

RESUMEN EXTENDIDO

MONITOREO DE FÁRMACOS EN SEDIMENTOS UTILIZANDO METODOS ELECTROQUÍMICOS: DESAFIOS EN EL PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

García, Tomás Andrés¹

¹Laboratorio de Sensores y Biosensores, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas,
Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina
Directora: Kergaravat, Silvina Vanesa
Codirectora: Hernández, Silvia Raquel

Área: Ciencias Naturales

Palabras claves: paracetamol, QuEChERS, voltimetría de onda cuadrada

INTRODUCCIÓN

La presencia de productos farmacéuticos (PF) en el ambiente es un problema común, siendo frecuente su detección en el medio acuático. A diferencia de otras clases de contaminantes de preocupación emergente, los PF están diseñados estructuralmente para maximizar su actividad biológica en concentraciones bajas. Los PF que se adsorben en los sedimentos tienden a resistir posibles procesos de degradación, resultando en un medio importante donde se concentran y se favorece la mayor persistencia de los mismos. El paracetamol (PAR) representa uno de los PF detectados con mayor frecuencia en aguas superficiales, aguas residuales y agua potable (Nunes, 2020). Es utilizado por millones de pacientes en todo el mundo y su consumo se incrementó en 2020 durante la pandemia derivada de la enfermedad causada por el virus SARS-CoV-2 (COVID-19). En Argentina, el PAR ocupó el número 16 en la lista de medicamentos más consumidos hasta agosto de 2022, según informa el Instituto Nacional de Servicios Sociales para Jubilados y Pensionados (2022). Además, fue ampliamente recomendado para el tratamiento del cuadro clínico de Dengue durante el brote de 2023-2024 por diversos organismos estatales y privados.

OBJETIVOS

- Profundizar los conocimientos sobre la extracción de analitos a partir de matrices sólidas complejas como son los sedimentos.
- Seleccionar un fármaco de estudio teniendo en cuenta el nivel de consumo en Argentina y la frecuencia en la que se detectan los mismos en sedimentos.
- Optimizar la detección del fármaco con técnicas electroquímicas sencillas y sensibles como alternativa a los métodos cromatográficos convencionales.

Título del proyecto: DESARROLLO DE UN DISPOSITIVO ELECTROQUIMICO/OPTICO BASADO EN PAPEL PARA LA DETECCION DE ANTIBIOTICOS EN ECOSISTEMAS ACUATICOS Y EN LAGUNAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES URBANAS Instrumento: PICT

Año convocatoria: 2022

Organismo financiador: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. FONCyT.

Director/a: Kergaravat, Silvina Vanesa



METODOLOGÍA

Se realizó una revisión bibliográfica evaluando fármacos de alto consumo en nuestro país, considerando la presencia de estos fármacos en sedimentos y cuerpos de agua dulce, el comportamiento electroquímico de los mismos, y los antecedentes del grupo de trabajo en esta temática.

Se utilizaron dos muestras de sedimento provenientes de la laguna de la Reserva Ecológica Ciudad Universitaria – UNL (Figura 1). Esta constituye un área presumiblemente no contaminada debido a que se encuentra aislada de otros cuerpos de agua y carece de puntos de descarga de cualquier tipo de efluente.

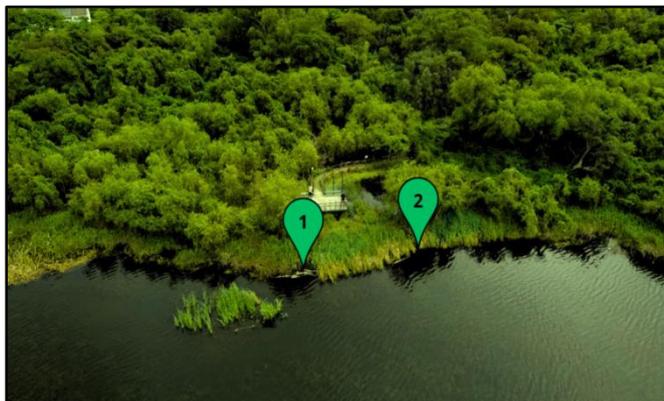


Figura 1: Imagen aérea de la zona de muestreo en donde se señalan los sitios de muestreo 1 y 2.

Etapas de extracción

Se realizó una revisión bibliográfica para evaluar las distintas técnicas de extracción de fármacos a partir de sedimentos. Se seleccionó la metodología basada en el enfoque QuEChERS (en inglés para Rápido, Fácil, Económico, Efectivo, Robusto y Seguro) utilizada por llechukwu y col. (2021) modificada: en tubos de centrífuga se colocó 1 g de sedimento enriquecido y se añadieron 5 mL de solución extractiva con 0,1 g de EDTA disódico; se agitó manualmente por 30 segundos y luego en vórtex a 1800 rpm por 1 min; se llevaron a baño de ultrasonido a 50°C por 30 min y finalmente se centrifugaron a 3000 rpm por 10 min. A partir de este procedimiento se evaluaron diferentes soluciones extractivas: buffer de fosfato 0,14 M pH = 7 con acetonitrilo (50/50); buffer citrato-fosfato 0,1 M con NaCl 0,1 M pH = 5 (buffer de trabajo) con acetonitrilo (50/50) y sin acetonitrilo; y agua destilada.

Etapas de limpieza y preconcentración del extracto

Se realizó una extracción en fase sólida (SPE) como método de limpieza y preconcentración a los extractos obtenidos en la etapa anterior. Se realizó una SPE acorde al procedimiento estándar para cartuchos de fase reversa (Welch Materials, 2011). Esta etapa consistió en pasar un volumen conocido de la solución a tratar por el cartucho aplicando vacío. Previo al procesamiento se acondicionó el cartucho con HCl 0,01 M y metanol, todas las soluciones a procesar se llevaron a pH = 2 mediante el agregado de HCl 1 M y se filtraron con papel de filtro cualitativo de celulosa de 11 µm de tamaño de poro y con filtros de polipropileno de 0,45 µm de tamaño de poro. La elución del analito se realizó con metanol, que se evaporó y se reconstituyó en un volumen determinado de buffer de trabajo.

Etapas de determinación electroquímica

Para la detección del fármaco se utilizó la metodología desarrollada por Kergaravat y col. (2023) para la determinación de PAR, la cual consistió en una voltametría de onda cuadrada (VOC) considerando como señal analítica al pico de intensidad de corriente (IC) de oxidación del PAR. Los parámetros de la técnica fueron: rango de potencial entre 200 y 700 mV, potencial de paso = 4 mV, amplitud de potencial = 25 mV y frecuencia = 15 Hz. Esta se llevó a cabo colocando 60 µL de la solución a medir sobre un electrodo comercial impreso (*screen-printed electrode* DRP-110) adquiridos en Metrohm DropSens (Buenos Aires),

conectado a un analizador voltamétrico *Epsilon BAS analyzer* (Bioanalytical Systems Inc., West Lafayette, IN, USA). El medio optimizado para las mediciones consistió en el buffer de trabajo antes mencionado.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Caracterización fisicoquímica de las muestras

Se midió el pH, el potencial rédox y la conductividad de las muestras, se determinó el porcentaje de materia orgánica y se determinaron las fracciones de arcillas, limos y arenas para realizar una clasificación

granulométrica (Tabla 1).

Validación de la VOC

Se prepararon soluciones patrones de PAR en un rango de concentraciones desde 0,5 a 50 mg L⁻¹. Se realizó la determinación electroquímica de las mismas por triplicado registrando la IC en el pico de oxidación a potenciales de (454 ± 24) mV. Se realizó una curva de calibración graficando la IC en función de la concentración de PAR y se obtuvo un coeficiente de determinación (R²) igual a 0,9802 (Figura 2) y una sensibilidad de 0,103 μA mg⁻¹ L⁻¹. Se calculó un LOD de 2,4 mg L⁻¹ y se determinó un rango lineal de 7,3 a 50 mg L⁻¹.

Método QuEChERS

Se evaluaron cuatro soluciones extractivas con el procedimiento seleccionado. La extracción se realizó por triplicado con cada solución utilizando réplicas de sedimento enriquecido con PAR en 150 mg kg⁻¹. De esta forma el resultado de la extracción serían 5 mL de extracto con PAR en 30 mg L⁻¹ considerando una recuperación del 100%. En la Figura 3 se muestran los porcentajes de recuperación obtenidos según: %R = IC de cada solución extractiva / IC del

Tabla 1: Resultados de los parámetros fisicoquímicos para las dos muestras de sedimento.

Parámetros fisicoquímicos	Muestra 1	Muestra 2
pH	6,52	6,74
Potencial rédox (mV)	-222,0	-77,7
Conductividad (μS)	1285	975
Materia orgánica (%)	9,1 ± 0,5	9,0 ± 0,4
Fracción de arcillas (%)	26,2	25,3
Fracción de limos (%)	27,9	24,0
Fracción de arenas (%)	45,9	50,7
Clasificación granulométrica	Franco arcillo arenosa	

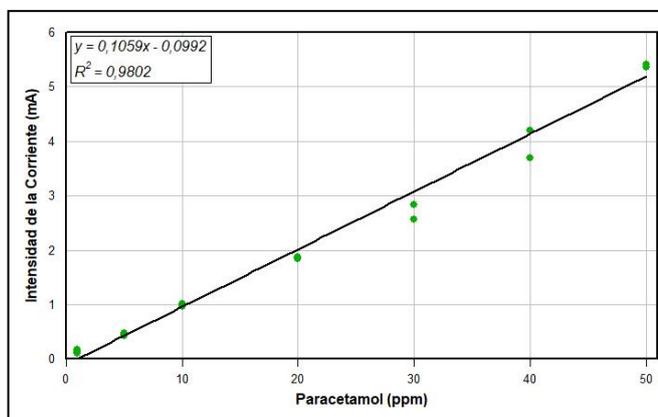


Figura 2: Curva de calibración de PAR, en el recuadro se incluye la ecuación de la recta y el valor de R².

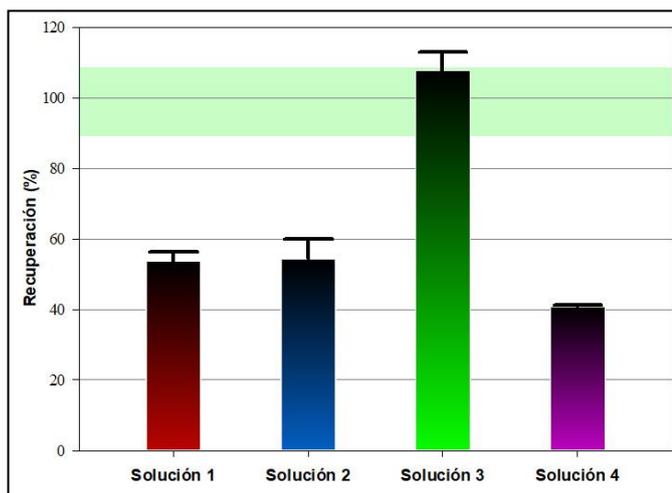


Figura 3: Porcentajes de recuperación obtenidos en cada solución, en verde la franja de recuperación aceptable (AOAC INTERNATIONAL, 2016).

testigo $\times 100$. Se seleccionó la Solución 3 (extracción en buffer de trabajo) como la óptima con una recuperación de $(107 \pm 5) \%$ ($CV = 5\%$, $n = 3$), lo cual permitió simplificar el proceso y no requerir de reactivos adicionales.

Técnica SPE

Se evaluó la técnica como método de limpieza de los extractos obtenidos en la etapa anterior. Se procesó 1 mL del extracto con 1 mL de un patrón de PAR a 30 mg L^{-1} en agua destilada, recuperando 1 mL de solución al final del procedimiento. Se obtuvo una recuperación de $(93 \pm 10) \%$ ($CV = 11\%$; $n = 3$). A partir de este resultado se evaluó la técnica como método de limpieza y preconcentración con un factor = 10. Se procesaron 5 mL de un extracto obtenido del método QuEChERS a partir de sedimento enriquecido con PAR en 15 mg kg^{-1} y se recuperaron 0,5 mL de solución al final del procedimiento, obteniendo una recuperación de $(89 \pm 16) \%$ ($CV = 18\%$; $n = 3$).

En síntesis se logró optimizar un método simple y efectivo para la extracción de PAR acoplado a su detección mediante una técnica electroquímica a partir de muestras de sedimento enriquecido hasta 15 mg kg^{-1} . Este procedimiento es compatible con la química verde ya que no requiere de utilizar volúmenes importantes de solventes orgánicos y es una alternativa rápida, económica y potencialmente portable a la tradicional determinación de fármacos mediante métodos cromatográficos.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

AOAC INTERNATIONAL, 2016. Guidelines for Standard Method Performance Requirements. Disponible en: [app_f.pdf \(aoac.org\)](#)

Ilechukwu, I.; Okonkwo, C. J.; Olusina, T. A.; MPOCK, J. A.; Ilechukwu, C., 2021. Occurrence and risk assessment of selected pharmaceuticals in water and sediments of Usuma Dam, Abuja, Nigeria. International Journal of Environmental Analytical Chemistry. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/03067319.2021.1928099>

Instituto Nacional de Servicios Sociales para Jubilados y Pensionados, 2022. *Listado de los medicamentos más consumidos*. Ministerio de Salud de la Nación. [Datos Argentina - Listado de los medicamentos más consumidos](#)
Acceso: 02/07/2024

Kergaravat, S. V.; Schmuck, J.; Wagner, G.; Gimenez, L.; Romero, N.; RENO, U.; Polla, W.; Hernández, S.; Gagneten A. M., Regaldo, L., 2023. Evaluation of Pharmaceutical Products in an Urban Wastewater Treatment Plant in Argentina. SETAC Latin America 15th Biennial Meeting, Montevideo, Uruguay.

Nunes, B., 2020. Ecotoxicological Effects of the Drug Paracetamol: A Critical Review of Past Ecotoxicity Assessments and Future Perspectives. En: Gómez-Oliván, L.M.; Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Water. The Handbook of Environmental Chemistry, vol 96. Disponible en: https://doi.org/10.1007/698_2020_546

Sestili, P.; Fimognari, C., 2020. Paracetamol-Induced Glutathione Consumption: Is There a Link With Severe COVID-19 Illness?. Frontiers in Pharmacology. DOI: 10.3389/fphar.2020.579944

Welch Materials, 2011. SPE - Quality, Innovation, Competitive Price. Disponible en: www.welch-us.com

