, México, y evaluar los riesgos ecológicos que estos compuestos presentan al ambiente acuático. Para ello se identificaron y cuantificaron residuos de fármacos y de otros compuestos relacionados. Los resultados fueron analizados con métodos estadísticos no paramétricos con la finalidad de identificar similitudes o diferencias entre los puntos de muestreo así como posibles relaciones entre los compuestos investigados y las características fisicoquímicas del agua.

2 Materiales y métodos

2.1 Selección de los compuestos en estudio

Los productos farmacéuticos y hormonas seleccionados para este trabajo son algunos de los más recetados localmente. Esta información se obtuvo entrevistando a médicos y a responsables de farmacias, veterinarias y hospitales. Así mismo, se realizó una investigación bibliográfica para identificar los productos de mayor interés de acuerdo a resultados de investigaciones recientes, encontrándose que los productos que se seleccionaron para este estudio han sido detectados frecuentemente en otros países (Kümmerer, 2001; Camacho-Muñoz, et al., 2009; Camacho-Muñoz, et al., 2010a; 2010b; Samaras, et al., 2011; Stasinakis, et al., 2011; Vulliet y Cren-Olivé, 2011).

2.2 Reactivos y materiales

El NPX, KFN, NP, CAF, BPA, triclosan metil (TCSM), y BPA deuterado (BPA-d16), todos grado estándar, fueron suministrados por Sigma-Aldrich (E.E.U.U.). Se prepararon soluciones individuales de cada estándar en diclorometano a una concentración de 1000 mg L⁻¹ y se mantuvieron a una temperatura de -18°C. Los disolventes utilizados, metanol (Sigma-Aldrich, E.E.U.U.), acetona (Honeywell, E.E.U.U.), hexano (EMD, E.E.U.U.) y diclorometano (J.T. Baker, E.E.U.U.), fueron grado HPLC. Para la extracción en fase sólida (EFS), se usaron cartuchos Oasis HLB 6cc (200 mg) (Waters, Irlanda). Se utilizó ácido sulfúrico grado residuo para la acidificación de las muestras (Faga Lab, México). Todo el material de vidrio y recipientes utilizados en la recolección, transporte y procesamiento de las muestras fueron previamente lavados con permanganato de potasio y enjuagadas con agua desionizada, acetona y hexano.

2.3 Área de estudio, muestreo y caracterización de las muestras

Se colectaron muestras de agua del cauce de dos de los principales ríos (Coatán y Texcuyuapan) que fluyen a través de la ciudad de Tapachula, Chiapas, México; así como de un arroyo (Coatancito) que es alimentado por aguas del río Coatán y por descargas urbanas. Así mismo, se tomaron muestras del influente y efluente de la planta municipal de tratamiento de aguas residuales, ubicadas al sureste de la ciudad. El río Coatán, el más caudaloso del área, desemboca en el Océano Pacífico y alimenta la laguna barra San Simón, que es parte de la reserva de la biosfera La encrucijada, ubicada en el municipio de Mazatán, Chiapas, en donde también se colectaron muestras (Fig. 1).

Se realizaron tres campañas de muestreo en los meses de agosto a noviembre del 2012, periodo correspondiente a la temporada de lluvias para esta región. Los sitios de muestreo fueron ocho, ubicados estratégicamente como se muestra en la Fig. 1. Los puntos A (N14°59'28.5" W92°14'33.9") y D (N14°57'30.0" W92°14'56.6") corresponden a sitios aguas arriba de la ciudad de Tapachula en los ríos Coatán y Texcuyuapan, respectivamente. Estos sitios permiten conocer la aportación de las comunidades en la parte alta de la cuenca y a la vez fueron los sitios de referencia. Los puntos C (N14°53'49.9" W92°17'46.3") y E (N14°51'26.5" W92°15'34.3") corresponden a sitios en los ríos Coatán y Texcuyuapan, respectivamente, ubicados aguas abajo de la ciudad. Con los datos de estos sitios se pudo establecer la aportación de la ciudad por diferencia con los datos obtenidos en los puntos A y D. El punto B (N14°54'08.6" W92°16'26.5") corresponde al arroyo Coatancito, este sitio refleja las características de las aguas residuales de la ciudad con una menor dilución al ser vertidas en un cuerpo receptor de bajo caudal.

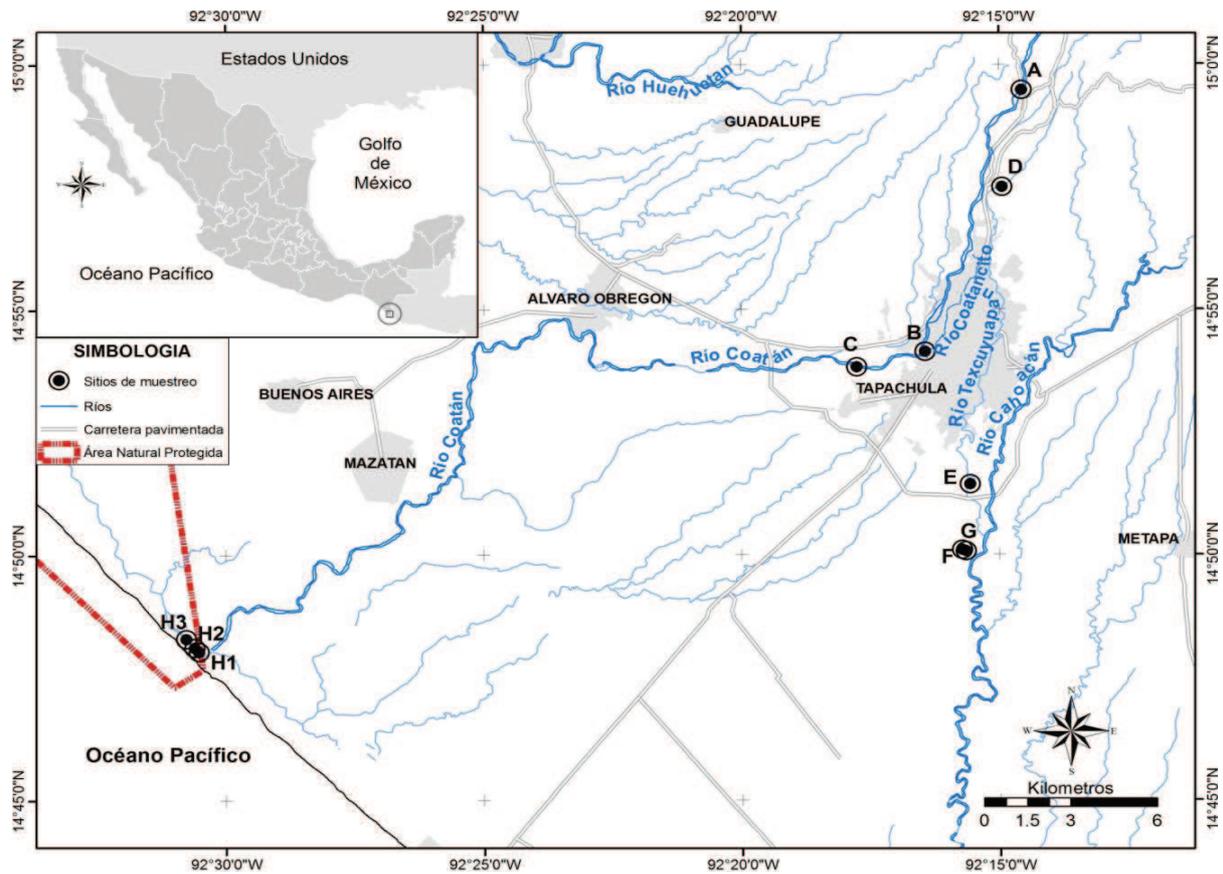


Figura 1: Área de estudio y ubicación de las estaciones de muestreo.

Los puntos F (N14°50'06.2" W92°15'43.5") y G (N14°50'04.6" W92°15'39.6") corresponde al influente y efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR), donde los datos de F reflejan las aportaciones directas de la ciudad y G muestra la capacidad de la planta para remover los compuestos en estudio. H corresponde a la desembocadura del río Coatlán, en la laguna costera Barra San Simón, que forma parte de la reserva de la biosfera La Encrucijada. Los niveles en H indican la presencia de fármacos en un cuerpo de agua de alta importancia ecológica. La muestra del sitio H se formó a partir de submuestras colectadas en tres puntos dentro de la

laguna: H₁ (N14°80'01.9" W92°30'31.9"), H₂ (N14°48'07.0" W92°30'36.9") y H₃ (N14°48'17.8" W92°30'46.7").

En cada sitio se colectaron muestras en dos frascos de vidrio color ámbar, una de 1 L para la extracción de los compuestos de interés y la otra de 500 mL para la medición de los parámetros de calidad del agua. Los frascos se transportaron en una hielera a 4°C hasta el laboratorio donde se determinó el contenido de sólidos suspendidos totales (SST) y la demanda química de oxígeno (DQO), de acuerdo a métodos estandarizados (APHA, 1998). Además, se midió el contenido de carbono orgánico total (COT) por medio de un analizador automático (TOC-V_{CSH}, SHIMADZU E.E.U.U.). De igual forma, se midieron *in situ* otros parámetros de calidad del agua: potencial de hidrogeno (pH), temperatura (T), conductividad (Cond), turbidez (Turb) y oxígeno disuelto (OD), empleando para ello un equipo portátil (Water checker U-10 Horiba, Japón).

2.4 Extracción en fase sólida (EFS)

Para la extracción de los compuestos de interés se utilizó el método de Camacho-Muñoz et al. (2009). Se utilizó 1 L de agua, la cual se filtró usando dos piezas de papel filtro, uno de 8 µm de poro (Ahlstrom 94, Finlandia) y el otro de 0.20 µm de poro (Advantec E.E.U.U.). El filtrado se acidificó a pH= 2 con ácido sulfúrico concentrado. Los cartuchos EFS fueron acondicionados previamente con 3 mL de acetona, 3 mL de metanol y 3 mL de agua desionizada (acidificada a pH= 2 con ácido sulfúrico) a un flujo de 3 mL min⁻¹ aproximadamente. Posteriormente se hizo pasar la muestra a un flujo de 15 mL min⁻¹ con un equipo colector (Supelco, E.E.U.U.) conectado a una bomba de vacío. Los cartuchos de SPE fueron enjuagados con 3 mL de una solución metanol/agua (5:95 v/v) y 3 mL de hexano con un flujo de 1 mL min⁻¹. Después se realizó la

elución de los analitos con tres alícuotas de 2 mL de acetona a una velocidad de flujo de 1 mL min⁻¹. Las alícuotas se filtraron con politetrafluoroetileno (Iso-Disc PTFE 25 mm x 0.45 µm, Supelco, E.E.U.U.) y se evaporaron hasta sequedad con un flujo regulado de nitrógeno. Los residuos se disolvieron en 100 µL de diclorometano en viales de borosilicato y se mantuvieron en congelación a -18°C hasta su análisis, en un periodo no mayor a 5 días. Al igual que los blancos o testigos que se realizarón en cada prueba.

2.5 Análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM)

El análisis de los extractos se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases (CP-3800) acoplado a un espectrómetro de masas (Saturn 2200) (Varian, E.E.U.U.) utilizando una columna capilar de vidrio fundido de 30 m de largo y 0.25 mm de diámetro (VF-5MS, Varian, E.E.U.U.). Las muestras se inyectaron en modo splitless. Como gas portador se usó helio de alta pureza con un flujo constante de 1 mL min⁻¹. Las rampas de temperatura fueron: 50°C durante 2 min, incremento a razón de 15°C min⁻¹ hasta 280°C y tiempo de espera de 10 min. El espectrómetro de masas operó por impacto electrónico (EI) a 70 eV. La transferencia de masas se llevó a cabo a una temperatura constante de 280°C, en tanto que la fuente de ionización se mantuvo a 180°C. La exploración de los espectros de masas se realizó en un rango de *m/z* 50-400, en modo de ionización simple (SIM). Los compuestos fueron identificados mediante comparación del tiempo de retención y del espectro de masas de cada analito. Todo esto se realizó siguiendo lo establecido por la guía EURACHEM, además se corrieron muestras testigos ó blancos. El límite de detección de cada compuesto se determinó inyectando soluciones con concentraciones que disminuyeron gradualmente hasta encontrar la concentración más baja detectada por el equipo. De la misma manera, el límite de cuantificación corresponde a la concentración más baja cuya

área de respuesta pudo ser integrada por el equipo. Todos los procedimientos se realizaron por triplicado.

2.6 Evaluación del riesgo ambiental

El riesgo ambiental potencial de cada compuesto se evaluó por medio del cociente de riesgo (RQ, por sus siglas en Inglés) calculado a partir de la concentración encontrada en el ambiente (MEC, por sus siglas en Inglés) dividida por la concentración prevista que aún no causa ningún efecto (PNEC, por sus siglas en Inglés) a un organismo específico. Los valores de MEC que se utilizaron fueron los promedios de las concentraciones encontradas con más frecuencia y con menor variación. Las PNEC fueron obtenidas a partir de una revisión bibliográfica (Lindberg, et al., 2007). Se utilizaron concentraciones en las que se reportan los primeros efectos medibles al 50% de la población que ha sido expuesta (Concentración Efectiva [CE₅₀]). Se consideraron organismos representativos del ambiente acuático y de diferentes niveles tróficos: algas, crustáceos y peces. Las concentraciones CE₅₀ se dividieron entre 1,000 para obtener un estimado de las concentraciones tóxicas 1,000 veces menores a las reportadas, tal como lo han recomendado varios investigadores (EU, 2003; Tauxe-Wuersch, et al., 2005; Gros, et al., 2010). Los valores de RQ mayores a uno implican un riesgo ecotoxicológico significativo para los organismos acuáticos (Lindberg, et al., 2007).

2.7 Análisis estadístico

Con la finalidad de identificar los sitios con mayor aportación de los compuestos en estudio, se estimó el coeficiente de correlación de Spearman y se aplicó un análisis factorial a los datos obtenidos. En el caso de concentraciones por debajo del límite de detección, se utilizó la mitad

del límite de detección para los cálculos estadísticos (Stasinakis, et al., 2008; Stasinakis, et al., 2011). Además, para evaluar similitudes y diferencias entre los sitios de muestreo así como posibles relaciones con los parámetros fisicoquímicos se realizó un análisis de componentes principales (ACP). Los análisis se realizaron utilizando el software Statistica© v.7.

3 Resultados y discusión

3.1 Parámetros físico-químicos

Las características físico-químicas de las muestras colectadas se presentan en la Tabla 1. El pH fue similar en todos los puntos muestreados, encontrándose en niveles neutros. La conductividad fue mayor en los puntos F y G (influyente y efluente de la PTAR), seguido del punto B (Coatancito). El punto E (río Texcuyuapan aguas abajo de Tapachula) muestra un incremento en la conductividad con respecto al punto D (mismo río aguas arriba). Este incremento se debe probablemente a las continuas descargas de aguas residuales que recibe en su trayecto, lo que aumenta el contenido de materia orgánica y sales disueltas, este último hace que la conductividad incremente.

Los niveles de DQO y SST variaron ampliamente de un punto de muestreo a otro. Se observaron concentraciones más bajas de estos parámetros en aguas abajo del río Coatán (C) con respecto a al punto A aguas arriba de la ciudad de Tapachula. Esto se debió a las intensas lluvias en la parte alta de Tapachula, provocando la resuspensión de materia orgánica e inorgánica, llevando consigo altas concentraciones de lodos, los cuales se sedimentan a lo largo del cauce del río. Sin embargo, la DQO aumentó nuevamente en la desembocadura del río (punto H). Este comportamiento no se observó en el río Texcuyuapan (punto D y E), no mostró variación de estos parámetros (DQO y SST). Las concentraciones más altas de estos parámetros se encontraron en el influyente de la PTAR.

Tabla 1: Valores promedio \pm desviación estándar de los parámetros fisicoquímicos medidos en las muestras de agua.

Parámetro	Punto de muestreo							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Ph	7.58 \pm 0.20	7.53 \pm 0.07	7.85 \pm 0.04	7.34 \pm 0.21	7.44 \pm 0.01	7.29 \pm 0.06	7.18 \pm 0.23	7.84 \pm 0.25
Turbidez	590.67 \pm 516	34 \pm 7	103 \pm 79.23	14.33 \pm 5.03	30.67 \pm 17.21	173.33 \pm 42.33	16 \pm 7.94	63.33 \pm 1.53
T (°C)	22.7 \pm 0.1	26.5 \pm 0.43	22.77 \pm 0.51	24.93 \pm 0.12	26.7 \pm 0.53	27.67 \pm 0.15	29.4 \pm 0.96	26.93 \pm 0.30
Conductividad (mS cm ⁻¹)	0.15 \pm 0.00	0.44 \pm 0.01	0.15 \pm 0.01	0.09 \pm 0.11	0.16 \pm 0.01	0.68 \pm 0.06	0.56 \pm 0.07	0.22 \pm 0.02
OD (mg L ⁻¹)	8.05 \pm 0.13	3.71 \pm 0.38	8.55 \pm 0.2	7.99 \pm 0.06	6.89 \pm 0.33	1.05 \pm 0.82	5.14 \pm 0.5	7.07 \pm 0.39
SST (mg L ⁻¹)	1.60 \pm 0.80	0.02 \pm 0.01	0.08 \pm 0.02	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.04 \pm 0.0
DQO (mg L ⁻¹)	42.08 \pm 39.62	48.08 \pm 9.15	2.96 \pm 1.70	23.37 \pm 14.51	25.07 \pm 9.98	237.89 \pm 28.26	21.56 \pm 2.11	14.55 \pm 7.12
COT (mg L ⁻¹)	2.44 \pm 1.40	10.56 \pm 0.83	8.38 \pm 7.25	10.52 \pm 14.46	4.93 \pm 1.92	32.81 \pm 8.56	14.16 \pm 14.73	4.47 \pm 2.59

Nota: pH= potencial de hidrógeno, Turb= turbidez, T= temperatura, Cond= conductividad, OD= oxígeno disuelto, SST= sólidos suspendidos totales, DQO= demanda química de oxígeno y COT= carbón orgánico total. Los puntos A y C corresponden al cauce del río Coatán, y el punto H al área donde desemboca (laguna costera). El punto B se ubicó en el arroyo Cotancito, antes de incorporarse al Coatán. Los puntos D y E corresponden al cauce del río Texcuyupan. Los puntos F y G son el influente y efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales.

Los puntos que presentan los niveles más altos de materia orgánica (COT) son los puntos B, D, F y G debido a las descargas urbanas. El OD es bajo en las aguas residuales antes y después de ser tratadas (puntos F y G) o en donde las descargas de aguas residuales constituyen una fracción importante del caudal total del cuerpo receptor (punto B, Cotancito). La turbidez presenta alta variabilidad en todos los puntos debido a las descargas urbanas y a la intensidad de las lluvias durante el periodo de muestreo, las cuales resuspenden los sedimentos en los cuerpos de agua.

Los valores de algunos de los parámetros fisicoquímicos analizados se encuentran por arriba de los límites máximos permisibles establecidos por la Norma Oficial Mexicana de calidad del agua (NOM-127-SSA1-1994: salud ambiental, agua para uso y consumo humano). La turbidez, en todos los sitios, rebasó el límite máximo permisible de 5 unidades nefelométricas de turbidez (UNT). La temperatura y los sólidos suspendidos totales estuvieron por debajo de los límites máximos permisibles.

3.2 Análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM)

Los tiempos de retención, iones de cuantificación y de confirmación, así como los porcentajes de recuperación de los compuestos en estudio se presentan en la Tabla 2. Los porcentajes de recuperación obtenidos (70-130%) son aceptables y similares a los reportados por otros autores para los mismos compuestos (Tauxe-Wuersch, et al., 2005; Comeau, et al., 2008). En un cromatograma típico (Fig. 2) se puede observar que los compuestos se separaron con buena resolución. El análisis cuantitativo se llevó a cabo utilizando iones seleccionados de cuantificación y de referencia (SIM), con la calibración de estándares externos.

Tabla 2: Tiempo de retención, iones característicos y porcentajes de recuperación de los compuestos de interés.

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Ión de cuantificación (m/z)	Ión de confirmación (m/z)	Recuperación (%)
IBF	12.09	161	206	77.53
NP	12.67	121	163	104.11
CAF	13.91	194	109	70.00
NPX	15.57	185	230	100.40
TCSM	15.69	302	252	130.19
BPA	16.01	213	228	94.41
KFN	16.41	105	77, 177, 210	96.73

Nota: IBF= ibuprofeno, NP= nonilfenol, CAF= cafeína, NPX= naproxeno, TCSM= triclosan metil, BPA= bisfenol A y KFN= ketoprofeno.

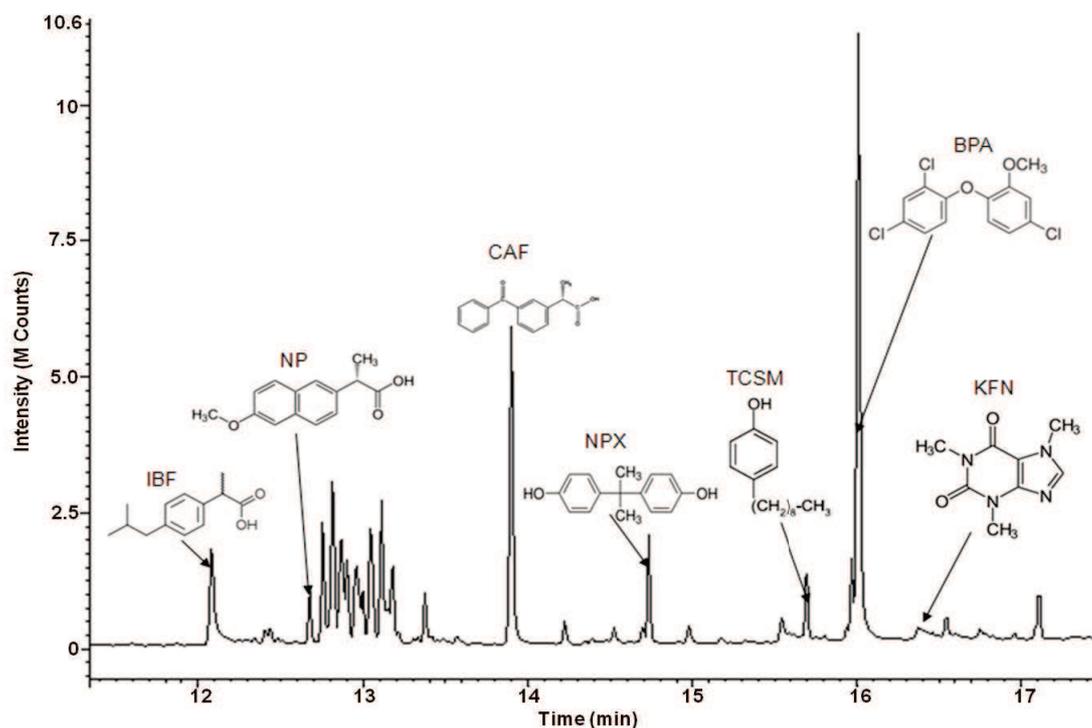


Figura 2: Cromatograma típico. IBF= ibuprofeno, NP= nonilfenol, CAF= cafeína, NPX= naproxeno, TCSM= triclosan metil, BPA= bisfenol A y KFN= ketoprofeno. Se inyectó 1 μ L de una solución de los compuestos en mezcla a una concentración de 100 ng de cada compuesto puro.

Las ecuaciones de regresión con sus respectivos coeficientes de correlación, los cuales fueron superiores a 0.990, los límites de detección y cuantificación se presentan en la Tabla 3. Estos resultados son diferentes a los obtenidos por Durán-Álvarez, et al. (2009) y Sámara, et al. (2011), quienes encontraron límites de detección y cuantificación más bajos para los mismos productos, debido a que derivatizaron los compuestos antes del análisis cromatográfico. Camacho-Muñoz (2009) también encontró límites de detección y cuantificación más bajos utilizando cromatografía líquida de alta eficacia con detector de diodos y fluorescencia.

Tabla 3: Ecuaciones de regresión, coeficientes de correlación (R^2), límites de detección (LD) y límites de cuantificación (LC) de los compuestos de interés.

Compuestos	Ecuación de calibración	R^2	LD (mg L⁻¹)	LC (mg L⁻¹)
IBF	$y = 313117x - 2E07$	0.9942	15	20
NP	$y = 54650x + 898714$	0.9952	0.5	5
CAF	$y = 208901x + 4E06$	0.9961	0.5	1
NPX	$y = 61180x + 210793$	0.9944	20	50
TCSM	$y = 349106x - 2E07$	0.9965	0.5	1
BPA	$y = 79383x - 2E06$	0.9906	10	20
KFN	$y = 60856x + 1E06$	0.9932	20	50

Nota: IBF= ibuprofeno, NP= nonilfenol, CAF= cafeína, NPX= naproxeno, TCSM= triclosan metil, BPA= bisfenol A y KFN= ketoprofeno.

3.3 Presencia de disruptores endócrinos (DECs) y anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) en el agua de los ríos y aguas residuales

Se encontraron 6 de los 7 fármacos buscados en todos los sitios de muestreo, estos fueron el IBF, NP, CAF, NPX, BPA y KFN (Tabla 4). El TCSM no se detectó en ninguna muestra,

posiblemente debido a que las concentraciones en las que pudiera estar presente se encuentran por debajo del límite de detección. Los AINEs fueron encontrados en concentraciones mayores a las reportadas por Siemens et al. (2007) y Metcalfe et al. (2011), quienes incluyeron al IBF y NPX en sus estudios realizados en otros estados del país. También son superiores a las reportadas por Möder et al. (2007), en un estudio realizado en el río Saale de Alemania. Kasprzyk-Hordern et al. (2008) también encontraron IBF, KFN y NPX en dos ríos del Reino Unido. Por su parte, Stasinakis et al. (2011) realizaron un estudio en uno de los ríos de Grecia que desembocan en el mar Egeo y encontraron IBF, NPX y KFN en aguas de río y en aguas residuales tratadas, aunque en concentraciones más bajas que las encontradas en este trabajo.

No obstante, otros autores también han reportado concentraciones similares a las encontradas en este estudio. Petrovic et al. (2005) realizaron una revisión sobre el monitoreo de fármacos en diferentes países (Francia, Grecia, Italia, Suecia, Alemania, Reino unido y Canadá) y encontraron reportes de presencia de IBF, NPX y KFN en concentraciones de 0.5 a 27.3, 0.30 a 5.22 y 0.2 a 0.38 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Camacho-Muñoz et al. (2010a; 2010b) también reportaron haber encontrado AINEs en concentraciones de hasta 26.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ en aguas residuales tratadas y en ríos.

La presencia de los AINEs puede deberse al consumo excesivo y no regulado de estos compuestos en México, ya que en nuestro país, al igual que en muchos otros, no existe un control sobre su uso y pueden ser obtenidos en cualquier farmacia sin prescripción médica. Aunado a esto, la falta de plantas de tratamiento de aguas residuales también repercute en las altas concentraciones encontradas. Por otro lado, aún si las aguas residuales reciben tratamiento, en

Tabla 4: Concentración promedio \pm desviación estándar ($\mu\text{g L}^{-1}$) de cada compuesto de interés en los diferentes puntos de muestreo (n=3).

Compuesto	Punto de muestreo							
	A	B	C	D	E	F	G	H
IBF	7.54 \pm 1.25	31.30 \pm 23.04	6.91 \pm 0.19	3.97 \pm 3.12	6.81 \pm 0.64	23.83 \pm 15.23	6.11 \pm 0.72	28.84 \pm 37.98
NP	5.87 \pm 4.96	6.18 \pm 3.42	1.17 \pm 1.26	2.16 \pm 1.61	10.34 \pm 10.33	31.02 \pm 16.85	4.63 \pm 4.61	1.94 \pm 0.17
CAF	0.48 \pm 0.01	8.80 \pm 3.69	0.20 \pm 0.06	4.3 \pm 0.6	2.75 \pm 2.49	18.06 \pm 9.30	9.30 \pm 8.77	0.14 \pm 0.12
NPX	<LOD	75.84 \pm 18.82	17.83 \pm 1.15	<LOD	48.97 \pm 31.59	142.50 \pm 92.93	<LOD	27.31 \pm 17.25
TCSM	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BPA	5.25 \pm 1.02	11.21 \pm 6.24	7.28 \pm 4.43	4.63 \pm 1.95	14.41 \pm 8.68	19.01 \pm 4.08	5.30 \pm 1.03	11.31 \pm 12.50
KFN	<LOD	8.37 \pm 6.04	5.87 \pm 3.89	<LOD	8.39 \pm 6.75	67.87 \pm 25.38	5.30 \pm 1.01	11.68 \pm 2.15

Nota: IBF= ibuprofeno, NP= nonilfenol, CAF= cafeína, NPX= naproxeno, TCSM= triclosan metil, BPA= bisfenol A, KFN= ketoprofeno y LOD= límite de detección. La ubicación de los puntos de muestreo (A-H) se presentan en la Fig. 1.

este estudio se encontró, al igual que lo han hecho estudios previos, que la PTAR municipal no logra remover totalmente los residuos de fármacos (ver valores en punto G).

La cafeína fue encontrada en concentraciones de 0.14 a 18.06 $\mu\text{g L}^{-1}$ en todos los puntos de muestreo, correspondiendo la menor concentración a la laguna Costera y la mayor concentración al influente de la PTAR. Estos valores superan a los reportados por Camacho-Muñoz et al. (2010a; 2010b), para aguas superficiales dentro de un parque nacional protegido. La presencia de cafeína en los cuerpos de agua y en las aguas residuales puede ser explicada por el alto consumo de café, té, fármacos y otros productos que la contienen. Por otra parte, la zona alta de Tapachula es productora de café, y allí se encuentran varios beneficios que descargan sus aguas residuales directamente a los ríos, aportando grandes cantidades de cafeína. Esto último podría explicar la presencia de la cafeína en todos los puntos aún en los que anteceden a la ciudad.

Las concentraciones de NP y BPA encontradas en este estudio superan a las reportadas por Arditoglou y Voutsas (2010) en ríos de Grecia. También superan a las concentraciones encontradas en ríos de Suecia y Suiza (Bendz. et al., 2005; Jonkers, et al., 2009). La presencia del NP en todos los puntos de muestreo es explicable por el alto consumo de detergentes en la región. Al paso por la ciudad estas concentraciones aumentan, debido a las descargas de aguas residuales que contienen residuos de detergentes, productos cosméticos entre otros. La presencia del BPA también se puede deber a las grandes cantidades de plásticos y materiales que tienen recubrimiento de esta sustancia que se desprende fácilmente cuando permanece por largo tiempo en el agua y este desprendimiento es favorecido con el aumento de la temperatura. Además, en

esta región no es común el cuidado de los ríos, los cuales arrastran consigo grandes cantidades de todo tipo de basura (papel, latas, plásticos, envases térmicos, bolsas de nylon, entre otros).

En general, las concentraciones de fármacos encontradas son más altas que las encontradas en otras partes del mundo (Arditsoglou y Voutsas, 2010; Camacho-Muñoz et al., 2010a, 2010b; Metcalfe et al., 2011). Esto puede explicarse por la falta de plantas de tratamiento de aguas residuales en esta región, aunque se ha observado que las PTAR convencionales no son del todo eficientes para remover los residuos de fármacos (Gómez, et al., 2007; Stasinakis, et al., 2008; Pothitou y Voutsas, 2008; Samaras, et al., 2010). Aunado a esto, podemos mencionar que en México no hay una legislación ni normas que regulen la eliminación y disposición final de fármacos caducados, por lo que este tipo de compuestos son tratados como cualquier residuo no tóxico dentro de la recolección de basura, y se les puede encontrar en cualquier vertedero de desechos urbanos. La situación encontrada en los cuerpos de agua de Tapachula puede ser un reflejo del estado en que se encuentran otros ríos de nuestra región, estado y país.

3.4 Correlación entre los compuestos en estudio y los parámetros fisicoquímicos

Con la finalidad identificar posibles correlaciones entre la presencia de los compuestos y las características fisicoquímicas del agua en los puntos de muestreo, con los datos obtenidos se calculó el coeficiente de correlación de Spearman (Tabla 5). Este coeficiente fue aplicado debido a que los datos encontrados no cumplían con el supuesto de normalidad. Se encontró que la cafeína presenta una correlación significativa con la mayoría de los parámetros fisicoquímicos. Por el contrario el OD presenta una correlación negativa con los analitos en estudio y con los otros parámetros fisicoquímicos. No así el COT, que está relacionado de manera significativa con

Tabla 5: Correlación de Spearman entre las concentraciones de los compuestos y los parámetros fisicoquímicos de todos los puntos de muestreo.

	IBF	NP	CAF	NPX	BPA	KFN	pH	Turb	T	Cond	OD	TSS	DQO	COT
IBF	1,0000													
NP	0,2927	1,0000												
CAF	0,1100	0,5548	1,0000											
NPX	0,4958	0,4010	0,2197	1,0000										
BPA	0,4771	0,5800	0,2409	0,5841	1,0000									
KFN	0,5000	0,3527	0,3049	0,7011	0,5271	1,0000								
pH	0,2633	-0,2375	-0,7096	0,1403	0,0183	-0,0230	1,0000							
Turb	0,4406	0,0974	-0,0918	0,3466	0,1300	0,4402	0,2237	1,0000						
T	-0,0211	0,3149	0,4515	0,2949	0,1705	0,5085	-0,4681	-0,1603	1,0000					
Cond	0,2066	0,4760	0,5899	0,3899	0,3970	0,5852	-0,3440	0,0807	0,8193	1,0000				
OD	-0,2431	-0,5597	-0,6649	-0,5414	-0,3727	-0,5833	0,4732	-0,0565	-0,8062	-0,8737	1,0000			
SST	0,3622	0,1842	-0,2854	0,0483	0,0840	0,0831	0,3830	0,6821	-0,4678	-0,2241	0,2905	1,0000		
DQO	0,2475	0,4231	0,5936	0,4025	0,2287	0,2908	-0,4961	0,3145	0,3454	0,5520	-0,7014	-0,0051	1,0000	
COT	0,4792	0,3565	0,4496	0,4752	0,2157	0,5595	-0,1797	0,2635	0,4863	0,4293	-0,4418	-0,0387	0,2831	1,0000

Las correlaciones marcadas en negrita son significativas a $p < 0.05$

Nota: IBF= ibuprofeno, NP= nonilfenol, CAF= cafeína, NPX= naproxeno, BPA= bisfenol A, KFN= ketoprofeno, pH= potencial de hidrogeno, Turb= turbidez, T= temperatura, Cond= conductividad, OD= oxigeno disuelto, SST= sólidos suspendidos totales, DQO= demanda química de oxigeno y COT= carbón orgánico total.

los analitos en estudio. Esto sugiere que la presencia de los fármacos está relacionada con la contaminación orgánica, producto de las descargas de aguas residuales. Esto mismo se aprecia en la Tabla 4, en donde las mayores concentraciones de las moléculas de interés se presentaron en los puntos impactados por descargas de aguas residuales. Algunas de estas correlaciones son similares a las reportadas por Stasinakis et al. (2011). Para confirmar la correlación entre los compuestos y los parámetros fisicoquímicos se realizó un análisis componentes principales. En la Tabla 6 se muestran los tres factores que explican el 80% de la variación de los datos.

Tabla 6: Factor de cargas (varimax normalizada) del análisis factorial.

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
IBF	0.236718	-0.134531	0.807931
NP	0.840033	0.092368	0.202979
CAF	0.868835	-0.207498	-0.004196
NPX	0.613167	-0.098963	0.270912
BPA	0.435188	-0.110607	0.751946
KFN	0.879687	0.021228	0.301795
Ph	-0.565801	0.225831	0.583169
Turb	0.116049	0.817369	-0.113306
T	0.477880	-0.735512	-0.102337
Cond	0.839342	-0.306006	-0.005622
OD	-0.899623	0.265707	-0.089191
TSS	-0.103960	0.801796	-0.084734
DQO	0.908715	0.150133	0.094833
TOC	0.621954	-0.201866	0.280482
<i>Explained Variance</i>	6.154955	2.222641	1.890094
<i>Probability Total</i>	0.439640	0.158760	0.135007

Las correlaciones significativas se indican con negrita

Nota: IBF= ibuprofeno, NP= nonilfenol, CAF= cafeína, NPX= naproxeno, BPA= bisfenol A, KFN= ketoprofeno, pH= potencial de hidrogeno, Turb= turbidez, T= temperatura, Cond= conductividad, OD= oxigeno disuelto, SST= sólidos suspendidos totales, DQO= demanda química de oxigeno y COT= carbón orgánico total.

Los resultados del análisis de componentes principales mostraron que todos los compuestos, excepto el IBF y BPA, presentan cargas elevadas para el primer factor, esto indica la presencia de un punto en común (punto F), que es el influente de la planta. Lo anterior apoya la hipótesis de que las descargas urbanas están aportando grandes cantidades de los compuestos en estudio. De manera similar, el IBF y BPA presentan cargas altas en el tercer factor, indicando que existe otro punto donde las descargas son altas (punto B, el Coatancito). Como ya se señaló, este arroyo recibe grandes volúmenes de aguas residuales, convirtiéndose en otro de los puntos que aportan altas concentraciones de estos compuestos, principalmente IBF y BPA. Esto puede ser confirmado con la correlación significativa que presentaron (Tabla 5).

El análisis de componentes principales también permitió identificar agrupaciones distintas entre los puntos muestreados (Fig. 3A). El análisis parece discriminar al punto F del resto de los sitios muestreados. Esto se relaciona con las altas concentraciones encontradas en ese punto, dado que se trata del influente de la planta de tratamiento de aguas residuales. Por el contrario, el punto A, ubicado en el río Coatán antes de pasar por la ciudad, es un sitio que también muestra marcadas diferencias debido a que allí se encontraron pocos fármacos, y los que estuvieron presentes se encontraron en concentraciones más bajas que en los otros puntos. Además, la gráfica de las cargas (Figura 3B) muestra las agrupaciones y las posibles relaciones entre las variables. Los AINEs, los disruptores endócrino (EDC), y algunos parámetros fisicoquímicos presentan una estrecha relación en el hemisferio izquierdo de la gráfica (Figura 3B). El patrón que se muestra en la Fig. 3 confirma las relaciones previstas en los análisis anteriores y permite diferenciar al punto F de todos los demás, permitiendo ver nuevamente que la presencia de los compuestos de interés está directamente relacionada con los niveles de materia orgánica (COT y DQO) e inversamente

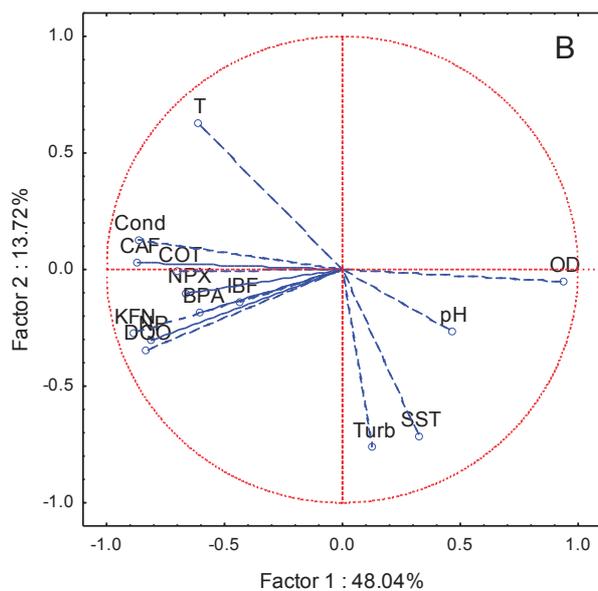
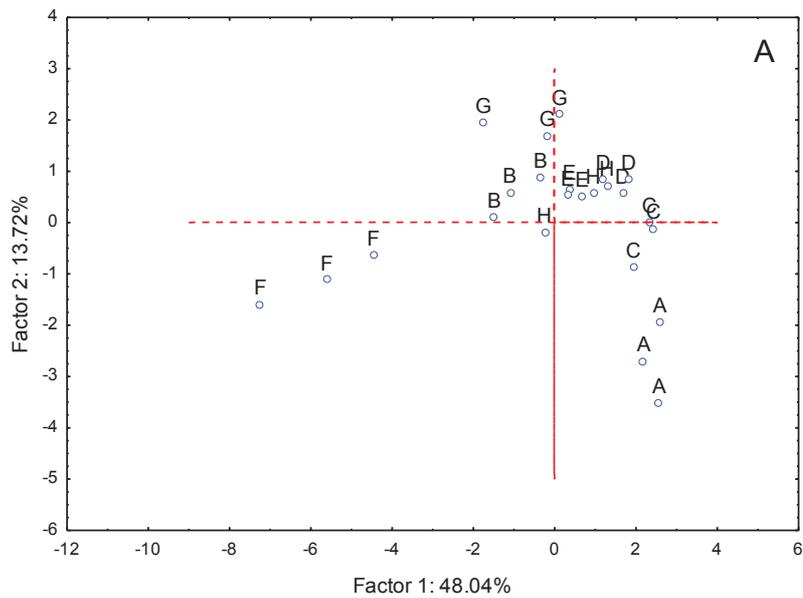


Figura 3: Gráficas de componentes principales para los puntos de muestreo (A) y para las cargas de compuestos y parámetros fisicoquímicos (B).

Nota: A= aguas arriba del río Coatán, B= afluente del Coatancito, C= aguas abajo del río Coatán, D= aguas arriba del río Texcuyupan, E= aguas abajo del río Texcuyupan, F= influente de la PTAR, G= efluente de la PTAR y H= desembocadura del río Coatan (área natural protegida), IBF= ibuprofeno, NP= nonilfenol, CAF= cafeína, NPX= naproxeno, BPA= bisfenol A, KFN= ketoprofeno, pH= potencial de hidrogeno, Turb= turbidez, T= temperatura, Cond= conductividad, OD= oxígeno disuelto, SST= sólidos suspendidos totales, DQO= demanda química de oxígeno y COT= carbón orgánico total.

relacionada con los niveles de oxígeno disuelto. Los SST y la Turbidez no presentan relación con los compuestos de interés, debido a que estos parámetros están más relacionados con la resuspensión de sedimentos por efecto de la lluvia que con las descargas de aguas residuales.

3.5 Evaluación del riesgo ambiental

Los valores de CE_{50} que se utilizaron para el cálculo se presentan en la Tabla 7. Cabe mencionar que estos valores fueron también utilizados por Camacho-Muñoz et al. (2010b) y Stasinakis et al. (2011), quienes eligieron el valor más bajo después de realizar una revisión bibliográfica sobre la toxicidad aguda de estos compuestos. De acuerdo a los cocientes de riesgo obtenidos (Tabla 7), todos los compuestos estudiados presentan un alto riesgo a organismos acuáticos, con excepción de la CAF y el KFN. El IBF resultó no ser una amenaza para los crustáceos pero si para peces y algas. El TCSM no fue detectado en ninguna de las muestras, por esa razón aparece como no detectado (ND), sin embargo no podemos excluirlo totalmente, quizá se encuentre en concentraciones más bajas por debajo de límite de detección del equipo.

También se debe considerar que el riesgo ambiental se calculó para cada compuesto individual, cuando realmente estos compuestos se encuentran en el ambiente en forma de mezclas. Si nos basamos en este hecho, existen estudios que han demostrado que la toxicidad para los organismos acuáticos puede estar ocurriendo en concentraciones ambientales relevantes debido a los efectos combinados y sinérgicos (Pomati, et al., 2008; Quinn, et al., 2009).

Tabla 7: Valores de CE_{50} y la relación de las MEC en el ambiente con CPNE de los compuestos de interés encontrados en las muestras.

Compuestos	$CE_{50} \mu\text{g L}^{-1}$			MEC/PNEC		
	Peces	Crustáceos	Algas	Peces	Crustáceos	Algas
IBF	5000	9060	4000	1.25	0.69	1.5
NP	128	85	56.3	36.04	54.27	81.94
CAFEINA	87000	182000	100000	0.04	0.02	0.03
NPX	34000	15000	22000	1.24	2.83	1.93
TCSM	260	390	1.4	ND	ND	ND
BPA	4600	390	2730	2.13	2.83	1.93
KFN	32000	248000	164000	0.24	0.03	0.04

Donde: IBF= ibuprofeno, NP= nonilfenol, CAF= cafeína, NPX= naproxeno, BPA= bisfenol A, KFN= ketoprofeno, pH= potencial de hidrogeno, Turb= turbidez, T= temperatura, Cond= conductividad, OD= oxigeno disuelto, SST= sólidos suspendidos totales, DQO= demanda química de oxigeno, COT= carbón orgánico total, CE_{50} = concentración efectiva, MEC= concentración encontrada en el ambiente y PNEC= concentración prevista que aun no causa ningún efecto.

4 Conclusiones

El estudio realizado demostró la presencia de ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno, nonil fenol, bisfenol A y cafeína en dos de los principales ríos de la ciudad Tapachula Chiapas, México, siendo éstos una vía de aportación de estos micro-contaminantes al océano pacífico. También se confirmó la presencia de estos compuestos en una de las lagunas costeras (Barra San Simón), que es parte de la reserva la biosfera “La encrucijada”. El análisis estadístico de los datos, confirmó que la presencia y las altas concentraciones de los compuestos de interés en el medio acuático están relacionadas con las descargas de aguas residuales. Por otro lado, en el efluente de la PTAR aun existe la presencia de estos compuestos farmacéuticos, por lo tanto no se puede garantizar la ausencia de un posible riesgo ambiental que este pueda causar. Las concentraciones encontradas son mayores a las reportadas por otros autores de diferentes países, por lo que la evaluación del riesgo utilizando cocientes de riesgo, mostró que la presencia de estos compuestos, con excepción de la cafeína y el ketoprofeno, presenta un posible riesgo para los organismos acuáticos.

Referencias

- APHA (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Port City Press, Baltimore, Maryland, USA
- Arditsoglou A, Voutsas D (2010) Partitioning of endocrine disrupting compounds in inland waters and wastewaters discharged into the coastal area of Thessaloniki, Northern Greece. *Environ Sci Poll Res* 17:529-538
- Barceló LD y López MJ (2007) Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Fundación Nueva Cultura del Agua. Panel científico- técnico de seguimiento de la política de aguas. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales- CSIC (Barcelona)
- Benz D, Paxéus NA, Ginn TR, Loge FJ (2005) Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden. *J Hazard Mat* 122:195-204
- Birkett JW and Lester JN (2003) Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes, CRC Press LLC
- Buchberger WW (2007) Novel analytical procedures for screening of drug residues in water, waste water, sediment and sludge. *Anal Chim Acta* 593:129-139
- Cahill JD, Furlong E, Burkhardt MR, Kolpin D, Anderson LG (2004) Determination of pharmaceutical compounds in surface-and ground-water samples by solidphase extraction and high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1041:171-180

- Camacho-Muñoz D, Martín J, Santos JL, Aparicio I, Alonso E (2009) An affordable method for the simultaneous determination of the most studied pharmaceutical compounds as wastewater and surface water pollutants. *J Sep Sci* 32: 3064-3073
- Camacho-Muñoz MD, Santos JL, Aparicio I, Alonso E (2010a) Presence of pharmaceutically active compounds in Doñana Park (Spain) main watersheds. *J Hazard Mater* 177:1159-1162
- Camacho-Muñoz MD, Martín J, Santos JL, Aparicio I, Alonso E (2010b) Occurrence, temporal evolution and risk assessment of pharmaceutically active compounds in Doñana Park (Spain). *J Hazard Mater* 183:602-608
- Comeau F, Surette C, Brun GL, Losier R (2008) The occurrence of acidic drugs and caffeine in sewage effluents and receiving waters from three coastal watersheds in Atlantic Canada. *Sci of the Total Environ* 396: 132-146
- Corcoran J, Winter MJ, Tyler CR (2010) Pharmaceuticals in the aquatic environment: A critical review of the evidence for health effects in fish. *Crit Rev Toxicol* 40:287-304. doi:10.3109/10408440903373590
- Costanzo S, Murby J, Bates J (2005) Ecosystem response to antibiotics entering the aquatic environment. *Mar Pollut Bull* 51:218-223
- Díaz-Cruz MS, Barceló D (2005) LC-MS² trace analysis of antimicrobials in water, sediment and soil. *Trends Anal Chem* 24:645-657
- Durán-Álvarez JC, Becerril-Bravo E, Castro VS, Jiménez B, Gibson R (2009) The analysis of a group of acidic pharmaceuticals, carbamazepine, and potential endocrine disrupting compounds in wastewater irrigated soils by gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta* 78: 1159-1166

- European Union (2001) Decision No 2455/2001/EC of the European Parliament and of the council of 20 November 2001 establishing the list of priority substances in the field of water policy and amending directive 2000/60/EC, Off. J. L331, 15/12/2001
- European Union (2003) Technical Guidance Document on Risk Assessment (Part II), European Chemicals Bureau
- Filali-Meknassi Y, Tyagi RD, Surampalli RY, Barata C, Riva C (2004) Endocrine disrupting compounds in wastewater, sludge treatment processes and receiving waters: overview. *Pract Period Hazard Tox Radio Waste Manag*, 8:1-18
- Garcia-Galan MJ, Diaz-Cruz MS, Barcelo D (2011) Occurrence of sulfonamide residues along the Ebro river basin: removal in wastewater treatment plants and environmental impact assessment. *Environ Int* 37:462-473
- Gómez MJ, Martínez Bueno MJ, Lacorte S, Fernández-Alba AR, Agüera A (2007) Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in sewage treatment plant located on the Mediterranean coast. *Chemosphere* 66:993-1002
- Gros M, Petrovic M, Ginebreda A, Barcelo D (2010) Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environ Int* 36:15-26
- Heberer T (2002) Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicol Lett* 131:5-17
- Jonkers N, Kohler HPE, Dammshäuser A, Giger W (2009) Mass flows of endocrine disruptors in the Glatt River during varying weather conditions. *Environ Poll* 157:714-723

- Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale RM, Guwy AJ (2008) The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales. *UK Water Res* 42:3498-3518
- Kim Y, Choi K, Jung J, Park S, Kim PG, Park J (2007) Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea. *Environ Int* 33:370-375
- Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT (2002) Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in U.S. Streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ Sci Technol* 36:1202-1211
- Kümmerer K (2001) Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review. *Chemosphere* 45:957-969
- Lindberg RH, Bjorklund K, Rendahl P, Johansson MI, Tysklind M, Andersson BAV (2007) Environmental risk assessment of antibiotics in the Swedish environment with emphasis on sewage treatment plants. *Water Res* 41:613-619
- Möder M, Braun P, Lange F, Schrader S, Lorenz W (2007) Determination of endocrine disrupting compounds and acidic drugs in water by coupling of derivatization, gas chromatography and negative-chemical ionization mass spectrometry. *Clean* 35:444-451
- Metcalf CD, Beddows PA, Gold BG, Metcalfe TL, Li H, Lavieren HV (2011) Contaminants in the coastal karst aquifer system along the Caribbean coast of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Environ Pollut* 159:991-997
- Moffat AC, Osselton MD, Widdop B (2004) Clarke's analysis of drugs and poisons. Pharmaceutical Press, London, UK.

- Petrovic M, Hernando M D, Diaz-Cruz M S, Barcelo D (2005) Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *J Chromatogr A* 1067: 1-14
- Pomati F, Orlandi C, Clerici M, Luciani F, Zuccato E (2008) Effects and interactions in an environmentally relevant mixture of pharmaceuticals. *Toxicol Sci* 102:129-137
- Pothitou P, Voutsas D (2008) Endocrine disrupting compounds in municipal and industrial wastewater treatment plants in Northern Greece. *Chemosphere* 73:1716-1723
- Quinn B, Gagné F, Blaise C (2009) Evaluation of the acute, chronic and teratogenic effects of a mixture of eleven pharmaceuticals on the cnidarian, *Hydra attenuate*. *Sci Total Environ* 407:1072-1079
- Samaras VG, Thomaidis NS, Stasinakis AS, Gatidou G, Lekkas TD (2010) Determination of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs in wastewater by gas chromatography–mass spectrometry. *Int J Environ Anal Chem* 90:219-229
- Samaras VG, Thomaidis NS, Stasinakis AS, Lekkas TD (2011) An analytical method for the simultaneous trace determination of acidic pharmaceuticals and phenolic endocrine disrupting chemicals in wastewater and sewage sludge by gas chromatography–mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 399:2549-2561
- Shore LS, Shemesh M (2003) Naturally produced steroid hormones and their release into the environment. *Pure Appl Chem* 75:1859-1871
- Siemens J, Huschek G, Sieb C, Kaupenjohann M (2007) Concentrations and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system, México City–Mezquital Valley. *Water Res* 42:2124-2134

- Staples CA, Dorn PB, Klecka GM, O'Block ST, Haris LR (1998) A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere* 36:2149–2173
- Stasinakis AS, Gatidou G, Mamais D, Thomaidis NS, Lekkas TD (2008) Occurrence and fate of endocrine disrupters in Greek sewage treatment plants. *Water Res* 42:1796-1804
- Stasinakis AS, Mermigka S, Samaras VG, Farmaki E, Thomaidis NS (2011) Occurrence of endocrine disrupters and selected pharmaceuticals in Aisonas River (Greece) and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environ Sci Pollut Res*. doi: 10.1007/s11356-011-0661-7
- Taxe-Wuersch A, De Alencastro LF, Grandjean D, & Tarradellas J (2005) Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Res* 39:1761-1772
- Ternes TA (1998) Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res* 32:3245-3268
- Verlicchi P, Galletti A, Petrovic M, Barcelo D (2010) Hospital effluents as a source of emerging pollutants: an overview of micropollutants and sustainable treatment options. *J Hydrol* 389:416-428
- Vulliet E, Cren-Olivé C (2011) Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. *Environ Pollut* 30:1-6. doi:10.1016/j.envpol.2011.04.033
- Ye Z, Weinberg HS, Meyer MT (2007) Trace analysis of trimethoprim and sulfonamide, macrolide, quinolone, and tetracycline antibiotics in chlorinated drinking water using liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 79:1135-1144

Zhou JL, Zhang ZL, Banks E, Grover E, Jiang JK (2009) Pharmaceutical residues in wastewater treatment works effluents and their impact on receiving river water. *J Haz Mater* 166:655–661