



Universidad de Chile
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Departamento de Química Inorgánica y Analítica
Laboratorio de Química Ambiental

Estudio del efecto de la incorporación de biosólidos sobre la movilidad de Antiinflamatorios no Esteroidales en suelos de la Región Metropolitana

Memoria para optar al Título de Químico

Natalia Ximena Morales Núñez

Patrocinante y Director de Memoria:

Dra. María Loreto Ascar Estay

Santiago, Chile.

2012.

Agradecimientos

En primer lugar agradezco a Dios por su infinito amor, apoyo y compañía durante toda mi vida, en especial en esta etapa que termina.

A mi amada Madre, por su esfuerzo y dedicación, por levantarme en momentos de desánimos, por iluminarme en los momentos de mayor agobio durante este largo camino, por inculcarme desde pequeña el valor del estudio y principalmente por su amor incondicional. Sin ella nada hubiera sido posible.

A mis hermanos Felipe y Verónica por su apoyo y amor a prueba de todo, gracias por soportarme, escucharme, hacerme reír, por estar cuando más los he necesitado. Verónica, te agradezco el mejor regalo que me pudiste dar iniciando mi carrera, mi sobrino Ignacio, la luz del hogar y el amor de nuestras vidas.

A mi Directora de Tesis Dra. Loreto Ascar por confiar en mi desde el día uno, por darme todas la herramientas necesarias para poder terminar este trabajo con éxito, por su buen humor siempre, por su cariño y afecto.

A los profesores del Laboratorio Inés Ahumada y Pablo Richter, por estar siempre dispuestos a resolver dudas y por aportar en gran manera a mi formación académica.

A Claudio y Cristina por apoyarme, enseñarme y ayudarme siempre en todo lo que necesité durante este proceso.

A todos mis compañeros de Laboratorio por hacerme los días de trabajo mucho mas entretenidos y por su gran voluntad de ayudar siempre.

A mi amiga Carolina, por estar siempre dispuesta a escuchar, por creer en mí y en mis capacidades, por distraerme cuando lo necesité y brindarme su amistad pese al tiempo y la distancia.

A los amigos y compañeros que gané en esta linda etapa Universitaria que de una u otra forma han contribuido a que su culminación sea posible con éxito.

Al Proyecto FONDECYT N° 11090287 por el financiamiento que hizo posible esta investigación.

Resumen

En la actualidad, existen diversas plantas de tratamiento de aguas servidas, cuyos residuos, los biosólidos, pueden ser usados como fertilizantes complementarios y/o remediadores de suelos. Sin embargo, éstos pueden contener diversos tipos de contaminantes como metales traza, compuestos orgánicos e inorgánicos y compuestos de origen farmacéuticos.

El organismo es capaz de metabolizar un porcentaje importante de los fármacos ingeridos, mientras que el restante se excreta junto con los metabolitos resultantes de la digestión del fármaco a las aguas. Este hecho, puede afectar al medio ambiente, debido al fenómeno de bioacumulación y toxicidad del fármaco, convirtiéndolo en un contaminante emergente.

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), son drogas ampliamente utilizadas por el ser humano debido a sus efectos antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos, razón por la cual su incidencia en el medio ambiente es cada vez mayor.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la incorporación de biosólido sobre la movilidad de antiinflamatorios no esteroideos en suelos de la Región Metropolitana.

Se utilizaron dos suelos provenientes de la Región Metropolitana (Linderos y Lonquén) y un biosólido proveniente de una planta de tratamiento de aguas servidas de la misma región.

La movilidad de antiinflamatorios en los suelos se estudió utilizando columnas de lixiviación divididas en secciones de 2 cm de alto cada una (sección superior con biosólido en dosis de 0 y 200 ton/ha y 0,5 mL de multiestándar de 2,4 mg/L (equivalente a 200 µg/kg de suelo), las 4 secciones siguientes se rellenan con suelo y la última sección rellena con arena de cuarzo). Las columnas fueron regadas diariamente con 3 mL de CaCl₂ 0,5M para simular la fuerza iónica de la fase acuosa del suelo, se mantuvieron a temperatura ambiente durante 15 días. Al finalizar este período, las porciones de cada sección de la columna se sometieron a un procedimiento de extracción secuencial asistida

por ultrasonido: 20 mL metanol, 10 mL metanol, 2 x 10 mL acetona, considerando un tiempo de 5 min de ultrasonido en cada extracción; los sobrenadantes se evaporaron hasta 1mL y se diluyeron a 100 mL con agua milli Q, para luego someterlos a limpieza mediante extracción en fase sólida con cartridge OASIS HLB.

La presencia de antiinflamatorios en los extractos de cada sección de la columna se determinó mediante HPLC con detector de arreglo de diodos, trabajando con una columna C18 (5 µm; 250 mm x 4,6 mm), utilizando como fase móvil una mezcla de acetonitrilo con fosfato diácido de potasio 50 mM a pH 4,2-4,5 a un flujo de 1 mL/min.

En las columnas de lixiviación con suelos sin enmienda de biosólido, fue posible la determinación de ketoprofeno, naproxeno e ibuprofeno, los que se encontraron en las primeras fracciones del suelo.

La aplicación de biosólido sobre los suelos incrementó el contenido de ibuprofeno en la primera fracción de las columnas, indicando que la aplicación de biosólido favorecería su retención en la capa superior.

Los microorganismos del suelo cumplen un rol importante sobre la degradación de los analitos, pues en suelos esterilizados, se apreció una mayor recuperación de éstos.

Summary

“Study of the effect the biosolids incorporation in the mobility of non-steroidal anti-inflammatory in soils of the Región Metropolitana”

Currently, there are various wastewater treatment plants whose stabilized waste or biosolids, can be used as fertilizers complementary and / or to improving soil. However, they may contain different types of contaminants such as, trace metals, inorganic and organic compounds as pharmaceutical derived compounds.

The organism is capable of metabolizing a large percentage of ingested drugs, while the remainder is excreted with the metabolites resulting from the digestion of the drug to water. This fact can affect the environment, due to bioaccumulation and drug toxicity, making this an emerging contaminant.

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are drugs widely used by humans, due to its anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects, which is why its impact on the environment is growing.

The aim of this work was to study the effect of the biosolids incorporation on the NSAIDs mobility from Región Metropolitana soils.

Two soils from the Región Metropolitana (Linderos and Lonquén) and biosolids from a wastewater treatment plants from the Región Metropolitana were used.

Antiinflammatory mobility in soil was studied using leaching columns divided into sections of 2 cm high each (upper section with the biosolids in doses of 50, 100 and 200 ton/ha and antiinflammatory solution of 200 mg/L, the following 4 sections are filled with soil and the last section filled with quartz sand). The columns were watered daily with 3 mL of 0.5 M CaCl_2 to simulate the ionic strength of the soil aqueous phase, kept at room temperature for 15 days. After this period, the portions of each section of the column were subjected to a sequential extraction procedure assisted by Ultrasound: 20 mL methanol, 10 mL methanol, 2 x 10 mL acetone, 5 min of ultrasound between each extraction, the supernatants evaporated to 1 mL and diluted to 100 mL with Milli Q water and then submit them to cleanup by solid phase extraction with OASIS HLB Cartridge.

The presence of NSAIDS in each extracts from section of the column was determined by HPLC with diode array detector, working with a C18 column (5 μ m, 250 mm x 4.6 mm) using as mobile phase a mixture of acetonitrile with potassium dihydrogen phosphate 50 mM at pH 4.2 to 4.5 at a flow rate of 1 mL/min.

In the leaching columns with soils without biosolid amendment, it was possible the determination of ketoprofen, naproxen and ibuprofen, which were found in the soil first fraction.

The biosolid application on soils increased, the ibuprofen content, in the first fraction of the column, indicating that the application of biosolids favored the retention in the top layer.

Soil microorganisms played an important role on the analytes degradation, since in the absence of these (sterilized soil) was showing a greater recovery of these.

Tabla de contenidos

1. Introducción	14
2. Objetivos:	24
2.1. Objetivo General	24
2.2. Objetivos Específicos.....	24
3. Materiales y métodos	25
3.1. Descripción de muestras	25
3.1.1. Suelos	25
3.1.1.1. Linderos	25
3.1.1.2. Lonquén.....	25
3.1.2. Biosólido	25
3.2. Caracterización de suelos y biosólido	26
3.2.1. Determinación de pH	26
3.2.2. Determinación del contenido de Materia Orgánica (MO)	26
3.2.3. Determinación de Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC).....	26
3.2.4. Determinación del contenido total de Cinc, Cobre, Plomo, Níquel, Cromo y Cadmio.....	27
3.3. Cuantificación de AINEs mediante cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) con detector de arreglo de diodos (DAD).	27
3.4. Metodología de extracción de AINEs desde suelos y biosólidos.	29
3.4.1. Metodología de Extracción con Solvente Asistida por Ultrasonido.....	29
3.4.2. Metodología Extracción en Fase Sólida con Cartridge OASIS HLB (Clean Up).	29
3.5. Determinación de la capacidad de adsorción de AINEs en los suelos en estudio.	30
3.6. Efecto de la incorporación de distintas dosis de biosólido sobre la movilidad de AINEs en los suelos en estudio.	31
3.7. Efecto de la incorporación de biosólidos sobre la movilidad de AINEs en suelos tratados con autoclave.	32
4. Resultados y Discusión.	33

4.1.	Caracterización de suelos y biosólido	33
4.2.	Cuantificación de AINEs mediante cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).	34
4.3.	Extracción de AINEs desde suelos y biosólidos.	46
4.4.	Capacidad de adsorción de AINEs en los suelos en estudio.	47
4.5.	Estudio del efecto de la incorporación de distintas dosis de biosólido sobre la movilidad de AINEs en suelos Linderos y Lonquén.	50
4.6.	Estudio del efecto de la incorporación de biosólidos sobre la movilidad de AINEs en suelos con autoclave.	60
5.	Conclusiones.....	67
6.	Bibliografía	69
7.	Anexos	72

Índice de Figuras

Figura 1: Esquema convencional del Proceso de Tratamiento de Aguas Servidas	16
Figura 2: Estructura de Ibuprofeno. Ácido (RS)-2-(4-isobutilfenil)propanoico	20
Figura 3: Estructura de Naproxeno. Ácido (S)-2-(6-metoxi-2-naftil)propanoico	21
Figura 4: Estructura de Ketoprofeno. Ácido 2-(3-benzoilfenil)propanoico.....	21
Figura 5: Estructura de Diclofenaco. Ácido 2-{2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}acético	21
Figura 6: Principales reacciones de los contaminantes o compuestos en el perfil del suelo	22
Figura 7: Montaje y relleno de columnas de lixiviación	31
Figura 8: Cromatograma obtenido trabajando con acetonitrilo: KH ₂ PO ₄ en proporción 50:50 % (v/v), en condiciones isocráticas con flujo 1 mL/min y detección UV: 220 nm.....	34
Figura 9: Espectro de absorción de estándar de 10 mg/L de Ketoprofeno.	35
Figura 10: Espectro de absorción de estándar de 10 mg/L de Naproxeno.....	35
Figura 11: Espectro de absorción de estándar de 10 mg/L de Diclofenaco.....	36
Figura 12: Espectro de absorción de estándar de 10 mg/L de Ibuprofeno.....	36
Figura 13: Composición del Copolímero OASIS HLB.....	39

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Concentración total de Cu, Zn, Ni, Pb, Cr y Cd en los suelos y Biosólido (Anexo Tabla A1)	33
Gráfico 2: Porcentaje de recuperación de distintos fármacos con y sin ajuste de pH.....	39
Gráfico 3: Porcentaje de Recuperación con distintos solventes.....	41
Gráfico 4: Curva de calibración estándar vs curva de calibración en matriz de suelo Lonquén (A: Naproxeno, B: Ketoprofeno, C: Diclofenaco, D: Ibuprofeno) (Anexo Tabla A2).....	44
Gráfico 5: Curva de calibración estándar vs curva de calibración en matriz de suelo Linderos (A: Naproxeno, B: Ketoprofeno, C: Diclofenaco, D: Ibuprofeno) (Anexo Tabla A3).....	45
Gráfico 6: Isotermas de adsorción de AINEs en suelo Linderos (Anexo Tabla A4)	48
Gráfico 7: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén, 0 (t/ha) biosólido).....	50
Gráfico 8: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén 200 (t/ha) biosólido).....	51
Gráfico 9: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Linderos 0 (t/ha) biosólido)	52
Gráfico 10: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Linderos 200 (t/ha) biosólido)	53
Gráfico 11: Degradación de AINEs en suelos incubados bajo distintas condiciones.....	54
Gráfico 12: Movilidad de AINEs en columnas de lixiviación (Lonquén esterilizado, 0 (t/ha) biosólido)	60
Gráfico 13: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén esterilizado, 200 (t/ha) biosólido)	61
Gráfico 14: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Linderos con autoclave, 0 (t/ha) biosólido)	62
Gráfico 15: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Linderos con autoclave, 200 (t/ha) biosólido)	63
Gráfico 16: Efecto de Biosólidos sobre la disipación de Naproxeno en Suelo	65

Índice de Tablas

Tabla 1: Características farmacocinéticas de los AINEs.	20
Tabla 2: Procedimiento de Extracción por Solvente Asistida por Ultra Sonido	29
Tabla 3: pH, Contenido Materia Orgánica y Capacidad de Intercambio Catiónico en suelos Lonquén, Linderos y Biosólido	33
Tabla 4: Tiempo de Retención y Longitudes de Ondas de los analitos en estudio	37
Tabla 5: Límites de detección y cuantificación para Ketoprofeno, Naproxeno, Diclofenaco e Ibuprofeno en metanol.....	42
Tabla 6: Concentración y recuperación de antiinflamatorios en estudios con metanol	42
Tabla 7: Repetibilidad de antiinflamatorios en soluciones acuosas enmendadas con 5 y 10 mg/L de cada AINE.	43
Tabla 8: Recuperación del método de Extracción por Solvente Asistida con Ultrasonido	47
Tabla 9: pKa y peso molecular de los AINEs estudiados	49
Tabla 10: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén, 0 (t/ha) biosólido)	50
Tabla 11: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Lonquén (0 (t/ha) de biosólido)	50
Tabla 12: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén 200 (t/ha) biosólido)	51
Tabla 13: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Lonquén (200 (t/ha) de biosólido)	51
Tabla 14: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Linderos 0 (t/ha) biosólido)	52
Tabla 15: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Linderos (0 (t/ha) de biosólido)	52
Tabla 16: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Linderos 200 (t/ha) biosólido)	53
Tabla 17: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Linderos (200 (t/ha) de biosólido)	53
Tabla 18: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén esterilizado, 0 (t/ha) biosólido)	60
Tabla 19: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Lonquén esterilizado (0 (t/ha) de biosólido)	60

Tabla 20: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén esterilizado, 200 (t/ha) biosólido)	61
Tabla 21: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Lonquén esterilizado (200 (t/ha) de biosólido)	61
Tabla 22: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Linderos con autoclave, 0 (t/ha) biosólido)	62
Tabla 23: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Linderos esterilizado (0 (t/ha) de biosólido)	62
Tabla 24: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Linderos con autoclave, 200 (t/ha) biosólido)	63
Tabla 25: Porcentaje de AINEs encontrado lixiviado en la columna para el suelo Linderos esterilizado (200 (t/ha) de biosólido)	63

Indice de Anexos

TABLA A 1: Contenido de metales traza en suelo Linderos, suelo Lonquén y en biosólido.	72
TABLA A 2: Curvas estándar en matriz (1) y en solvente (2) para los cuatro AINEs en el suelo Lonquén (Los datos muestran la lectura de área a distintas concentraciones de AINEs).	72
TABLA A 3: Curvas estándar en matriz (1) y en solvente (2) para los cuatro AINEs en el suelo Linderos (Los datos muestran la lectura de área a distintas concentraciones de AINEs).	73
TABLA A 4: Concentración de AINEs adsorbidos en suelo Linderos.	73

1. Introducción

Uno de los impactos medioambientales más negativos que ha generado el crecimiento explosivo de la Región Metropolitana de Santiago en las últimas décadas, ha sido la contaminación de los cursos de aguas superficiales o subterráneas por el vertimiento de aguas servidas, las que contienen diversos contaminantes como metales traza, contaminantes orgánicos, fármacos, etc. provenientes de descargas de efluentes domésticos e industriales.

El tratamiento de aguas servidas, ha ido tomando relevancia en el país desde hace ya casi 15 años, pues es necesario alcanzar estándares de calidad de vida de países desarrollados, lo cual ha llevado a imponer normas medioambientales más estrictas y en este caso particular, sobre la descarga de aguas servidas en el mar o cursos de aguas superficiales o subterráneas. Esto se puede ver reflejado en que en el año 1998 existían sólo 81 plantas de tratamientos de aguas residuales en Chile, con una cobertura del 16,7% de la población, mientras que en el 2007 se incrementaron a 252 y con una cobertura a nivel país de 82,3%, todo esto, debido a las exigencias de la Norma de Emisión de Residuos Líquidos y la Agenda País (Rámila, 2008).

El Plan de Saneamiento de las Aguas Servidas de la Región Metropolitana tiene por objeto descontaminar el 100% de las aguas generadas por los habitantes de la Cuenca de Santiago. Este plan contempla 3 grandes plantas: El Trebal (2001), La Farfana (2003), las que actualmente están en funcionamiento, y la futura planta Mapocho; además de 13 plantas en localidades periféricas en operación (Aguas Andinas, 2012).

La Planta de Tratamiento de Aguas Servidas "El Trebal" entró en operación a fines del año 2001, tiene una capacidad de proceso de 4,4 m³/s, y su propósito es tratar las aguas servidas correspondientes a aproximadamente un 20% de la población de la zona sur de Santiago, permitiendo mejorar la calidad de vida, el entorno ambiental y la producción agrícola de la zona. La Planta está ubicada en la localidad de El Trebal, situada en el sector norponiente de la comuna de Padre Hurtado, en la ribera norte del río Mapocho. La superficie del terreno es de 90,5 hectáreas, limita al norte, oriente y poniente con una cadena de cerros de mediana altura, en tanto por el sur limita con el río Mapocho. El monto de inversión en la Planta fue de 150 millones de dólares. La zona cuyas aguas

servidas son tratadas corresponde fundamentalmente a la zona sur y sur poniente de Santiago, las que con anterioridad al año 2002 descargaban sin ningún tipo de tratamiento en los ríos Maipo y Mapocho (Rámila, 2008).

En la actualidad, existen diversas Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas, las que generan como resultado del proceso de saneamiento de las aguas, dos productos principales: aguas tratadas y lodos tratados biológicamente o “biosólido”. La operación de la Planta “El Trebal” se inicia con la entrada de agua, la cual se separa de los lodos los cuales son centrifugados, obteniéndose un producto con una humedad cercana al 60% pudiendo ser secados por métodos adicionales como secados solares y térmicos, llevando a este “lodo” a un nivel de humedad de entre 5% y 40% (dependiendo de la tecnología que se use). Este proceso genera una gran cantidad de estos residuos semisólidos, conocido como biosólidos.

La Planta de Tratamiento “El Trebal” tiene la aprobación ambiental para utilizar la tecnología de lodos activados convencionales con digestión anaeróbica de lodos. Como resultado de este proceso de tratamiento de las aguas servidas se producen tres subproductos: a) el agua tratada que, cumpliendo la normativa vigente, se descarga a los cursos naturales de agua, b) los biosólidos, cuyo destino es la disposición en lugares autorizados o su reuso agrícola y, c) biogás, con importante presencia de metano, del cual cerca del 35% se reutiliza internamente y el resto se quema mediante antorchas, convirtiéndolo en dióxido de carbono y agua. (Rámila, 2008).

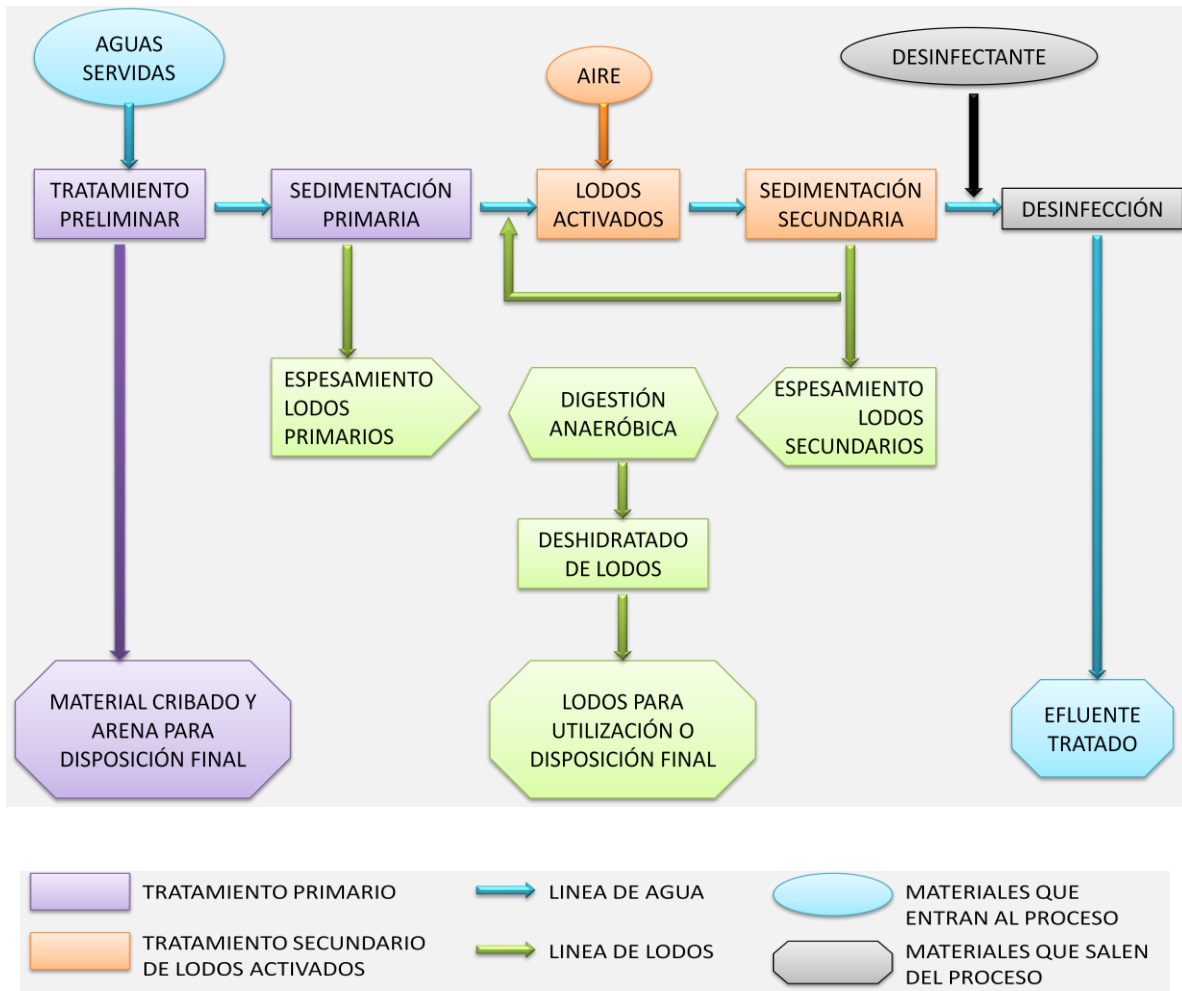


Figura 1: Esquema convencional del Proceso de Tratamiento de Aguas Servidas

Como se esquematiza en la Figura 1, el agua pasa por un tratamiento preliminar que incluye la remoción de sólidos gruesos y arenas mediante baterías de rejillas gruesas y finas, y desarenadores aireados. En el tratamiento primario (sedimentación primaria) el afluente se hace circular a través de estanques de gran tamaño. En ellos, la velocidad del flujo es reducida, de modo que los sólidos sedimentables alcanzan a depositarse sobre el fondo, permaneciendo en suspensión la fracción más fina. El agua proveniente del tratamiento primario es conducida a un estanque de aireación, en donde existen microorganismos que utilizan como alimento la materia orgánica disuelta. El efluente del estanque de aireación consiste de materia en suspensión -compuesta de una gran población de microorganismos- y de un líquido con pocas sustancias orgánicas disueltas. Esta mezcla es enviada a los sedimentadores secundarios, que separan el material suspendido de la fase líquida, generando un lodo secundario. Parte del lodo secundario

es recirculado al estanque de aireación, con el fin de mantener allí una cantidad de biomasa adecuada, el resto del lodo secundario es incorporado a la línea de lodos. El efluente del sedimentador secundario contiene aún microorganismos, siendo posible que algunos sean patógenos. Por lo tanto, se agrega un desinfectante, que en el caso de la Planta de Tratamiento “El Trebal” es cloro gaseoso. Esta mezcla se realiza en los Estanques de mezcla rápida y de contacto con cloro.

Los sólidos removidos en el tratamiento secundario se llevan a espesadores de banda por gravedad, que los concentran a un 5% de materia sólida. Luego los lodos son bombeados a los digestores anaeróbicos, en donde se desarrollan bacterias en un ambiente sin oxígeno disuelto (bacterias anaeróbicas). Ellas consumen la materia orgánica y producen metano y dióxido de carbono. Una fracción del metano producido es utilizada para mantener la temperatura de los digestores a niveles de 35 °C; y la otra es quemada. La humedad de los lodos digeridos (estabilizados) es reducida mediante centrifugación de un 95% a un 75%, aproximadamente. Luego, son vertidas en canchas de secado (secado de lodos al aire libre), que permiten obtener humedades del orden del 35%.

El diseño de la Planta permite el tratamiento físico, biológico y bacteriológico del agua y de los lodos producidos, de tal forma que el agua tratada queda apta para regar todo tipo de cultivos.

Finalmente, los biosólidos obtenidos en la planta, son residuos sólidos, semisólidos o líquidos, ricos en materia orgánica, bacterias, minerales y compuestos químicos, algunos nocivos como el arsénico y el mercurio, y otros muy beneficiosos como el nitrógeno y el fósforo. Estos biosólidos, pueden ser nocivos para la salud por la presencia de residuos químicos, virus y bacterias, que pueden causar enfermedades; es por esto que los biosólidos requieren de un manejo adecuado para prevenir eventuales impactos negativos para la salud humana y para el medio ambiente. A su vez, debido a su alto contenido en materia orgánica, pueden contribuir a mejorar las condiciones físicas de los suelos (Rámila, 2008).

Actualmente, los biosólidos en su mayoría, están siendo llevados principalmente a monorellenos autorizados, lo cuales son usados de forma exclusiva para la disposición final de biosólidos, o rellenos sanitarios en los cuales se codisponen los biosólidos con

residuos sólidos domiciliarios. Esto supone un problema ambiental a corto plazo, ya que acorta la vida útil de los rellenos sanitarios y la disposición de éstos en monorellenos está limitada por la capacidad de éstos.

Para disminuir la acumulación de biosólidos en los vertederos, éstos pueden ser usados como fertilizantes complementarios y/o remediadores de suelos, pues poseen un alto contenido de materia orgánica, los cuales pueden contribuir a mejorar las condiciones físicas de los suelos. El procedimiento consiste en incorporar los lodos al suelo, mediante el uso de equipos adecuados, y así utilizarlos como un abono para enriquecer el suelo de forma tal que aumente la productividad agrícola y forestal, entre otras. Sin embargo, al incorporarlos al suelo, sus posibles contaminantes presentes pueden ser degradados o absorbidos en las capas superficiales de los suelos, o lixiviados a aguas subterráneas.

Por mucho tiempo las investigaciones de contaminación química por compuestos de naturaleza orgánica se han centrado en un grupo de contaminantes de alta prioridad, es decir sobre los contaminantes orgánicos persistentes (COPs), los que actualmente son menos relevantes para países del primer mundo, ya que las emisiones han disminuido debido a políticas ambientales y a la eliminación de las principales fuentes de contaminación. Junto con lo anterior, ha surgido otro grupo de contaminantes de interés (contaminantes emergentes) que a pesar de estar presentes en concentraciones más bajas, podrían tener la capacidad de generar daño debido a su continuo ingreso al medio ambiente, dentro de los cuales se encuentran los compuestos de origen farmacéutico, que ingresan en grandes cantidades al medio ambiente, producto del incremento en el consumo tanto para uso humano, como para prácticas veterinarias. (Jones y col, 2005).

Por otra parte, los compuestos farmacéuticos ingeridos, pueden ser transformados al interior del organismo a uno o más metabolitos y pueden ser excretados, ya sea como los compuestos originales, como sus metabolitos o como una mezcla de éstos. (Perez y Barceló 2007). Tanto los fármacos como sus metabolitos al ser excretados, pueden ingresar al medio acuático y contaminar sedimentos y suelos. Pese a que la cantidad de productos farmacéuticos y sus metabolitos que ingresan al medio ambiente es probablemente baja, su continuo ingreso podría generar acumulaciones en un futuro no muy lejano y provocar efectos adversos tanto en organismos acuáticos como terrestres.

En general, se considera que entre los fármacos, los antibióticos son los de mayor importancia ya que pueden generar una resistencia potencial por parte de los microorganismos (Erickson, 2002). Sin embargo, existen otros compuestos farmacéuticos, especialmente los de carácter polar, como drogas antiinflamatorias ácidas y reguladores de lípidos que merecen especial atención.

Cerca de 30 millones de personas en el mundo consumen diariamente Antiinflamatorios No Esteroidales (AINEs), de los cuales el 40% aproximadamente son mayores de 60 años. En Chile, estos fármacos se expenden sin recetas lo que estimula su abuso (UNIVERSIA, 2009). Este elevado consumo se debe a sus acciones farmacológicas características, que son aliviar el dolor (acción analgésica), reducir la inflamación (acción antiinflamatoria) y reducir la fiebre (acción antipirética).

Los AINEs son un conjunto de fármacos analgésicos. Si bien, la mayoría de los componentes de este grupo comparten las tres acciones que lo definen (analgésica, antitérmica y antiinflamatoria), su eficacia relativa para cada una de ellas puede ser diferente. Asimismo, su toxicidad puede coincidir con la del grupo o puede ser más o menos específica, de ahí que su utilización clínica dependa tanto de su eficiencia como de su toxicidad relativa.

Pese a sus diversos beneficios, los AINEs comparten una capacidad elevada de provocar reacciones adversas de intensidad y gravedad diversa, como por ejemplo: irritación gástrica, problemas hemorrágicos, erupciones cutáneas, mareos, cefalea, ansiedad, visión borrosa, insuficiencia renal, etc., de las cuales no son conscientes generalmente los consumidores, por lo tanto, su toxicidad aguda y crónica reviste interés y constituye un motivo de preocupación (Feria, 2005).

Su mecanismo de acción general consiste en inhibir la actividad de las ciclooxigenasas, enzimas que convierten el ácido araquidónico, que se encuentra en las membranas celulares, en endoperóxidos cíclicos inestables, los cuales se transforman en prostaglandinas y tromboxanos. Algunos de estos eicosanoides participan, en diverso grado, en los mecanismos patógenos de la inflamación, el dolor y la fiebre, por lo que la inhibición de su síntesis por los AINEs sería responsable de su actividad terapéutica.

En la actualidad se dispone de numerosos fármacos que, aunque pertenecen a diferentes familias químicas, se agrupan bajo el término AINEs. Dentro de los más usados en Chile se encuentran los derivados del ácido propiónico (ibuprofeno, naproxeno y ketoprofeno) y un derivado del ácido acético (diclofenaco) (Feria, 2005).

Tabla 1: Características farmacocinéticas de los AINEs.

Fármacos	Biodisponibilidad (%)	T _{1/2} (h)	Excreción urinaria (%)
<i>Ácidos Propiónicos</i>			
Ibuprofeno	>80	2-3	<1
Naproxeno	99	14	<1
Ketoprofeno	100	1,8	<1
<i>Ácidos Acéticos</i>			
Diclofenaco	54	1-2	<1

Biodisponibilidad: en el cuerpo una vez ingerido el fármaco, t_{1/2}: tiempo de vida media antes de ser metabolizado, excreción urinaria: Porcentaje eliminado a través de la orina (%).

- **Antiinflamatorios derivados del ácido propiónico:**

Son derivados del ácido fenilpropiónico y, aunque sus estructuras químicas sean relativamente diferentes, forman un grupo bastante homogéneo por sus características farmacológicas. Tienen acción analgésica, antitérmica, antiinflamatoria y antiagregante plaquetaria. Se absorben de forma bastante completa por vía oral (99%). Su metabolismo es intenso y variado, de forma que la excreción renal de la forma libre es mínima (en general menor al 1%) (Feria, 2005).

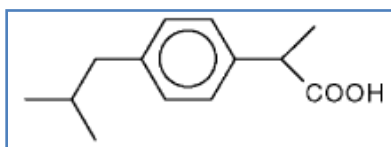


Figura 2: Estructura de Ibuprofeno. Ácido (RS)-2-(4-isobutilfenil)propanoico

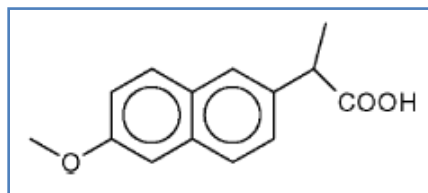


Figura 3: Estructura de Naproxeno. Ácido (S)-2-(6-metoxi-2-naftil)propanoico

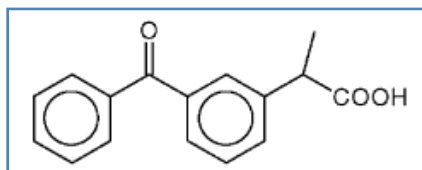


Figura 4: Estructura de Ketoprofeno. Ácido 2-(3-benzoilfenil)propanoico

- **Derivados del ácido acético:**

Es un conjunto de fármacos que comparten diversos sistemas cíclicos (anillos indólicos, pirrólicos, fenilos o ranoindólicos) que contienen moléculas de ácido acético. El diclofenaco pertenece a la serie fenilacético y es de amplio uso en nuestro país. Posee actividad analgésica, antitérmica y antiinflamatoria potente; su eficacia es comparable a la de los derivados del ácido propiónico (Feria, 2005).

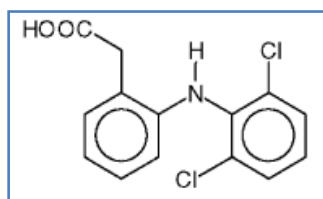


Figura 5: Estructura de Diclofenaco. Ácido 2-{2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}acético

Antiinflamatorios en el Medio Ambiente

El organismo es capaz de metabolizar un porcentaje importante (99%) del antiinflamatorio ingerido, mientras que el restante (<1%), se excreta a las aguas junto con los metabolitos resultantes de la digestión del fármaco; estas aguas llegan a las Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas donde al final del tratamiento una pequeña fracción de estos

compuestos pueden quedar retenidos en los biosólidos y, por lo tanto, si son utilizados como remediadores o fertilizantes en suelos agrícolas, pueden afectar al medio ambiente, debido al fenómeno de bioacumulación y toxicidad del fármaco en estos suelos, convirtiéndolo en un contaminante emergente.

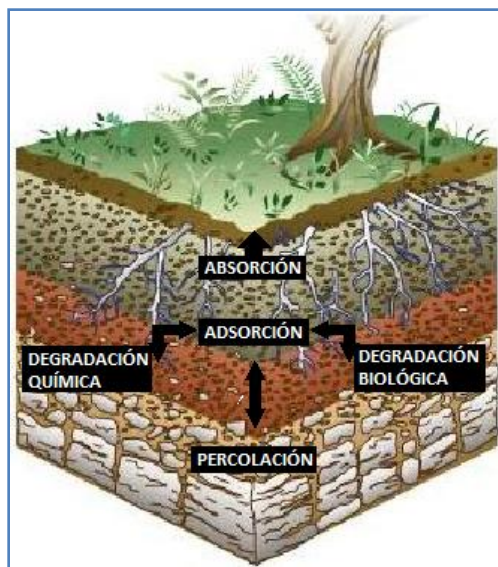


Figura 6: Principales reacciones de los contaminantes o compuestos en el perfil del suelo

El proceso de adsorción de un compuesto se relaciona con una serie de fenómenos que pueden ocurrir a lo largo del perfil del suelo. El suelo es un material heterogéneo y además presenta una fuerte interacción con los sistemas biológicos, atmosféricos y acuáticos (Figura 6). Los AINEs entrarán al suelo, se producirá su adsorción y ésta a su vez influirá en las posibilidades de degradación tanto química como biológica, esta última principalmente por acción de los microorganismos presentes. Por otra parte, su potencial de lixiviar dependerá del equilibrio existente en la interfase suelo-solución del suelo; si dicho potencial es elevado también lo será la posibilidad de contaminar aguas subterráneas, lo cual se puede evaluar a través de estudios de movilidad en suelos.

Los estudios de movilidad de un compuesto en un suelo deben tener en cuenta algunos factores principales, como por ejemplo las propiedades físicas del suelo, las que se asocian principalmente con la susceptibilidad a la lixiviación, éstas son el bajo contenido de materia orgánica, humedad baja y una estructura relativamente arenosa. También es importante el pH del suelo y la presencia de una flora microbiana activa que permita la biotransformación de los productos o su retención en las capas superiores del suelo. Por último, también influye en estos procesos la dosis del compuesto que se agregue al suelo.

Por lo tanto, las dosis de biosólidos incorporados a suelos agrícolas, podría afectar la movilidad de AINEs contenidas en el biosólido a lo largo del perfil del suelo, pudiendo llegar a contaminar, eventualmente, las capas de aguas subterráneas.

El presente estudio evalúa el comportamiento de AINEs de uso masivo en Chile (naproxeno, ketoprofeno, ibuprofeno y diclofenaco) a través de Isotermas de Adsorción para conocer el tipo de interacciones que existe en la interfase suelo-solución; además se estudia el efecto de la incorporación de biosólidos a suelos sobre la movilidad de AINEs, utilizando columnas de lixiviación, en suelos sin esterilizar y esterilizados.

2. Objetivos:

2.1. Objetivo General

Estudiar el efecto de la incorporación de biosólido sobre la movilidad de Antiinflamatorios no Esteroidales (AINEs) en suelos de la Región Metropolitana.

2.2. Objetivos Específicos

- Realizar caracterización química de los suelos Lonquén y Linderos y de un Biosólido.
- Implementar metodología para la determinación de AINEs mediante cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), con arreglo de diodos (DAD).
- Implementar una metodología de extracción de AINEs desde suelos y biosólidos.
- Determinar la capacidad de adsorción de AINEs en los suelos en estudio.
- Estudiar el efecto de la incorporación de distintas dosis de biosólido sobre la movilidad de AINEs en los suelos en estudio, a través de columnas de lixiviación.
- Estudiar el efecto de la incorporación de biosólidos sobre la movilidad de AINEs en suelos tratados con autoclave, a través de columnas de lixiviación..
- Analizar e interpretar los resultados.

3. Materiales y métodos

3.1. Descripción de muestras

3.1.1. Suelos

Las muestras fueron obtenidas de la capa superficial (0-20 cm) de suelos agrícolas de la Región Metropolitana, correspondientes a las series Linderos y Lonquén, las que se almacenaron en bolsas plásticas para su transporte al laboratorio, donde fueron secadas al aire, disgregadas, tamizadas (tamiz de 2 mm) y almacenadas en frascos de polietileno de alta densidad a temperatura ambiente.

3.1.1.1. Linderos

La serie Linderos es del orden Inceptisol. Es un suelo de origen aluvial, moderadamente profundo que descansa sobre un sustrato aluvial constituido por piedras de composición mixta, que ocupa entre el 75% y 95% del volumen del suelo, con material intersticial de textura franco (8-28% de arcilla). Posee buena porosidad y arraigamiento en todo el perfil. Es un suelo plano (0 a 1% de pendiente) con microrelieve ligero a moderado. La localidad de Linderos está situada en la comuna de Buin, en la provincia de Maipo (Centro de Información de Recursos Naturales, 1996).

3.1.1.2. Lonquén

La serie Lonquén es del orden Mollisol. Suelos derivados de sedimentos aluviales mezclados, moderadamente profundos, que se presentan ocupando terrazas aluviales antiguas del río Mapocho, en el sector de Talagante-Peñaflor; de color pardo oscuro, con textura franco arenoso arcilloso (20-37% de arcilla) (Centro de Información de Recursos Naturales, 1996).

3.1.2. Biosólido

El biosólido utilizado en este estudio pertenece a la planta de tratamiento de aguas servidas “El Trebal” de la Región Metropolitana, el cual sigue un proceso que permite concentrarlos y estabilizarlos, antes de su disposición final. El muestreo se realizó el 7 de mayo de 2008 y corresponde a la mezcla de biosólidos de los meses noviembre y diciembre de 2007, el cual se identificó como BET 2008.

3.2. Caracterización de suelos y biosólido

3.2.1. Determinación de pH

Se realiza mediante determinación potenciométrica preparando una solución de 10 g de suelo o biosólido y 25 mL de agua, se agita vigorosamente la solución en agitador mecánico recíproco y se deja reposar la solución por al menos dos horas. Finalmente, se mide el pH de la solución sobrenadante directamente con un electrodo combinado (Sadzawka, 2006).

3.2.2. Determinación del contenido de Materia Orgánica (MO)

El método consiste en una oxidación de la materia orgánica con una mezcla de dicromato y ácido sulfúrico. Después de la reacción se mide espectrofotométricamente el cromato reducido. A 1 g de cada suelo o 0,2 g de biosólido se agregan 10 mL de solución de dicromato de sodio 0,5 M y 20 mL de H₂SO₄ concentrado, luego de 30 minutos se incorpora agua y se deja reposar durante toda una noche, para finalmente cuantificar el cromato reducido en el sobrenadante a 600 nm, con un espectrofotómetro UV/vis UNICAM, a partir de una curva de calibración elaborada por una serie de soluciones de sacarosa entre 0 y 50 mg mL⁻¹.

El contenido de materia orgánica se determina multiplicando el porcentaje de carbono orgánico (%) por un factor estimado de conversión de 1,724 (Sadzawka, 2006).

3.2.3. Determinación de Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)

Se determina por el método de acetato de sodio a pH 8,2. Para lo cual, en tubos de centrífuga de 50 mL se pesan 4 g de cada suelo y se añaden 33 mL de NaOAc 1M, para intercambiar los cationes del suelo por sodio. Se trata la muestra con otras tres porciones de 33 mL de NaOAc 1M, a continuación se lava la muestra con tres porciones de 33 mL de etanol. En cada adición se procede a agitar los tubos por 15 minutos en agitador

mecánico de tipo recíproco, para luego centrifugar durante 15 minutos a 2500 rpm y cada sobrenadante se desecha. Finalmente, para desplazar el sodio adsorbido por el suelo se agregan tres porciones de 33 mL de NH_4OAc 1M, pero esta vez se recogen los sobrenadantes y se aforan a 100 mL para cuantificar el sodio desorbido por la solución de NH_4OAc . La cuantificación se realiza mediante espectrofotometría de emisión atómica, utilizando un Espectrofotómetro Perkin Elmer 1100B (Jackson, 1970).

3.2.4. Determinación del contenido total de Cinc, Cobre, Plomo, Níquel, Cromo y Cadmio

El contenido total de metales (cinc, cobre, plomo, níquel, cromo y cadmio), se determina mediante EAA con llama, previa digestión ácida del suelo en horno microondas.

Alrededor de 200 mg de suelo seco al aire (en triplicado) se transfieren a vasos para microondas, para luego ser digeridos con una mezcla de 4,5 mL de HNO_3 65% y 1,5 mL de HCl 30% en horno microondas, Milestone mls 1200 mega, que cuenta con un panel de control modelo 240 mega y un módulo de extracción de gases generados durante la digestión, modelo EM-45/A. Se utiliza un programa para la digestión de tres etapas: 5min a 250 W, 5 min a 400 W y 10 min a 500 W, luego se somete a 1 min de ventilación y a 30 min de baño en agua fría. Posteriormente, las muestras digeridas se trasladan a matraces aforados de 10 mL con H_2O milli-Q, y se filtran a través de papel filtro N°2. El contenido total de los metales se cuantifica por espectrofotometría de absorción atómica (EAA) con llama utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer 1100B.

3.3. Cuantificación de AINEs mediante cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) con detector de arreglo de diodos (DAD).

La identificación y cuantificación de AINEs se realizan usando Cromatografía Líquida de Alta Resolución con Detector de Arreglo de Diodos, trabajando con una columna C18 (5 μm ; 250 mm x 4,6 mm), utilizando como fase móvil una mezcla 50% v/v de acetonitrilo con fosfato diácido de potasio 50 mM a pH 4,2-4,5.

La solución de fosfato diácido de potasio se prepara pesando 6,0840 g de KH_2PO_4 (PM= 136,08 g/mol) y llevándolo a 1000 mL con agua milli Q, posteriormente la solución se filtra en un equipo de filtración al vacío provisto de un filtro de membrana estéril de 0,2 μm .

Para la medición se trabaja con los siguientes parámetros: un flujo de 1 mL/min en razón 0,5/0,5 (acetonitrilo/fosfato diácido de potasio), una inyección de 20 μL de muestra a un rango de presión entre 1500-1800 psi, un tiempo de medición de 23 minutos para estándares y 35 minutos para muestras reales (Adaptado de Santos, 2005).

La identificación de los cuatro analitos se logra a través de los tiempos de retención y los espectros de absorción correspondientes, medidos a distintas longitudes de ondas para obtener un máximo de sensibilidad.

Para la cuantificación se utiliza el área de la señal de cada analito, obteniendo las concentraciones en mg/L desde una curva de calibración en un rango de 0,5 a 20 mg/L, preparada a partir de un multiestandar de 500 mg/L que contiene los cuatro antiinflamatorios en estudio (ketoprofeno, naproxeno, diclofenaco e ibuprofeno).

Se evalúa el posible efecto de la matriz del suelo sobre la detección y cuantificación en las señales de los analitos que se obtienen mediante este método. Para esto, se prepara una curva de calibración multiestándar en el extracto de la matriz (curva matriz) y otra con el multiestándar disuelto en solvente (agua). Para obtener la curva matriz, se realiza una extracción de cada suelo (sin antiinflamatorios) para posteriormente someterla a Clean-Up (proceso descrito posteriormente en el punto 3.4.2.). Con el extracto resultante se procede a preparar la curva con distintas dosis de antiinflamatorios en concentraciones que van desde 0,5 a 15 mg/L. Ambas curvas se preparan a partir de un estándar de 500 mg/L.

3.4. Metodología de extracción de AINEs desde suelos y biosólidos.

El proceso de extracción consta de dos pasos; primero se realiza la extracción de los AINEs mediante una extracción con solvente asistida por ultrasonido, luego, se realiza el clean up de la solución mediante extracción en fase sólida usando cartridge OASIS HLB.

3.4.1. Metodología de Extracción con Solvente Asistida por Ultrasonido.

A tubos de centrífuga de vidrio de 50 mL, se agrega 4 g de suelo o biosólido para posteriormente someterlo a un programa de extracción por solvente asistida por ultrasonido descrito en Tabla 2.

Tabla 2: Procedimiento de Extracción por Solvente Asistida por Ultra Sonido

Solvente	Ultrasonido (Alto)	Centrífuga (2500 rpm)
20 mL Metanol	5 minutos	5 minutos
10 mL Metanol	5 minutos	5 minutos
10 mL Acetona	5 minutos	20 minutos
10 mL Acetona	5 minutos	20 minutos

Los sobrenadantes de cada etapa de la extracción se recogen y se juntan para filtrarlos con papel filtro N°2. Luego se evapora en evaporador rotatorio a 40°C hasta alcanzar un volumen aproximado de 1 mL, se afora a 100 mL con agua milli Q (adaptación de Ternes, 2005).

3.4.2. Metodología Extracción en Fase Sólida con Cartridge OASIS HLB (Clean Up).

La solución obtenida en el paso anterior (3.4.1.) se somete a extracción en fase sólida con cartridge OASIS HLB en un manifold a 15Pa (Santos, 2005).

El procedimiento de extracción utilizado contempla las siguientes etapas:

- Ambientar el cartridge:
 - Pasar 3 mL de acetato de etilo por el cartridge
 - Pasar 3 mL de metanol por el cartridge
 - Pasar 3 mL de agua milli Q por el cartridge
- Pasar la muestra por el cartridge.
- Lavar el cartridge:
 - Pasar 3 mL de una solución metanol/agua (5/95 v/v) por el cartridge
 - Pasar 3 mL de n-Hexano
- Extracción del analito desde el cartridge:
 - Pasar 3 alícuotas de 1 mL de acetato de etilo y recoger la solución en un vial.
- Evaporar las soluciones de los viales con nitrógeno líquido hasta sequedad.
- Agregar a cada vial 0,5 mL de metanol.

Finalmente, la cantidad de antiinflamatorios extraída desde ambos suelos se determina mediante HPLC – DAD bajo las condiciones descritas en el punto 3.3.

3.5.Determinación de la capacidad de adsorción de AINEs en los suelos en estudio.

La capacidad de adsorción se determina con un método de equilibrio en batch a temperatura ambiente.

En tubos de centrifuga se equilibran 5 g de suelo, con distintas dosis de antiinflamatorios (entre 0 y 500 mg/L), 25 mL de solución de CaCl_2 0,01M, para mantener constante la fuerza iónica del medio, y 5 mg de NaN_3 , para suprimir la actividad microbiana durante el equilibrio. Los tubos se agitan vigorosamente en agitador mecánico recíproco durante 24 horas. Al término de este período se procede a centrifugar durante 20 minutos a 2500

rpm, la parte acuosa se filtra con filtros de jeringa de 0,2 μm y finalmente se somete a clean up con cartridge OASIS HLB (Kunde, 2011).

La cuantificación se realiza mediante HPLC de acuerdo a lo descrito en el punto 3.3.

3.6.Efecto de la incorporación de distintas dosis de biosólido sobre la movilidad de AINEs en los suelos en estudio.

Para los estudios de movilidad de antiinflamatorios se utilizan columnas de lixiviación de acrílico, de diámetro interno de 2,5 cm y con un largo de 12 cm. La columna está dividida en seis secciones de 2 cm cada una; en la sección superior se incorpora 6 g de suelo, distintas dosis de biosólido (50, 100 y 200 ton/ha) y 0,5 mL de multiestándar de 2,4 mg/L (equivalente a 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de suelo). A las cuatro secciones siguientes se le incorporan 11,5 g de suelo aproximadamente y a la sección inferior se agrega cuarzo, como se aprecia en la Figura 7.

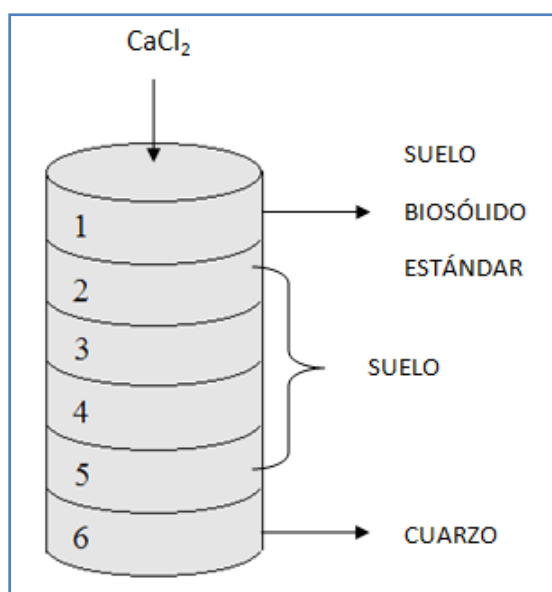


Figura 7: Montaje y relleno de columnas de lixiviación

Para montar las columnas primero se rellenan las secciones inferiores (Figura 7) y se humedecen. Al cabo de 24 horas en una navecilla para pesar se mezcla el suelo junto con la dosis determinada de biosólido y los antiinflamatorios, y se rellena la sección superior. Las columnas se riegan diariamente con 3 mL de CaCl_2 0,5M para simular la fuerza iónica de la fase acuosa del suelo y se mantienen a temperatura ambiente (Leiva, 2010).

Se estudia la movilidad por períodos de 15 días. Al finalizar este período, cada sección de la columna se seca durante 2 días a 25°C ; posteriormente se extraen los analitos de acuerdo a lo indicado en el punto 3.4. y se cuantifican por HPLC (punto 3.3.).

3.7.Efecto de la incorporación de biosólidos sobre la movilidad de AINEs en suelos tratados con autoclave.

Cada suelo, por separado, se somete a autoclave en una olla a alta presión sellada. El primer día se realiza 45 minutos de autoclave a una temperatura constante de 121°C (103 kPa), el segundo día 30 minutos también a 121°C . Posteriormente los suelos se incuban a 25°C por al menos 24 horas antes de ser utilizados (Carter, 2007).

Para estudiar la movilidad de AINEs en los suelos y su cuantificación, se procede de igual forma que en el punto 3.6., con la diferencia que los suelos utilizados han sido previamente tratados en autoclave.

4. Resultados y Discusión.

4.1. Caracterización de suelos y biosólido:

Los resultados de la caracterización química de los suelos y biosólido se resumen en la Tabla 3:

Tabla 3: pH, Contenido Materia Orgánica y Capacidad de Intercambio Catiónico en suelos Lonquén, Linderos y Biosólido

	Biosólido	Lonquén	Linderos
pH	6,95	7,56	7,73
MO (%)	15,16	2,85	2,72
	CO (%)= 8,79		
CIC (cmol⁺ kg⁻¹)	89,13	31,15	18,45

Como se observa en la Tabla 3 vemos que el biosólido es levemente más ácido que ambos suelos, además de su contenido de materia orgánica que es ampliamente superior al de ambos suelos; lo anterior puede influir en los procesos de adsorción de los Antiinflamatorios en los suelos, así como también en la retención de éstos en las capas superficiales del suelos debido al alto contenido de materia orgánica del biosólido.

El Gráfico 1 muestra el contenido de total de metales en los dos suelos y en el biosólido.

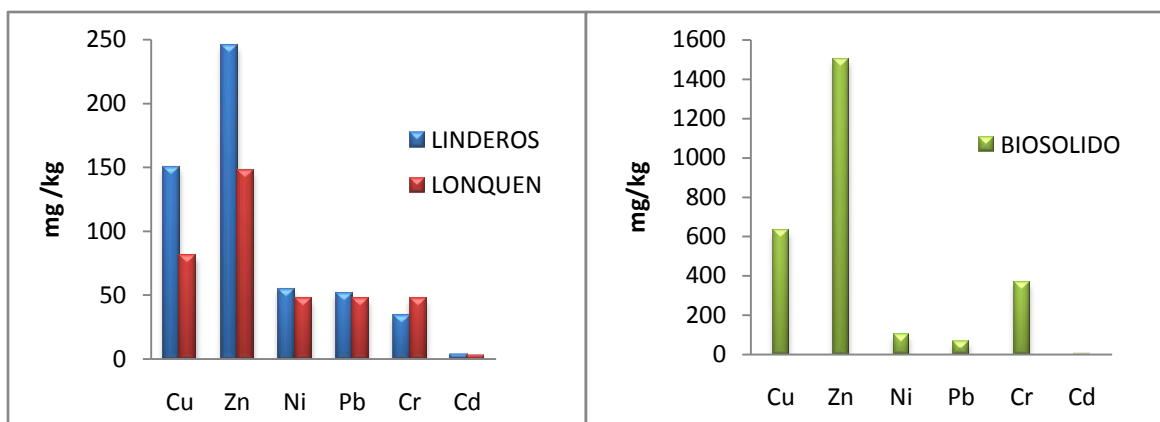


Gráfico 1: Concentración total de Cu, Zn, Ni, Pb, Cr y Cd en los suelos y Biosólido (Anexo Tabla A1)

Para los suelos (Lonquén y Linderos) se encontró que la abundancia de los metales obedece el orden $Zn > Cu > Ni > Pb > Cr > Cd$. De acuerdo a la Normativa Chilena (DS004, 2009), ambos suelos cumplen con las concentraciones máximas de metales que pueden contener los suelos receptores previo a la aplicación de lodos, por lo tanto, la tasa máxima de aplicación de lodos puede llegar a 90 ton/ha por año (Base materia seca).

En el caso del biosólido, el orden de abundancia de metales sigue el orden $Zn > Cu > Cr > Ni > Pb > Cd$. Las concentraciones de metales cumplen con la Norma Chilena (DS004, 2009), por lo tanto, el biosólido puede aplicarse en suelos receptores.

4.2. Cuantificación de AINEs mediante cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

La alta sensibilidad y selectividad hace que HPLC sea la mejor técnica analítica para determinar fármacos polares en muestras ambientales reales. Además, es un método que no requiere derivatización de los analitos alcanzando Límites de Detección similares a los obtenidos con Cromatografía Gaseosa (Gentili 2007).

Al aplicar la metodología descrita en el punto 3.3. se logró la separación de los cuatro analitos en un tiempo inferior a 22 min. (Figura 8). Los analitos eluyeron en el siguiente orden: Ketoprofeno, Naproxeno, Diclofenaco e ibuprofeno.

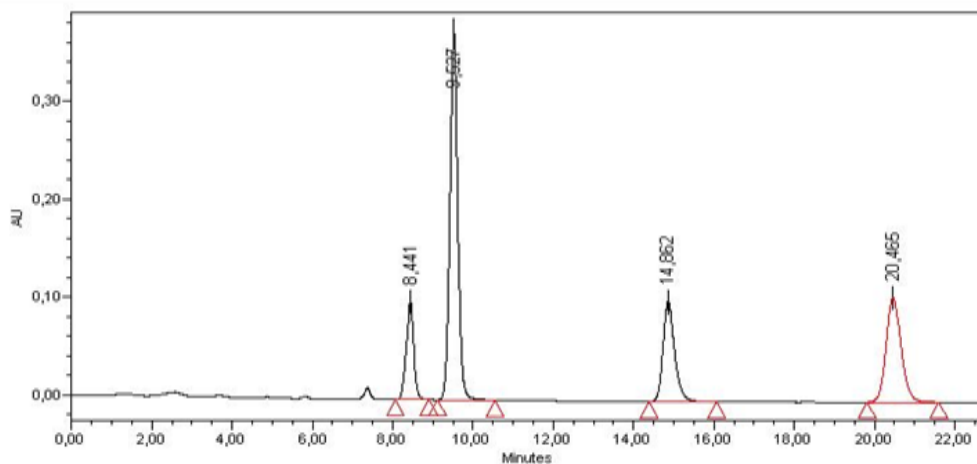


Figura 8: Cromatograma obtenido trabajando con acetonitrilo: KH_2PO_4 en proporción 50:50 % (v/v), en condiciones isocráticas con flujo 1 mL/min y detección UV: 220 nm.

Haciendo uso de estándares puros de cada analito y del software cromatográfico fue posible obtener los espectros de absorción de cada compuesto (Figuras 9 a 12):

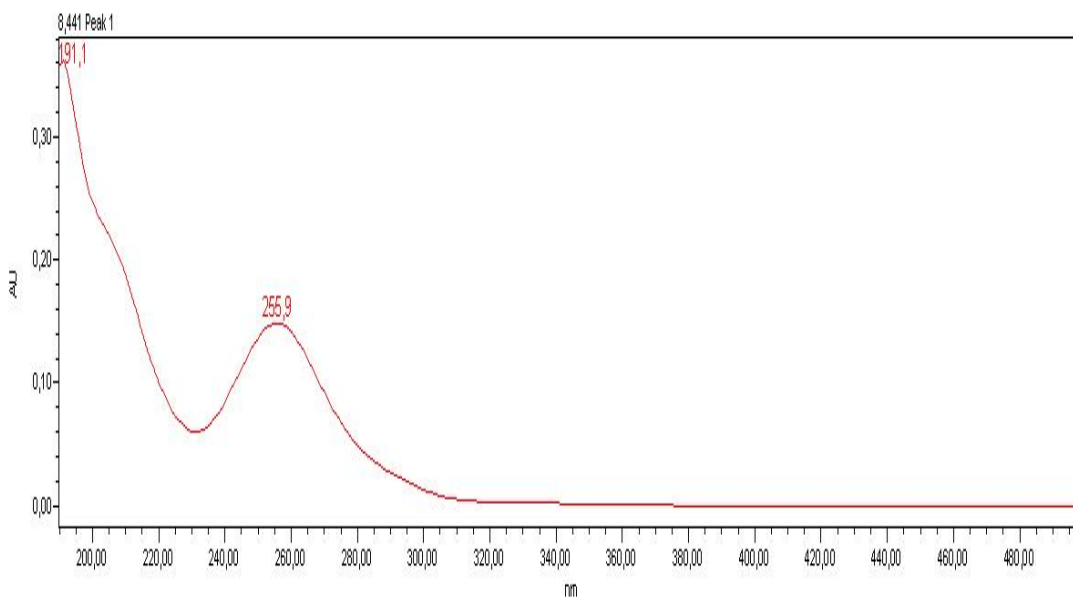


Figura 9: Espectro de absorción de estándar de 10 mg/L de Ketoprofeno.

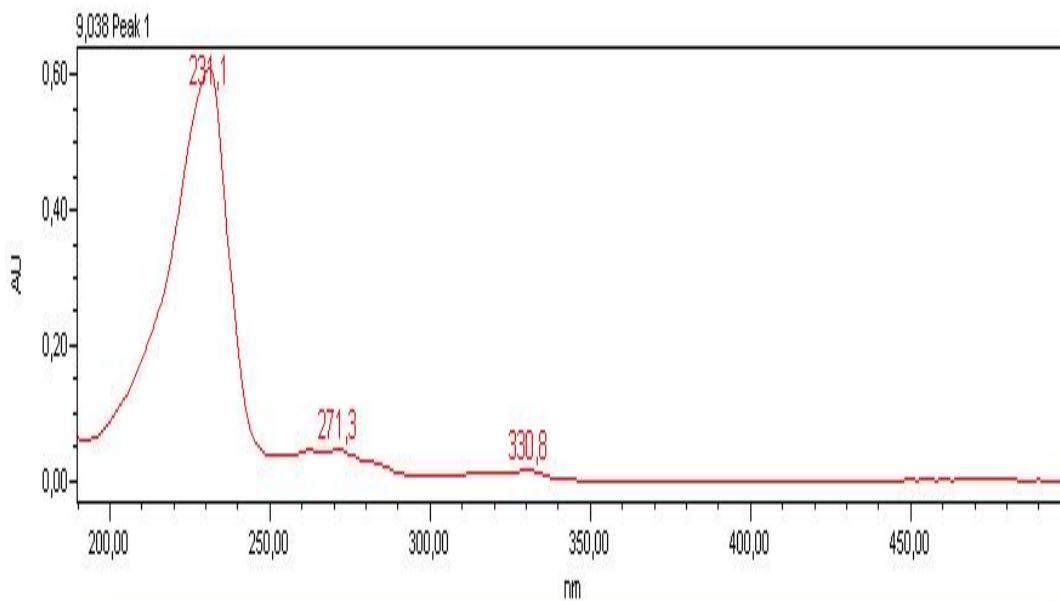


Figura 10: Espectro de absorción de estándar de 10 mg/L de Naproxeno.

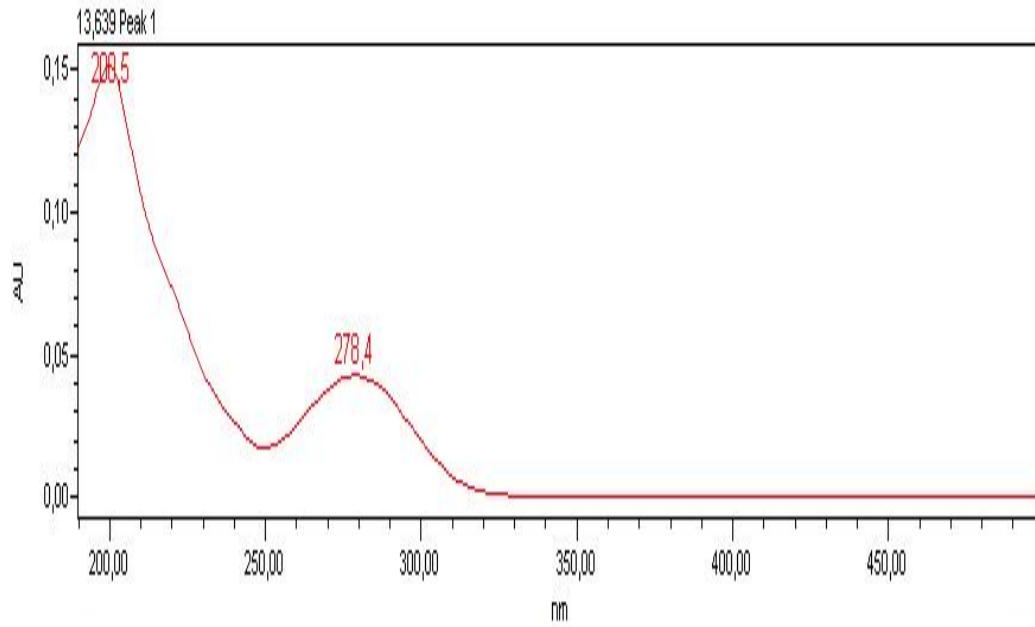


Figura 11: Espectro de absorción de estándar de 10 mg/L de Diclofenaco.

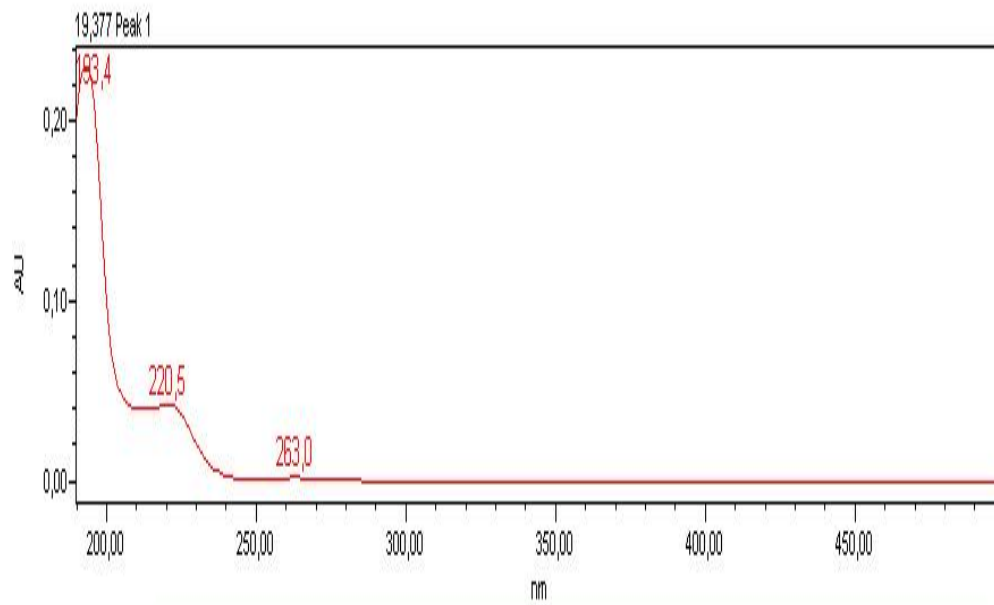


Figura 12: Espectro de absorción de estándar de 10 mg/L de Ibuprofeno.

Los espectros de absorción cumplen un rol fundamental al momento de identificar cada analito, pues al trabajar con muestras reales los tiempos de retención tienen pequeñas modificaciones dependiendo de la matriz con la que se trabaje. Por lo tanto, en primera instancia se identifica cada analito usando como parámetro su tiempo de retención correspondiente y ésta información se compara con los espectros de absorción característico para cada analito.

Pese a la exitosa separación de los analitos (Figura 8) bajo las condiciones descritas en el punto 3.3, al trabajar con muestras reales la determinación de los compuestos se dificulta un poco a 220 nm por los efectos de matriz, por lo tanto los analitos se determinan a longitudes de ondas específicas para cada uno, como se describe en la Tabla 4, donde presentan su mayor sensibilidad.

Tabla 4: Tiempo de Retención y Longitudes de Ondas de los analitos en estudio

AINEs	Tiempo de Retención (min)	λ (nm)
Ketoprofeno	8,2	194
Naproxeno	9,3	230
Diclofenaco	14,4	210
Ibuprofeno	19,8	194

Si bien, la técnica HPLC permite detectar analitos en el rango de los $\mu\text{g/L}$, con un detector adecuado, los efectos de matriz es uno de los mayores impedimentos en su detección y cuantificación, situación que podría ocurrir con matrices complejas como suelos y biosólidos.

Los efectos de matriz pueden resultar en supresión o, con menos frecuencia, en el aumento de las señales analíticas llevando a resultados erróneos. Estas irregularidades pueden ser causadas por distintos fenómenos:

- Primero, los analitos pueden ser sorbidos por la materia orgánica presente en la muestra, provocando que la concentración de analito libre disuelto disminuya y así sea más difícil detectarlo.

- Segundo, los contaminantes en la matriz de la muestra pueden enmascarar la señal del analito, levantando la línea base del cromatograma y como consecuencia el área bajo la curva cromatográfica no se puede determinar con exactitud.

La literatura cita posibles estrategias para reducir los efectos de la matriz, como por ejemplo, adición estándar, estándar interno o reducir la matriz de la muestra. La adición estándar es un método confiable pero consume mucho tiempo. Por otra parte el uso de un estándar interno apropiado, con estructura similar o un estándar isotópico, no siempre están disponibles comercialmente o son muy costosos.

Por lo tanto, un método adecuado para conseguir máxima sensibilidad y reproducibilidad de la señal es reducir los componentes de la matriz previo al análisis con HPLC, aplicando una extracción selectiva de los analitos seguida de un clean-up (Gómez, 2006).

El cartridge OASIS HLB contiene un sorbente con macroporos que consiste en un copolímero único que logra un balance lipofílico-hidrofílico, compuesto por dos monómeros, divinilbenceno (lipofílico) y n-vinilpirrolidona (hidrofílico) (Figura 13). Su particular composición permite revertir la fase de la extracción mejorando la captura o retención de analitos polares. Además otorga mayor humectabilidad de la fase, lo que mejora los rendimientos de la extracción. (Chromatography Columns And Supplies Catalog).

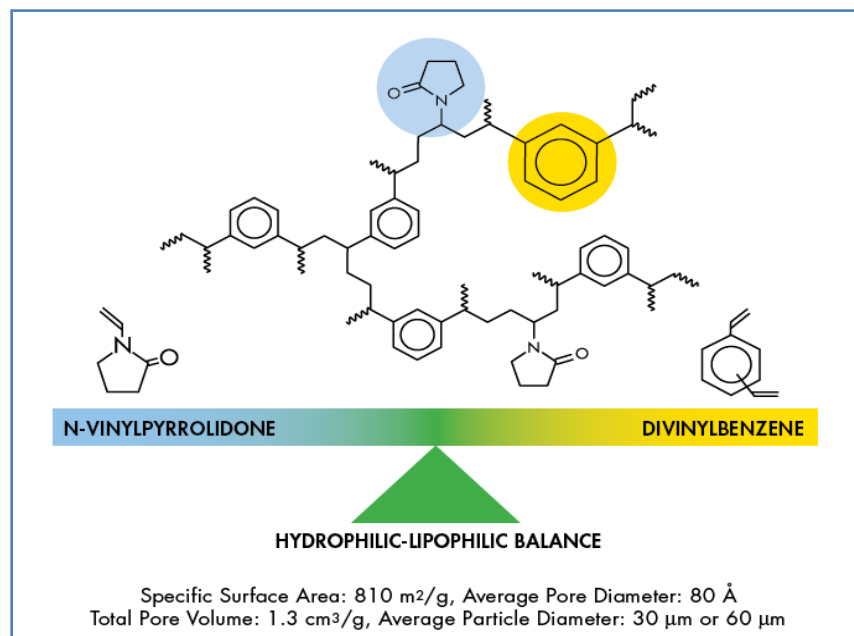


Figura 13: Composición del Copolímero OASIS HLB

Para la extracción de analitos de alta polaridad es frecuente el uso de solventes poliméricos. Su elevada área superficial permite mayor retención de analitos. En este caso particular se utiliza el polímero HLB, que tiene la capacidad de extraer analitos ácidos desde muestras acuosas sin acidificar la muestra, también es capaz de extraer analitos neutros en un amplio rango de polaridad y pH (Weigel, 2004).

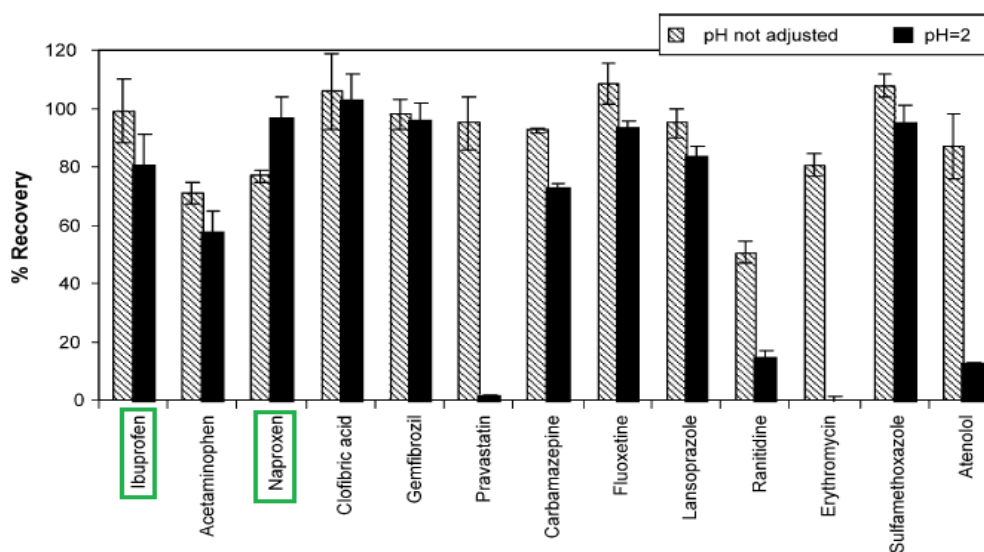


Gráfico 2: Porcentaje de recuperación de distintos fármacos con y sin ajuste de pH

En estudios realizados por Gross y colaboradores (2006), encontraron que se obtiene mejor porcentaje de recuperación de Ibuprofeno sin ajuste de pH (Gráfico 2); para naproxeno vemos que se obtiene mayor porcentaje de recuperación a pH ácido, sin embargo, a pH tan ácido se corre el riesgo de extraer mas sustancias interferentes lo que podría dificultar la detección de los analitos.

Por otra parte, las ventajas de la extracción con sorbentes poliméricos a pH neutro son:

- Hay un manejo simple de la muestra pues no se necesita paso previo de acidificación.
- Permite una extracción continua, especialmente cuando se trabaja con grandes volúmenes de muestra.
- Disminuye el riesgo de acidificación de la muestra por posible hidrólisis de analitos que pudieran ser susceptibles a estas reacciones.

De acuerdo a estos antecedentes la extracción de los analitos se realiza sin ajuste de pH. Luego de acondicionar el cartridge, sin ajuste de pH, se procede a pasar la muestra (2-3 mL/min) para posteriormente lavar el cartridge con n-hexano. Se elige n-hexano para esta etapa porque remueve los componentes lipofílicos de la matriz.

En estudios realizados por Santos y colaboradores (2005), utilizando acetona, acetato de etilo y metanol como solventes para extracción de analitos desde el cartridge, encontraron una buena recuperación para diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno utilizando acetato de etilo (Gráfico 3).

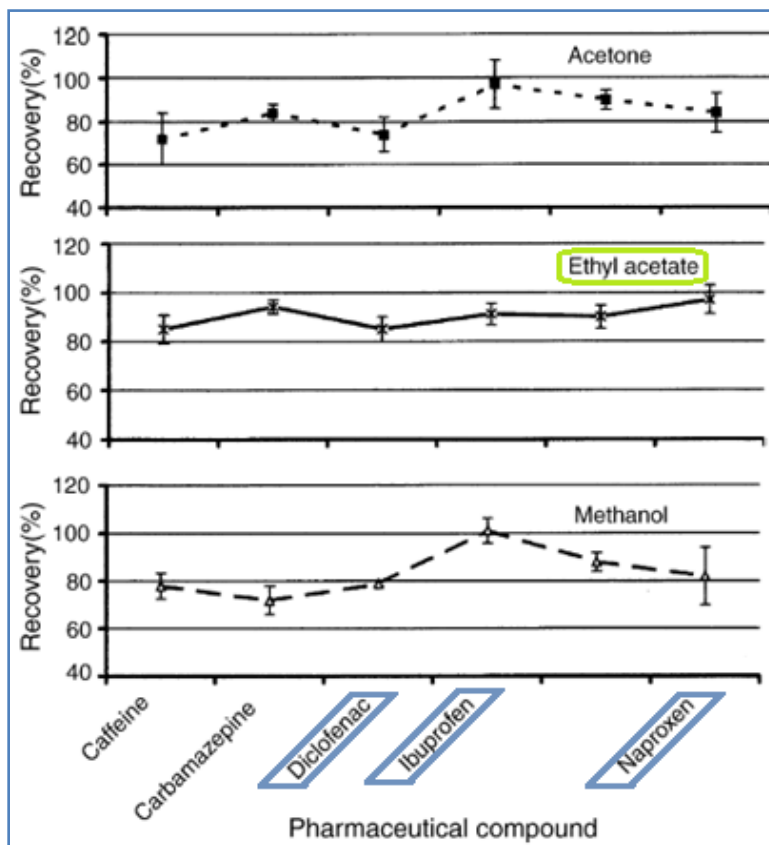


Gráfico 3: Porcentaje de Recuperación con distintos solventes

Finalmente, de acuerdo al Gráfico 3, la elución de los analitos desde el cartridge se realiza con acetato de etilo pues tiene mejor porcentaje de recuperación que otros solventes (Santos, 2005).

Una vez seleccionada las condiciones para la separación e identificación cromatográfica, se evaluaron algunos parámetros analíticos, como:

- **Límite de detección y cuantificación Instrumental:** Ambos límites se determinan trabajando en un rango pequeño de concentración en una curva usando metanol como solvente.

Tabla 5: Límites de detección y cuantificación para Ketoprofeno, Naproxeno, Diclofenaco e Ibuprofeno en metanol.

Compuesto	Rango mg/L	Ecuación	Límite de Detección mg/L	Límite de Cuantificación mg/L
Ketoprofeno	0,053-2	$Y = 52874,03X + 2360,78$	0,0158	0,0526
Naproxeno	0,019-2	$Y = 227672,63X + 9682,97$	0,0058	0,0192
Diclofenaco	0,078-2	$Y = 82436,73X + 3286,42$	0,0233	0,0776
Ibuprofeno	0,1182-2	$Y = 63133,14X - 15,56$	0,0354	0,1182

- **Recuperación y repetibilidad en la determinación de AINEs:** Para validar la metodología de Extracción en Fase Sólida (SPE), utilizando Cartridges Oasis HLB, se estudian las cantidades recuperadas para cada analito en soluciones acuosas enriquecidas con 5 y 10 mg/L de cada antiinflamatorio, obteniéndose los parámetros analitos descritos en la Tablas 6 y 7.

Tabla 6: Concentración y recuperación de antiinflamatorios en estudios con metanol

	Concentración (mg/L)	Concentración Obtenida (mg/L)	% recuperación
Ketoprofeno	5	5,05	100
	10	9,60	96,0
Naproxeno	5	4,98	99,6
	10	9,38	93,8
Diclofenaco	5	4,60	92,0
	10	9,67	96,7
Ibuprofeno	5	4,60	92,0
	10	8,51	85,1

Los porcentajes de recuperación para los diferentes AINEs fluctuaron entre un 85% y 100%, lo cual da cuenta de que el procedimiento realizado permite la recuperación cuantitativa de los analitos desde los cartridges utilizados.

Para la evaluación de la repetibilidad de los resultados se realizaron soluciones acuosas (en quintuplicado) enriquecidas con 5 y 10 mg/L, en diferentes días.

Tabla 7: Repetibilidad de antiinflamatorios en soluciones acuosas enmendadas con 5 y 10 mg/L de cada AINE.

	Concentración (mg/L)	Concentración Promedio (mg/L)	Desviación Estándar (mg/L)	Desviación Estándar Relativa (%)	Recuperación Promedio (%)
Ketoprofeno	5	4,5	0,3	5,8	90
	10	10,2	1	13,2	102
Naproxeno	5	4,5	0,3	6,1	90
	10	9,3	0,4	4,2	93
Diclofenaco	5	4,2	0,2	5,4	84
	10	8,7	0,2	2,6	87
Ibuprofeno	5	4,1	0,2	3,8	81
	10	8,6	0,8	9,2	86

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos inferir que la repetibilidad de las mediciones en 5 días diferentes fue satisfactoria al presentar recuperaciones superiores a un 81% y las desviaciones estándar relativas fueron inferiores al 10% en la mayoría de los casos, lo cual demuestra que las mediciones son estables y reproducibles en el tiempo.

Para evaluar cómo influye la matriz en las señales obtenidas a partir de los cromatogramas, se comparan las curvas de calibración preparadas en el extracto de la matriz y en agua (Gross, 2006).

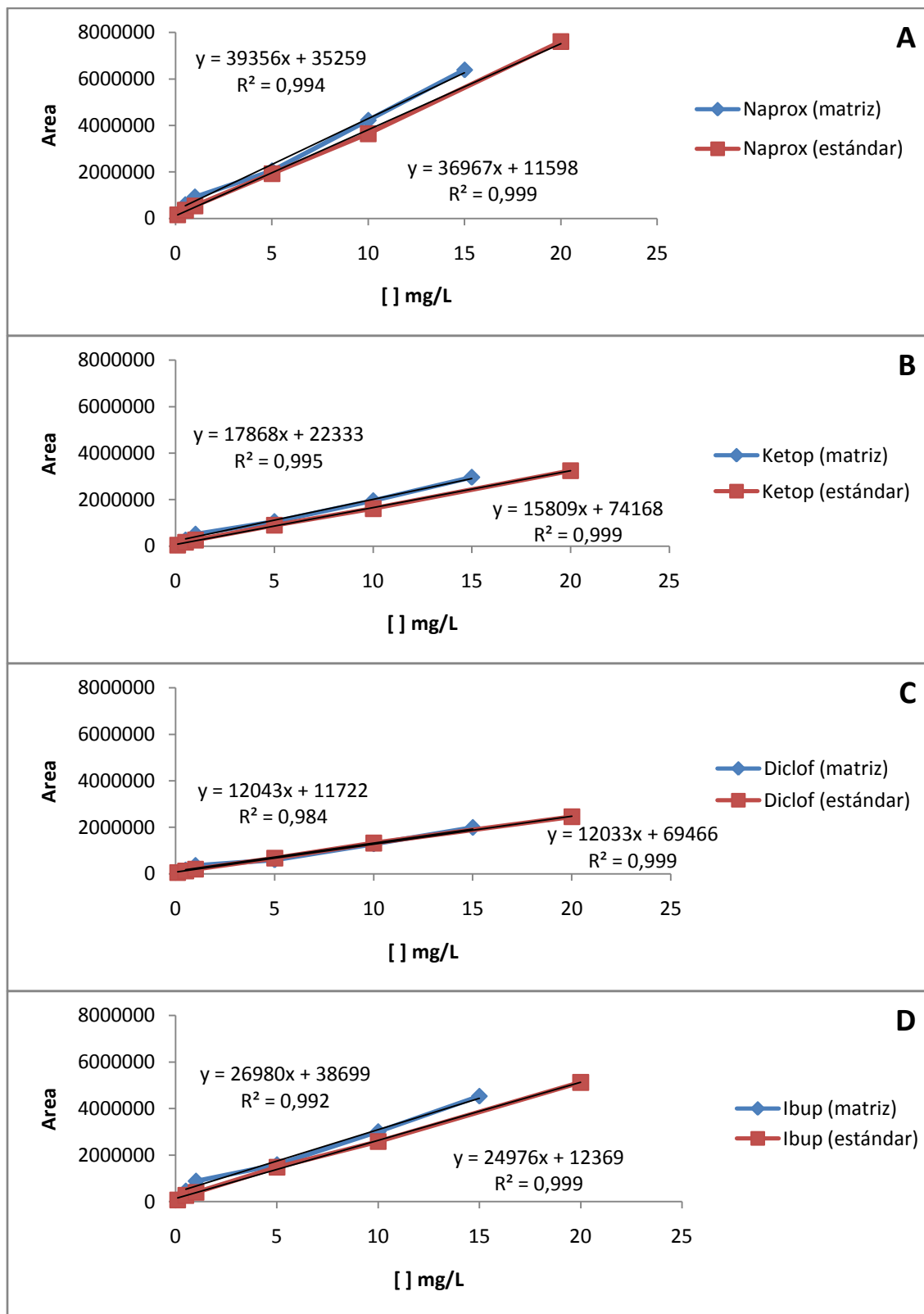


Gráfico 4: Curva de calibración estándar vs curva de calibración en matriz de suelo Lonquén (A: Naproxeno, B: Ketoprofeno, C: Diclofenaco, D: Ibuprofeno) (Anexo Tabla A2)

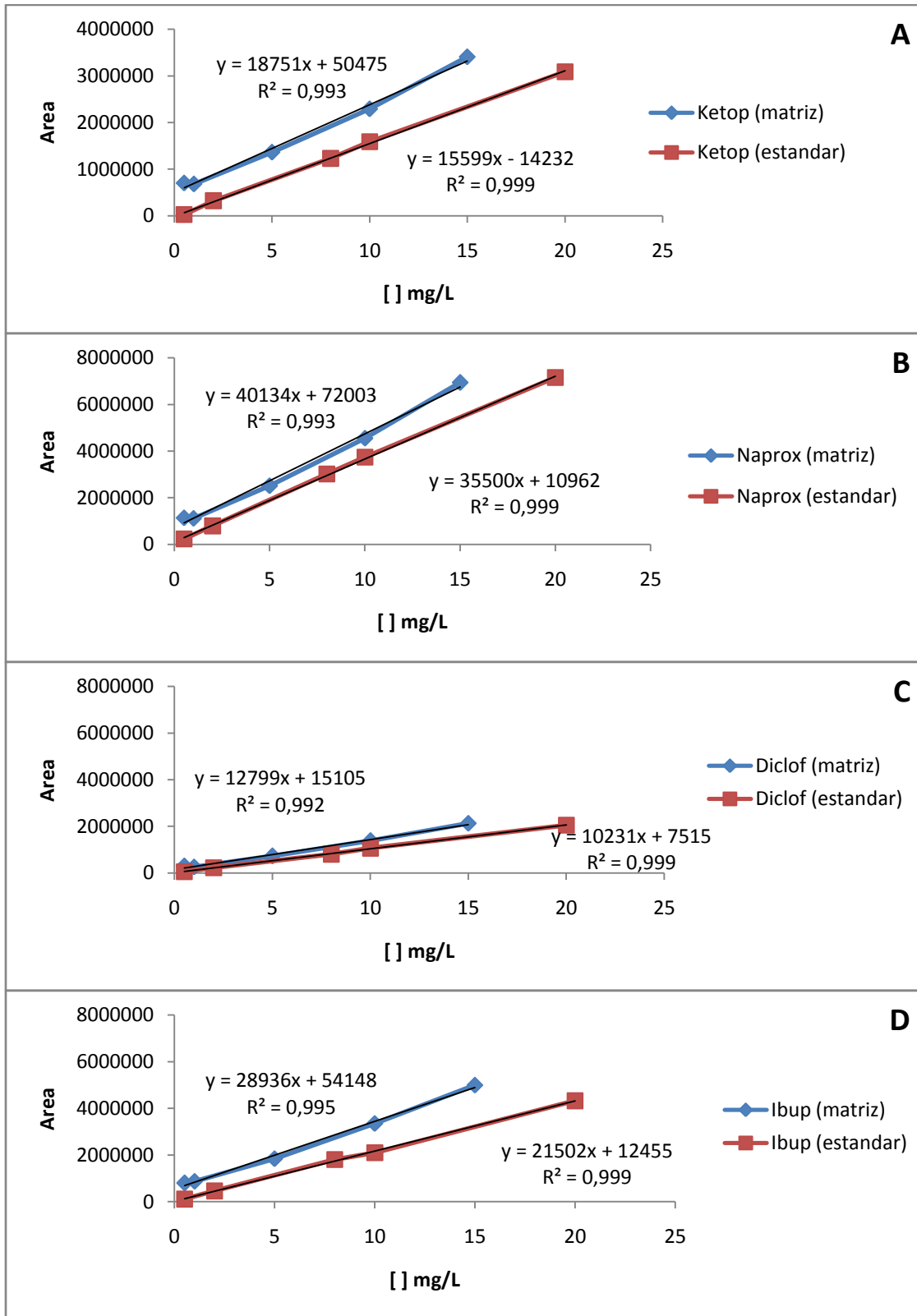


Gráfico 5: Curva de calibración estándar vs curva de calibración en matriz de suelo Linderos (A: Naproxeno, B: Ketoprofeno, C: Diclofenaco, D: Ibuprofeno) (Anexo Tabla A3)

El Gráfico 4 muestra que para el caso de Lonquén, las pendientes de ambas curvas, en extracto de matriz y en solvente, son bastante similares para los cuatro antiinflamatorios en estudio. Lo anterior indica que no se observan mayores efectos de la matriz sobre la cuantificación de los analitos en dicho suelo.

En el caso del suelo Linderos (Gráfico 5) se observa que las pendientes de las curvas hechas en el extracto de la matriz tienen pendientes mayores a las hechas en solvente, esto significa que se está midiendo mas analito del que realmente hay en las muestras, por lo tanto, en este caso particular el efecto de matriz puede ser mayor, lo que nos lleva a un aumento de la señal analítica. Este efecto podría disminuir considerablemente utilizando el método de calibración con estándar.

Se compararon las curvas para decidir si las futuras cuantificaciones se realizarían usando curvas estándar en extracto de matriz o en solvente. En el caso del suelo Lonquén las diferencias entre ambas curvas son pequeñas dentro del rango de concentraciones en estudio, por lo tanto, en estudios posteriores los analitos se cuantifican con curvas multiestándar en agua.

Para el caso del suelo Linderos, la diferencia entre ambas curvas es mayor, por lo tanto, para medir en condiciones similares a las reales las mediciones posteriores para este suelo se realizan en la curva estándar hecha en el extracto de matriz del suelo.

4.3.Extracción de AINEs desde suelos y biosólidos.

En estudios preliminares se aplica el método de extracción con solvente asistida por ultrasonido descrito en el punto 3.4.1 a muestras enriquecidas con distintas concentraciones de antiinflamatorios en duplicado, para conocer los porcentajes de recuperación del método. Los porcentajes de recuperación obtenidos se muestran en la Tabla 8:

Tabla 8: Recuperación del método de Extracción por Solvente Asistida con Ultrasonido

Concentración de la muestra	Recuperación Ketoprofeno (%)	Recuperación Naproxeno (%)	Recuperación Diclofenaco (%)	Recuperación Ibuprofeno (%)
1,2 mg/l	83,9	67,5	91,5	92,6
2,0 mg/l	74,1	74,2	87,9	99

Los porcentajes de recuperación obtenidos varían desde un 67% a un 99%, por lo tanto se puede deducir que el método de extracción utilizado nos permite tener buenos resultados de antiinflamatorios extraídos desde las muestras de suelos.

4.4.Capacidad de adsorción de AINEs en los suelos en estudio.

Los antiinflamatorios en estudio (Naproxeno, Ketoprofeno, Diclofenaco e Ibuprofeno) tienen en común el grupo funcional carboxilo (R-COOH) con propiedades ácidas y capacidad para aceptar electrones lo que facilita las interacciones con grupos básicos dando la posibilidad de formar enlaces iónicos o covalentes en función de su carácter fuerte (no polarizable) o débil (polarizable).

Respecto a la naturaleza de la matriz del suelo, la reactividad de las superficies orgánicas e inorgánicas será dependiente del número y tipo de grupos funcionales en las superficies accesibles. Por ejemplo, en la materia orgánica encontraremos grupos ácidos como es el caso de los grupos carboxílicos, enólicos, OH fenólicos, quinonas, grupos sulfónicos; grupos neutros como el OH alcohólico, éteres, cetonas, aldehídos, ésteres; grupos básicos como aminas y amidas. En los coloides minerales los grupos funcionales más importantes son los siloxanos presentes en los filosilicatos y los grupos hidroxilos asociados con óxidos metálicos.

Dependiendo de la fuerza de la interacción adsorbato-adsorbente la adsorción podrá ser química o física.

Cuando se representan los datos de adsorción a través de isothermas de adsorción (cantidad de adsorbato retenido por un sólido en función de la concentración del adsorbato en la fase que está en equilibrio con el sólido), la forma de éstas sugiere

información acerca de la interacción que se produce. En este caso particular, las isotermas obtenidas se muestran en el Gráfico 6.

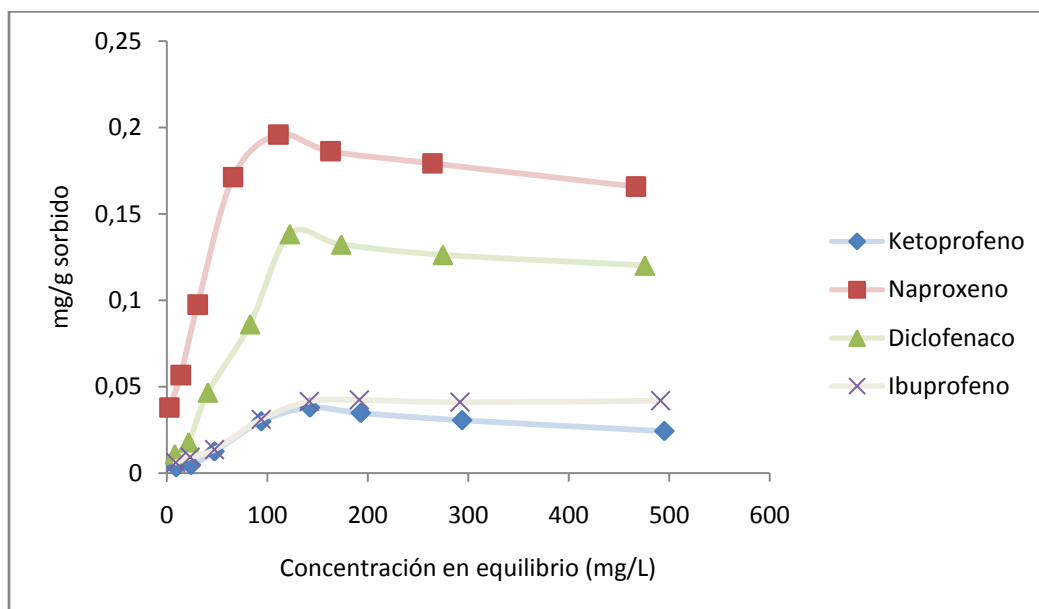


Gráfico 6: Isotermas de adsorción de AINEs en suelo Linderos (Anexo Tabla A4)

Podemos observar que las isotermas de adsorción para los cuatro antiinflamatorios son del tipo L (Isoterma de Langmuir), lo que refleja una relativa alta afinidad entre el adsorbato y el adsorbente, indicando que podría existir adsorción química. Las pendientes llegan a un valor constante porque disminuyen los sitios vacantes a mayor concentración de analito (adsorbato).

Además, se puede observar un límite de concentración agregada para los cuatro antiinflamatorios que corresponde a 200 mg/L, concentración a la que se alcanza el máximo de adsorción, por lo tanto, para los estudios posteriores se agrega esa cantidad de antiinflamatorio a ambos suelos.

En general, pueden existir diferentes reacciones que produzcan esta adsorción química como por ejemplo disociación de grupos funcionales de la materia orgánica del suelo, protonación sobre la superficie coloidal, disociación de los grupos funcionales ácidos de los antiinflamatorios, etc. Estas reacciones dependen principalmente del pH del suelo, de su carga, del contenido de materia orgánica y de la naturaleza del adsorbato (M. Báez, 2010).

De acuerdo al Gráfico 6, podemos observar que la adsorción es evidentemente menor para ketoprofeno e ibuprofeno, lo que sugiere que la matriz orgánica del suelo no juega un rol importante en la adsorción de estos dos fármacos, coincidiendo con datos encontrados en la literatura (Lin, 2011).

El pH de la solución de suelo tiene un carácter levemente básico, lo que indica que los grupos funcionales ácidos se disocian para formar aniones:



En general, la forma aniónica se adsorbe poco sobre la materia orgánica de los suelos y sobre los minerales de arcilla debido a la repulsión electrostática generada por la carga negativa de las partículas.

Tabla 9: pKa y peso molecular de los AINEs estudiados

Compuesto	pK _a	Peso Molecular
Ketoprofeno	4,45	254,29
Naproxeno	4,15	230,27
Ibuprofeno	4,91	206,23
Diclofenaco	4,14	296,16

Cuando el pH aumenta las moléculas neutras se disocian y se produce repulsión por las fuerzas electrostáticas del medio. Así a mayor valor de pKa (Tabla 9), el ácido será menos disociable y por lo tanto, el compuesto será menos adsorbido, como ocurre en el caso del Ibuprofeno y del Ketoprofeno.

Además de las reacciones que generan adsorción química en el suelo se debe tomar en cuenta los mecanismos de degradación de estos fármacos producidos por distintos factores.

4.5. Estudio del efecto de la incorporación de distintas dosis de biosólido sobre la movilidad de AINEs en suelos Linderos y Lonquén.

A continuación se presenta los datos de movilidad correspondiente al suelo Lonquén (enriquecido con 1,2 µg de antiinflamatorios) con cero dosis de biosólido.

Tabla 10: Cantidad (µg) de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén, 0 (t/ha) biosólido)

Lonquén 0

Sección	Ketop (µg)	Naprox (µg)	Diclof (µg)	Ibuprof (µg)
1	0,47	0,36	0	0,26
2	0,18	0,21	0	0,09
3	0,06	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0

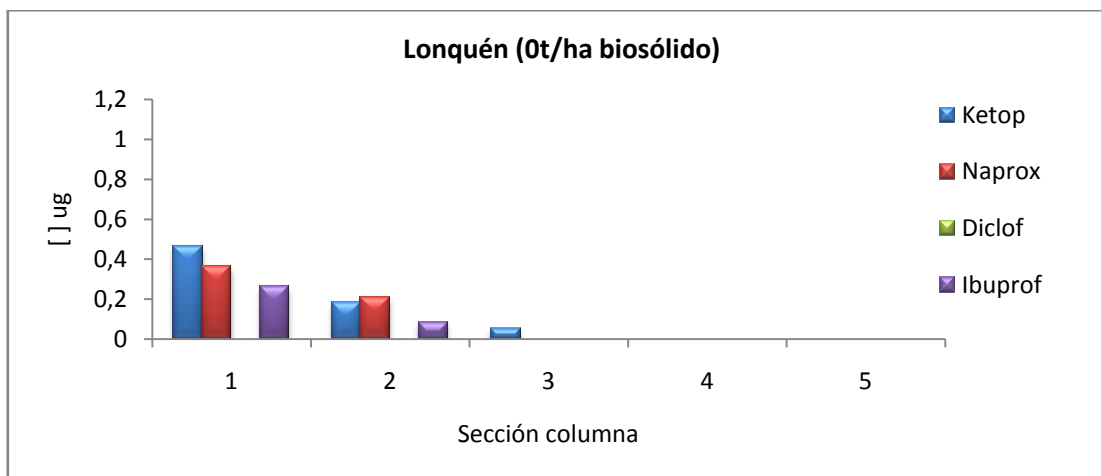


Gráfico 7: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén, 0 (t/ha) biosólido)

Tabla 11: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Lonquén (0 (t/ha) de biosólido)

Lonquén 0				
	Ketop	Naprox	Diclof	Ibuprof
% móvil	59	48	0	29

A continuación se presenta los datos de movilidad correspondiente al suelo Lonquén (enriquecido con 1,2 µg de antiinflamatorios) con dosis de 200 (t/ha) de biosólido.

Tabla 12: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén 200 (t/ha) biosólido)

Lonquén 200

Sección	Ketop (µg)	Naprox (µg)	Diclof (µg)	Ibuprof (µg)
1	0,14	0,29	0	1,13
2	0,04	0,08	0	0,27
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0

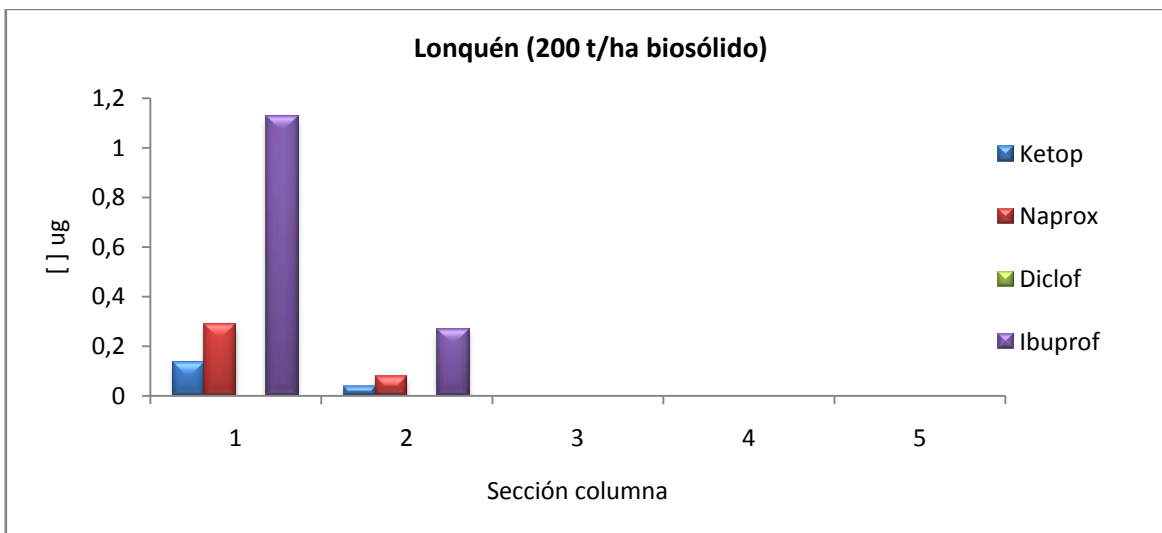


Gráfico 8: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén 200 (t/ha) biosólido)

Tabla 13: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Lonquén (200 (t/ha) de biosólido)

Lonquén 200

	Ketop	Naprox	Diclof	Ibuprof
% móvil	15	31	0	117

A continuación se presenta los datos de movilidad correspondiente al suelo Linderos (enriquecido con 1,2 µg de antiinflamatorios) con cero dosis de biosólido.

Tabla 14: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Linderos o (t/ha) biosólido)

Linderos 0

Sección	Ketop (µg)	Naprox (µg)	Diclof (µg)	Ibuprof (µg)
1	0	0,33	0	0,2
2	0	0	0	0,01
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0

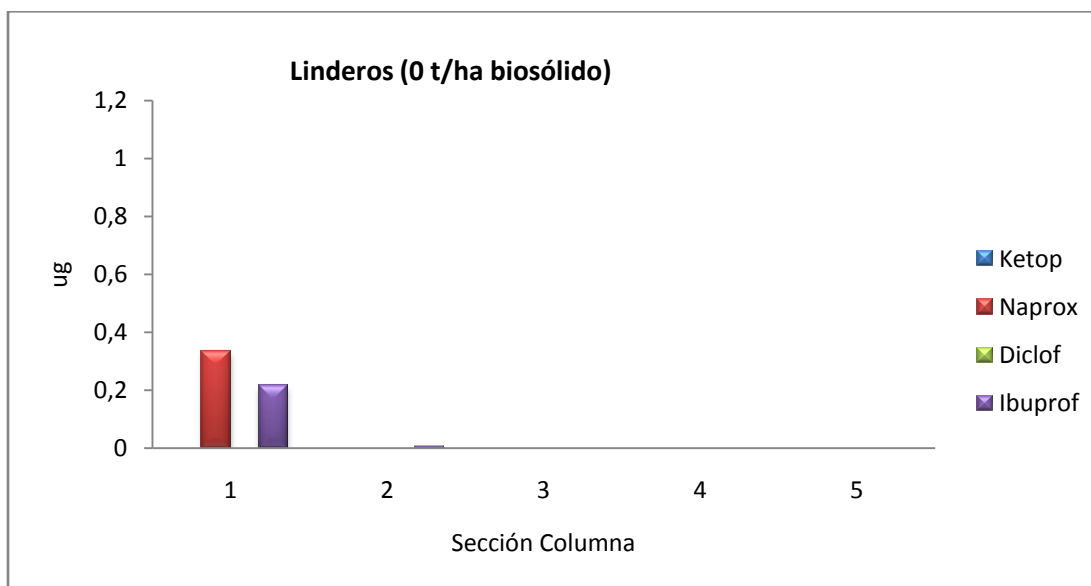


Gráfico 9: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Linderos 0 (t/ha) biosólido)

Tabla 15: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Linderos (0 (t/ha) de biosólido)

Linderos 0

	Ketop	Naprox	Diclof	Ibuprof
% móvil	0	28	0	18

A continuación se presenta los datos de movilidad correspondiente al suelo Linderos (enriquecido con 1,2 µg de antiinflamatorios) con dosis de 200 (t/ha) de biosólido.

Tabla 16: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Linderos 200 (t/ha) biosólido)

Linderos 200

Sección	Ketop (µg)	Naprox (µg)	Diclof (µg)	Ibuprof (µg)
1	0	0,33	0,1	0,4
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0

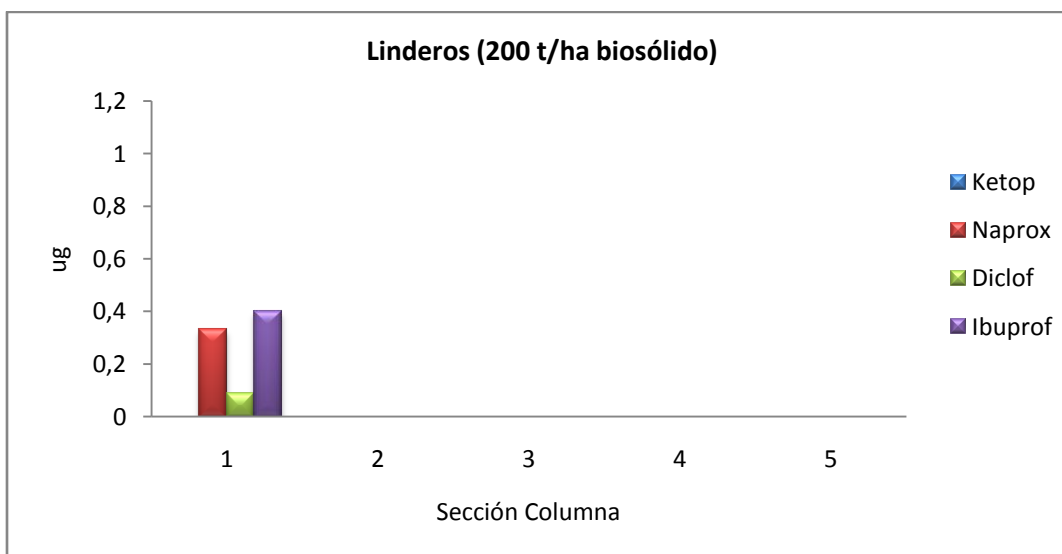


Gráfico 10: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Linderos 200 (t/ha) biosólido)

Tabla 17: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Linderos (200 (t/ha) de biosólido)

Linderos 200				
	Ketop	Naprox	Diclof	Ibuprof
% móvil	0	28	8	33

La adsorción y degradación son procesos que juegan un papel importante en distintos procesos químicos ambientales incluyendo la movilidad de AINEs en suelos. En general, un compuesto químico con fuerte adsorción es habitualmente menos móvil en el suelo y tiene, por lo tanto, limitado potencial de lixiviación.

El metabolismo microbiano es uno de los más importantes procesos de degradación en suelos. Entre las enzimas que catalizan las reacciones de degradación se encuentran las dehalogenasas, las oxigenasas y las hidrolasas. Cada tipo de enzima se ha asociado con determinadas clases químicas de compuestos.

El oxígeno juega un papel importante en la degradación de estas sustancias, ya que se pueden incorporar al anillo aromático ayudando a desestabilizarlo. Las enzimas responsables de esto son las oxigenasas, ya sea monooxigenasas, que incorporan una sola molécula de oxígeno, o dioxigenasas que incorporan dos.

Lo anterior se reafirma con el estudio de degradación de Diclofenaco, Ibuprofeno y Naproxeno siguiendo el modelo de Decaimiento Exponencial ($C_t = C_0 e^{-kt}$) realizado por Lin (2011):

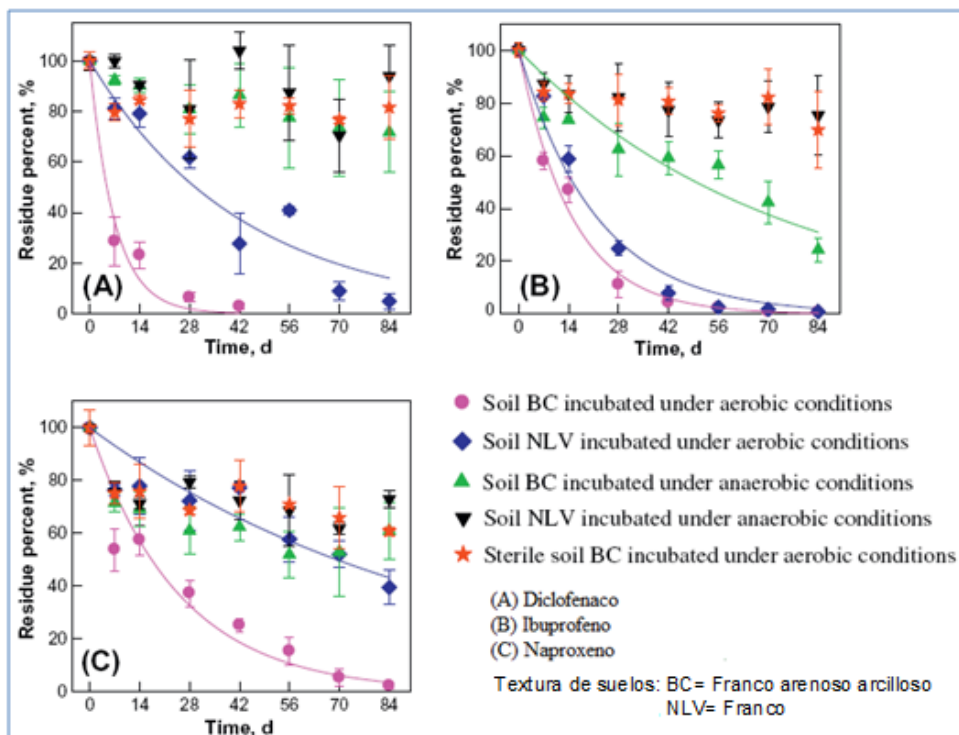


Gráfico 11: Degradación de AINEs en suelos incubados bajo distintas condiciones.

En el Gráfico 11 (A) se puede apreciar que bajo condiciones aeróbicas el tiempo de vida media del diclofenaco, en el suelo franco arenoso arcilloso (BC), de igual textura que el suelo Lonquén, disminuye rápidamente en el rango de 4,8 a 29,6 días; sin embargo bajo condiciones anaeróbicas, la mayor parte del diclofenaco permanece en los suelos luego de 84 días, sugiriendo una insignificante degradación. Para el suelo franco (similar a Linderos) bajo condiciones aeróbicas, esta disminución es más lenta, lo que indica que existe mayor adsorción en este tipo de suelos. Similarmente, el diclofenaco no muestra una disminución significativa en su concentración en suelos esterilizado bajo condiciones aeróbicas y, por lo tanto, se sugiere que los microorganismos juegan un rol importante en su degradación. Por lo tanto, los niveles medios de adsorción de diclofenaco también se pueden asociar a estos fenómenos de biodegradación.

El ibuprofeno (Gráfico 11 (B)), bajo condiciones aeróbicas, para ambos suelos, muestra degradación significativa y sus concentraciones disminuyen a medida que avanza el tiempo, esta disminución está ligada a la formación de residuos no extraíbles; sin embargo, bajo condiciones anaeróbicas la degradación de este compuesto disminuye considerablemente. En la literatura (Lin, 2006) se ha encontrado que el Ibuprofeno sufre una transformación microbiana oxidativa a metabolitos hidroxilados, en mayor medida, y a metabolitos carboxilados, en menor medida, bajo condiciones aeróbicas. Debido a esto, se puede deducir que los bajos niveles de adsorción de ibuprofeno se producen por efecto de esta biodegradación.

La disminución en la concentración de naproxeno (grafico 11 (C)) indica que existe degradación en condiciones aeróbicas, sin embargo, esta disminución es menor que los otros dos compuestos graficados, lo que se puede atribuir entonces a que existe una adsorción mayor de naproxeno que de diclofenaco e Ibuprofeno en ambos suelos como se muestra en los estudios de adsorción (Gráfico 6). Si se analiza la degradación de acuerdo a las texturas de los suelos, vemos que se logra una menor degradación en suelo franco que en suelo franco arenoso arcilloso. Este comportamiento es similar al del diclofenaco, pero las velocidades de degradación del naproxeno son más lentas que las del diclofenaco.

Las transformaciones debidas a la luz solar, fotodegradaciones, son una importante vía de degradación para estos compuestos, especialmente en la superficie del suelo. Los procesos más importantes involucrados en la fotólisis son las fotooxidaciones. También estarán presentes fotoreducciones y fotohidrólisis. Las transformaciones inducidas por la

luz solar estarán presentes en todos los compartimentos ambientales: aguas, atmósfera y en la superficie de los suelos y de las plantas. En general las moléculas que absorben energía luminosa a longitudes de onda superiores a 285 nm son susceptibles a la fotodegradación, ello debido a que las longitudes de onda menores son casi completamente absorbidas por el ozono en la atmósfera y por lo tanto no podrán estar involucradas en estos procesos.

ketoprofeno y naproxeno absorben a longitudes de onda sobre los 290 nm, por lo tanto serán susceptibles a fotodegradación.

En el estudio realizado por Lin (2005) se irradian distintos fármacos, entre ellos naproxeno y ketoprofeno, con un fotosimulador con lámparas de Xenón que abarcan longitudes de ondas desde 290 nm a 700 nm, y con los estándares disueltos en agua milli-Q. Los resultados muestran que al aplicar mayor irradiación (765 W/m^2) el ketoprofeno es el compuesto mas reactivo, y su reactividad es tan alta que no se alcanza a medir, el naproxeno alcanza un tiempo de vida media de 1.9 horas. A menor energía de irradiación (250 W/m^2) el ketoprofeno se fotoliza en un tiempo de vida media de 2.5 minutos y el naproxeno en un tiempo de 2 a 5 horas. El ibuprofeno no absorbe a longitudes de onda mayores a 290 nm y a las 22 horas de irradiación la fotólisis medida es 0, por lo tanto es muy estable frente a estas reacciones.

La rápida fotodegradación del ketoprofeno se puede explicar por el hecho de que el grupo carbonilo está conjugado con dos anillos aromáticos. Cuando el carbonilo está altamente conjugado la energía de la transición $\pi - \pi^*$ disminuye, resultando en un triple estado muy reactivo (Lin 2005).

Estos resultados se pueden extrapolar y podemos decir que la fotodegradación es potencialmente significativa en los procesos de remoción para éstos compuestos, pero siempre se debe tener en cuenta los efectos de la matriz con la que estamos trabajando.

La fotooxidación es uno de las vías más comunes debido a que moléculas de oxígeno en estado basal se encuentran en abundancia en el ambiente y por acción de la luz solar se producirán especies muy reactivas que conducirán a la oxidación de moléculas (M. Báez, 2010).

Por lo tanto, al analizar los resultados y los estudios revisados, se puede deducir que la baja adsorción de Ibuprofeno se debe principalmente al fenómeno de biodegradación; la

elevada adsorción del naproxeno se puede deber principalmente a la retención en los sitios activos de ambos suelos; la baja adsorción de ketoprofeno se puede deber a su alta fotodegradación; y la adsorción de diclofenaco se puede deber principalmente a la mezcla de fenómenos de biodegradación en condiciones aeróbicas y de retención en suelos francos.

De acuerdo a los datos obtenidos y los estudios revisados, se puede desprender en primera instancia que al comparar los resultados de ambos suelos sin dosis de biosólido (Tablas 10 y 14) existe una notoria disminución en la cantidad de cada analito detectado en la columna del suelo Linderos, siendo ésta nula para ketoprofeno y diclofenaco. La mayor cantidad de analito en el suelo Lonquén se puede deber a que éste presenta mayor contenido de arcilla, por lo tanto existiría una mayor superficie para la interacción entre el analito y las partículas del suelo.

En el suelo Lonquén sin dosis de biosólido (Gráfico 7) se observa que para el ketoprofeno existe una gran movilidad, detectándose hasta la tercera sección, esto significa que hay poca degradación de este compuesto. El naproxeno presenta movilidad hasta la segunda sección, pero en menor cantidad, por lo tanto, se puede deducir que presenta mayor degradación que el ketoprofeno. El Ibuprofeno también se detecta hasta la segunda sección lo que indica que la matriz del suelo Lonquén juega un rol fundamental en su biodegradación a metabolitos hidroxilados. No se detecta diclofenaco en la columna, el cual, posiblemente pudo ser degradado por la población microbiana o por fotodegradación, oxidaciones, etc.

La Tabla 11 muestra el balance de masa total correspondiente a la cantidad de antiinflamatorio encontrado a lo largo de la columna para el suelo Lonquén sin dosis de biosólido, obteniéndose la mayor adsorción para el ketoprofeno, seguido de naproxeno e ibuprofeno.

Los datos obtenidos, coinciden plenamente con los datos de la literatura (Gráfico 8) donde se muestra que la biodegradación, en suelos con similares características, obedece el siguiente orden: diclofenaco > ibuprofeno > naproxeno (Lin 2011).

En el suelo Linderos sin dosis de biosólido (Tabla 14 y Gráfico 9) sólo se aprecian los compuestos naproxeno e ibuprofeno. El naproxeno presenta poca movilidad,

detectándose sólo en la primera sección de la columna. El ibuprofeno se alcanza a detectar hasta la segunda sección de la columna pero en muy baja concentración; la baja detección se debe a los efectos de matriz y además su baja movilidad se debe principalmente a que la mayor parte del ibuprofeno se biodegrada, alcanzado a lixiviar una mínima parte hasta la segunda sección.

Para el diclofenaco y ketoprofeno no hubo detección en la columna, lo que se puede deber principalmente a una rápida fotodegradación para el ketoprofeno y a biodegradación del diclofenaco, gobernada principalmente por los componentes de la matriz de este suelo.

La Tabla 15 muestra el balance de material correspondiente al suelo Linderos con cero dosis de biosólido. Se observa para los compuestos detectados (ketoprofeno e ibuprofeno) una baja retención en comparación al suelo Lonquén.

Por lo tanto, se puede deducir que los procesos de adsorción, degradación y movilidad de AINEs, en ausencia de biosólido, dependen principalmente de los componentes de cada matriz estudiada.

La Tabla 12 y el Gráfico 8 muestran la movilidad en columnas de lixiviación del suelo Lonquén enriquecidas con biosólido (200 ton/ha). Se observa que tanto para ketoprofeno como para naproxeno, al agregar una dosis significativa de biosólido, las concentraciones disminuyen en un 70,2% y 19,4% respectivamente en la primera sección, mientras que en la segunda sección la disminución alcanza 77,8% y 61,9%, respectivamente; sin embargo, la movilidad de estos analitos a lo largo de la columna no tiene variación. Por lo tanto, se puede inferir que al agregar esta dosis de biosólido al suelo Lonquén solo se disminuye la cantidad de analitos encontrados en cada sección de la columna producto del contenido de materia orgánica existente en el biosólido lo cual podría incrementar la actividad microbiana del sistema, la que ayuda a la degradación de estos compuestos. En el caso del Ibuprofeno, vemos que su concentración aumenta en las secciones 1 y 2 al agregar la dosis de biosólido, aumento que se puede atribuir principalmente a la estructura de este analito, ya que al presentar menor impedimento estérico que los demás compuestos estudiados, lo que le permitiría fijarse a la materia orgánica del biosólido agregado.

Al incorporar los biosólidos al suelo Lonquén (Tabla 13) se aprecia una disminución en la retención de ketoprofeno y de naproxeno, lo que indica principalmente que los

microorganismos presentes en el biosólido contribuyen a la degradación de estos compuestos, en suelos tratados con biosólidos. Por lo tanto, la aplicación de biosólidos permite la degradación de estos compuestos antes que puedan lixiviar hacia las aguas subterráneas.

Al agregar biosólido a las columnas del suelo Linderos (Tabla 16, Gráfico 10), vemos que el ketoprofeno nuevamente no es detectado, por lo tanto se podría confirmar que su proceso de degradación está gobernado exclusivamente por los procesos de fotodegradación y sus diferencias con el suelo Lonquén se puede deber principalmente a la exposición frente a las variadas condiciones de luz solar durante la realización de los experimentos. El naproxeno mantiene su concentración y el ibuprofeno aumenta su concentración. Este incremento puede indicar que al incorporar biosólido hay una mayor retención en la primera sección de las columnas, lo cual es beneficioso, pues impide la lixiviación de estos compuestos hacia las aguas subterráneas impidiendo así su contaminación.

La Tabla 17 muestra los porcentajes de AINEs que quedaron retenidos en la primera sección de la columna al agregar una dosis significativa de biosólido al suelo Linderos. Al comparar estos valores con los obtenidos en el experimento realizado sin dosis de biosólido (Tabla 15) vemos que hay un aumento considerable en la retención de Ibuprofeno, por lo tanto, para el suelo Linderos hay un efecto significativo sobre la movilidad de los compuestos al incorporar una dosis de 200 (t/ha) de biosólidos.

4.6. Estudio del efecto de la incorporación de biosólidos sobre la movilidad de AINEs en suelos con autoclave.

A continuación se presenta los datos de movilidad de los AINEs estudiados en suelo Lonquén esterilizado (enriquecido con 1,2 µg de antiinflamatorios) sin dosis de biosólido.

Tabla 18: Cantidad (µg) de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén esterilizado, 0 (t/ha) biosólido)

Lonquén 0

Sección	Ketop (µg)	Naprox (µg)	Diclof (µg)	Ibuprof (µg)
1	0,10	0	0	0,10
2	0,15	0	0	0,16
3	0,10	0	0	0,09
4	0	0	0	0,06
5	0	0	0	0

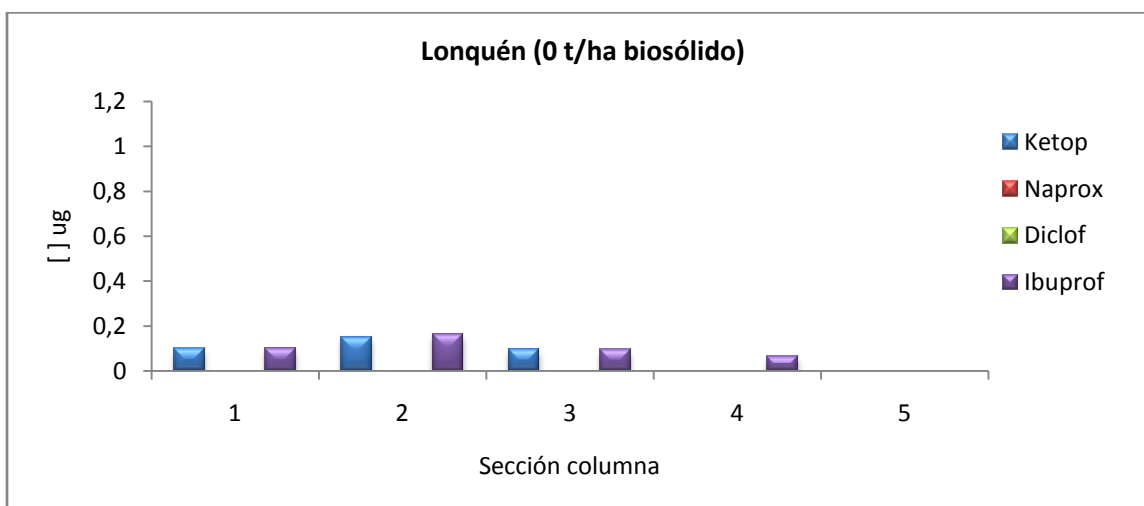


Gráfico 12: Movilidad de AINEs en columnas de lixiviación (Lonquén esterilizado, 0 (t/ha) biosólido)

Tabla 19: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Lonquén esterilizado (0 (t/ha) de biosólido)

Lonquén 0

	Ketop	Naprox	Diclof	Ibuprof
% móvil	29	0	0	34

A continuación se presentan los datos de movilidad para el suelo Lonquén esterilizado (enriquecido con 1,2 µg de antiinflamatorios) con dosis de 200 (t/ha) de Biosólido.

Tabla 20: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén esterilizado, 200 (t/ha) biosólido)

Lonquén 200

Sección	Ketop (µg)	Naprox (µg)	Diclof (µg)	Ibuprof (µg)
1	0,11	0	0,06	0,13
2	0,13	0	0	0,08
3	0,09	0	0	0,05
4	0,06	0	0	0
5	0	0	0	0

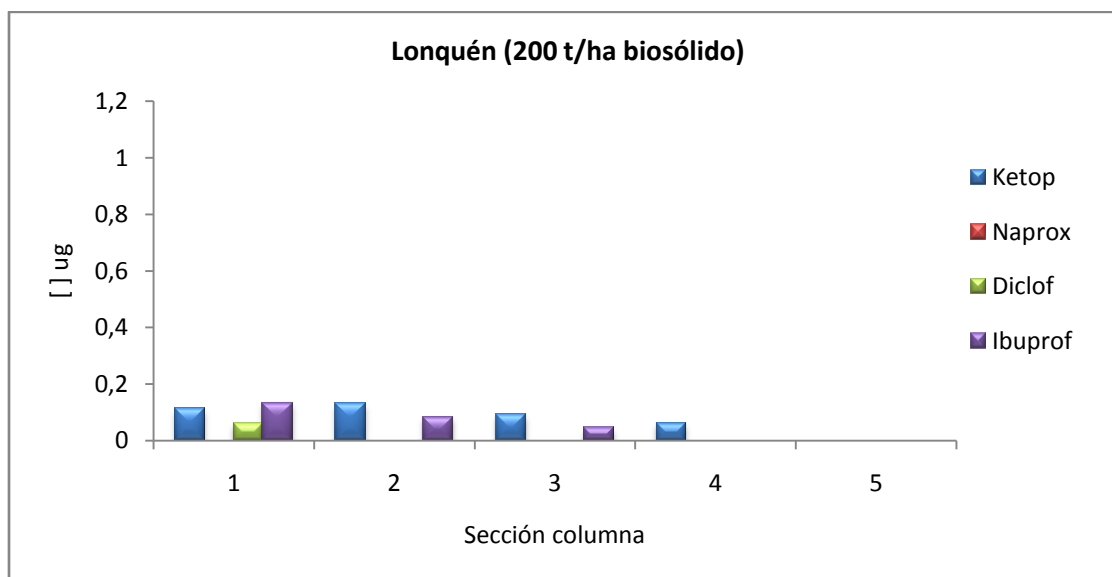


Gráfico 13: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Lonquén esterilizado, 200 (t/ha) biosólido)

Tabla 21: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Lonquén esterilizado (200 (t/ha) de biosólido)

Lonquén 200				
	Ketop	Naprox	Diclof	Ibuprof
% móvil	33	0	5	22

A continuación se presenta los datos de movilidad para el suelo Linderos (enriquecido con 1,2 µg de antiinflamatorios) esterilizado sin dosis de biosólido.

Tabla 22: Cantidad (ug) de AINEs en columna de lixiviación (Linderos con autoclave, 0 (t/ha) biosólido)

Linderos 0

Sección	Ketop (µg)	Naprox (µg)	Diclof (µg)	Ibuprof (µg)
1	0,28	0	0,12	0,14
2	0,29	0	0	0,19
3	0,23	0	0	0,14
4	0,17	0	0	0,05
5	0	0	0	0

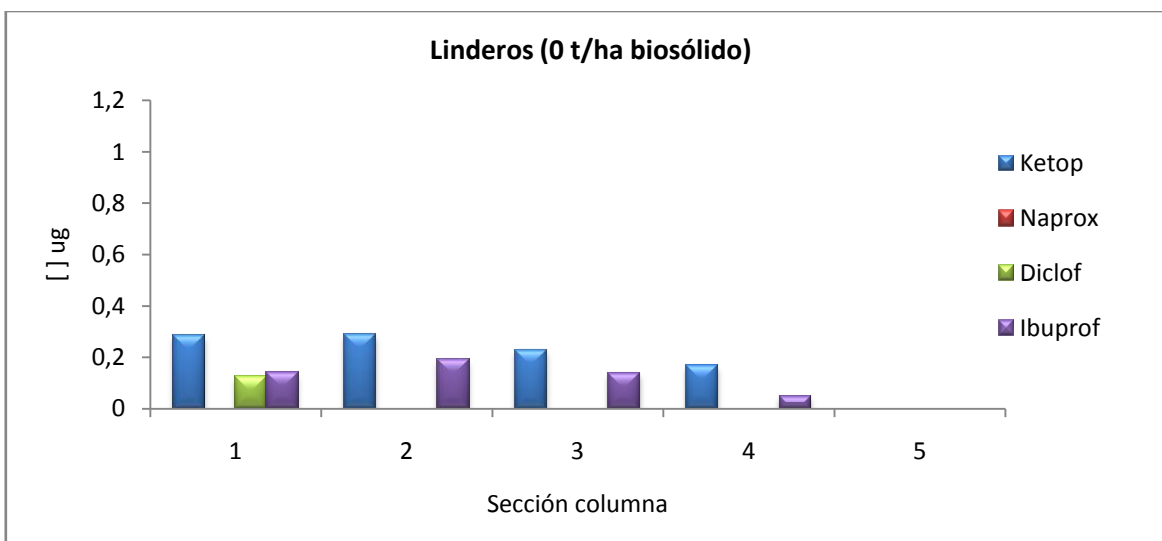


Gráfico 14: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Linderos con autoclave, 0 (t/ha) biosólido)

Tabla 23: Porcentaje de AINEs encontrado en la columna para el suelo Linderos esterilizado (0 (t/ha) de biosólido)

Linderos 0

	Ketop	Naprox	Diclof	Ibuprof
% móvil	81	0	10	43

A continuación se presenta los datos de movilidad del suelo esterilizado Linderos (enriquecido con 1,2 µg de antiinflamatorios) con dosis de 200 (t/ha) de Biosólido.

Tabla 24: Cantidad (µg) de AINEs en columna de lixiviación (Linderos con autoclave, 200 (t/ha) biosólido)

Linderos 200

Sección	Ketop (µg)	Naprox (µg)	Diclof (µg)	Ibuprof (µg)
1	0,09	0	0,1	0,40
2	0,08	0	0	0,31
3	0	0	0	0,2
4	0	0	0	0,04
5	0	0	0	0

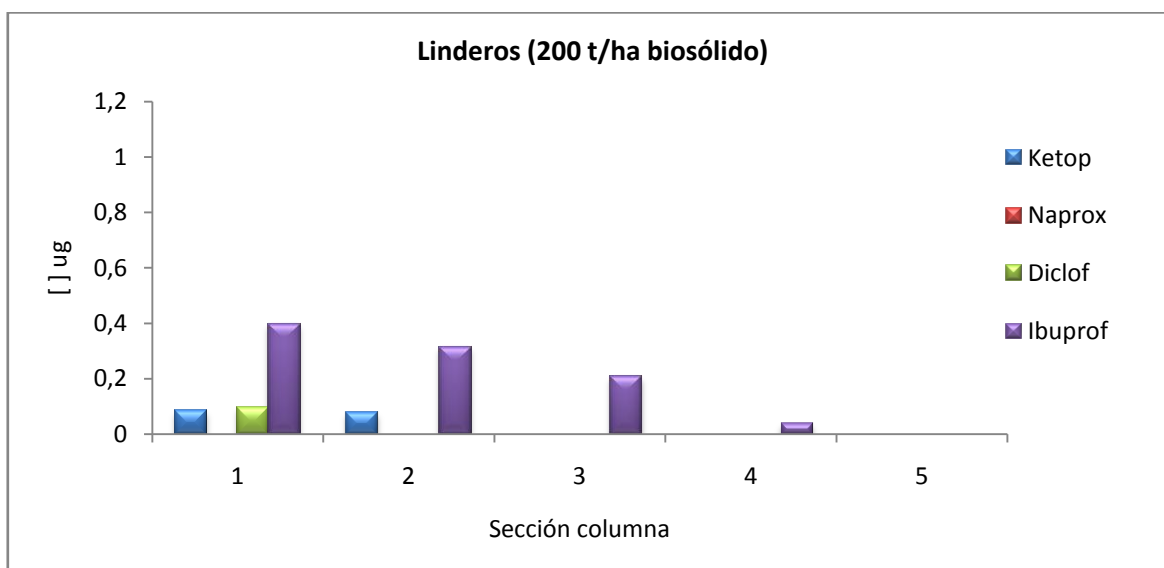


Gráfico 15: Movilidad de AINEs en columna de lixiviación (Linderos con autoclave, 200 (t/ha) biosólido)

Tabla 25: Porcentaje de AINEs encontrado lixiviado en la columna para el suelo Linderos esterilizado (200 (t/ha) de biosólido)

Linderos 200				
	Ketop	Naprox	Diclof	Ibuprof
% móvil	14	0	8	79

Se realiza estos estudios en suelos con autoclave para evaluar cómo influye la actividad microbiana de los suelos en la movilidad de AINEs.

El proceso de autoclave es usado con frecuencia para la investigación de suelos ecológicos. Su uso se basa en la inhibición o remoción de los componentes que tienen actividad biológica del suelo. Se usan altas presiones y temperaturas para eliminar los microorganismos del suelo y como resultado se obtiene una disminución de la biomasa microbiana y en los procesos metabólicos tales como el ciclo del nitrógeno o del fósforo.

Existen diferentes métodos para esterilizar suelos con el objetivo de inhibir la actividad microbiana, los más comunes incluyen: Autoclave, irradiación Gamma, fumigación con cloroformo, óxido de etileno o propileno, irradiación UV y microondas. Estos métodos comúnmente alteran las propiedades físicas y químicas del suelo.

Una porción considerable de Carbono extraíble liberado por estos tratamientos pueden originarse de la fracción sin biomasa de la materia orgánica del suelo, es decir, de la liberación de ácidos orgánicos solubles de la materia húmica y de microorganismos muertos (Razavi, 2007).

Debido al costo del equipamiento involucrado y al tiempo necesario para su aplicación, algunos métodos de esterilización son más aptos que otros. En este caso, los suelos se someten al método de autoclave, generando altas temperaturas y presiones.

En un estudio realizado por Topp (2008), se evalúa la persistencia y mecanismos de disipación de naproxeno en suelos agrícolas, así como también el impacto e influencia que tiene agregar biosólidos a suelos agrícolas sobre la persistencia de naproxeno. El estudio se realiza sobre suelos francos esterilizados que no han tenido contacto previo con biosólidos, por lo tanto, no han sido expuestos a naproxeno ni tampoco a bacterias degradadoras de éste. Se utiliza naproxeno con marcaje isotópico ($[O-^{14}CH_3]$ naproxeno) y se mide el porcentaje de mineralización de éste, es decir, la cantidad de $^{14}CO_2$ producida en rangos de tiempos determinados de incubación. Para determinar si la degradación de naproxeno es resultado de los microorganismos presentes en el biosólido, se realizan ensayos con suelos esterilizados y biosólidos con y sin esterilizar (Gráfico 16).

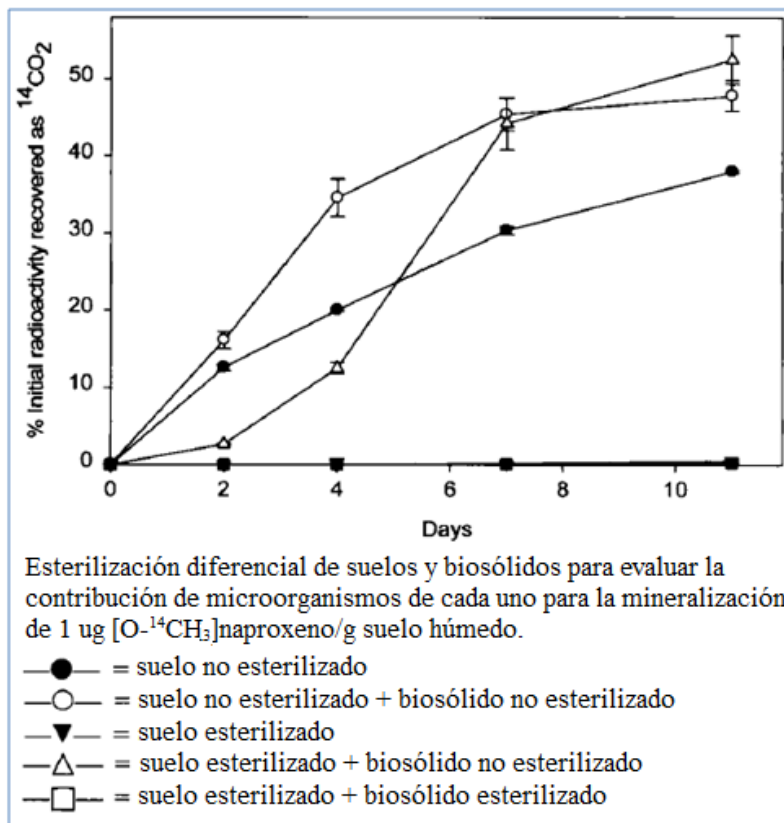


Gráfico 16: Efecto de Biosólidos sobre la disipación de Naproxeno en Suelo

El Gráfico 16 muestra que la disipación (mineralización) de naproxeno es nula en el suelo esterilizado y en éste al incorporar biosólido esterilizado, y a su vez, aumenta considerablemente al utilizar el biosólido sin esterilizar. Se puede deducir entonces, que los microorganismos presentes en el biosólido son de vital importancia en los procesos de degradación de los compuestos a estudiar.

Como se ilustra en la Tabla 18 y el Gráfico 12, para el suelo Lonquén vemos que en general las cantidades disminuyen considerablemente luego de la esterilización del suelo con respecto al suelo Lonquén sin autoclave (Tabla 10, Gráfico 7); el ketoprofeno disminuye su concentración en un 79% en la sección 1, el Ibuprofeno disminuye en un 62% y el naproxeno en un 100%. Al esterilizar el suelo, es probable que debido a las altas presiones y temperaturas a las que se expone el suelo, se modifique la composición de éste dejando menos sitios disponibles que puedan retener a estos compuestos.

Al agregar biosólido al suelo Lonquén esterilizado (Tabla 20 y Gráfico 13), se puede observar que tiende a aumentar la cantidad de ketoprofeno encontrada en las columnas, aumento que podría deberse a la materia orgánica que contiene el biosólido, permitiendo la fijación o retención de los analitos en las distintas secciones de la columna.

El aumento en la cantidad de analito (Tabla 13 y 21) se debe a que éstos se fijan en la materia orgánica del biosólido, y a medida que se van llenando los sitios disponibles para retener estos compuestos junto con la ayuda del riego a la columna, los compuestos lixivian alcanzando mayor profundidad en la columna.

En el caso del suelo Linderos esterilizado sin dosis de biosólido (Tabla 22 y Gráfico 14) en comparación al suelo sin esterilizar (Tabla 13 y Gráfico 9) vemos que existe un aumento tanto en las cantidades detectadas como en la movilidad a través de la columna.

De acuerdo a la Tabla 23, podemos observar también que para el suelo Linderos esterilizado sin dosis de biosólido la cantidad de analito retenido a lo largo de la columna aumenta con respecto al mismo sistema sin esterilizar, debido a la eliminación de la actividad microbiana, lo que lleva a una menor degradación de los analitos y por lo tanto a una mayor detección de éstos.

Para el caso del suelo Linderos esterilizado con la dosis de biosólido correspondiente (200 ton/ha) (Tabla 24 y Gráfico 15), se puede observar un leve aumento en la movilidad de los analitos con respecto al mismo sistema sin esterilizar, este aumento se debe principalmente a que en ausencia de la flora microbiana del suelo, hay menor degradación microbiana.

En este caso, la movilidad aumenta debido a un aumento en la cantidad retenida en la columna (Tabla 25), como es el caso del ketoprofeno y del ibuprofeno. Ambos analitos no tienen grandes niveles de adsorción en Linderos pues se degradan con mayor facilidad, por lo tanto es de esperar que en ausencia de la flora microbiana de este suelo, sus niveles aumenten pues no existe población microbiana que la pueda degradar.

Por lo tanto, al suprimir la actividad microbiana en el suelo Linderos, se deduce que ésta cumple un rol fundamental en la degradación de los analitos.

5. Conclusiones

- La metodología analítica implementada permitió la separación de los cuatro analitos en un tiempo inferior a 22 min. Los analitos eluyeron en el siguiente orden: ketoprofeno, naproxeno, diclofenaco e ibuprofeno.
- Los porcentajes de recuperación para los diferentes AINEs luego de aplicar el procedimiento de extracción en fase sólida, fluctuaron entre un 85% y 100%, lo cual da cuenta de que el procedimiento realizado permite la recuperación cuantitativa de los analitos.
- El método implementado de extracción utilizando acetona y metanol, presentó buenos porcentajes de recuperación de los analitos desde las matrices de suelo, con valores que fluctuaron entre 67% y 99% para ketoprofeno, diclofenaco, naproxeno e ibuprofeno.
- Los estudios de adsorción fueron interpretados a través del modelo de Isoterma de adsorción de Langmuir, indicando la existencia de interacciones químicas entre suelo y antiinflamatorio. Los compuestos estudiados alcanzaron distintos niveles de adsorción, siendo el de mayor adsorción el naproxeno y el de menor adsorción el ketoprofeno. Además, la concentración límite obtenida en los estudios fue de 200 mg/L.
- En los estudios de movilidad de los antiinflamatorios en las columnas de lixiviación en los suelos sin enmienda de biosólido, fue posible la determinación de ketoprofeno, naproxeno e ibuprofeno, los que se encontraron en las primeras fracciones del suelo. No fue posible la determinación de diclofenaco, lo cual se puede atribuir a una rápida biodegradación.
- La aplicación de biosólido sobre los suelos incrementó el contenido de ibuprofeno en la primera fracción de las columnas, mientras que disminuyó en las siguientes fracciones, indicando que la aplicación de biosólido favorecería su retención en la capa superior, lo cual ayudaría a disminuir una posible contaminación, por parte de este compuesto, hacia las aguas subterráneas.

- En los estudios con suelos esterilizados aumenta la retención de analitos en la columna, por lo tanto, los microorganismos del suelo cumplen un rol importante sobre la degradación de los analitos, pues en ausencia de estos (suelo esterilizado) se aprecia una mayor recuperación de éstos.
- Al incorporar biosólidos a los suelos esterilizados, se observó en forma general que la movilidad de los analitos tiende a aumentar; debido a esto se puede deducir que su aplicación en suelos sin la flora microbiana suficientemente apta para degradar los analitos estudiados podría ser perjudicial, pues esto permitiría una posible contaminación de aguas subterráneas.

6. Bibliografía

- AGUAS ANDINAS. Tratamiento de Aguas Servidas. [en línea]. <<http://www.aguasandinas.cl/weblectorrealinfo/tapa.aspx?&sitio=1&cuerpo=114&edicion=6>> [Consulta: 13 enero 2012].
- A. Gentili. 2007. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in environmental samples by chromatographic and electrophoretic techniques. *Anal Bioanal Chem.* 387:1185–1202
- A. Lin; Martin Reinhard. 2005. Photodegradation of common environmental pharmaceuticals and estrogens in river water. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 24 (6) 1303-1309.
- A. Lin; Megan H Plumlee; Martin Reinhard. 2006. Natural attenuation of pharmaceuticals and alkylphenol polyethoxylate metabolites during river transport: Photochemical and biological transformation. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 25(6): 1458-1464.
- Centro de Información de Recursos Naturales. Descripción de Suelos, Materiales y Símbolos. Publicación 115. Región Metropolitana, Ciren CORFO, 1996. Tomo II.
- Chromatography Columns And Supplies Catalog, U.S.A, (8-9). 2008-2009.
- C. Leiva, Inés Ahumada, Betsabet Sepúlveda, Pablo Richter. 2010. Polychlorinated biphenyl behavior in soils amended with biosolids. *Chemosphere.* 79: 273–277.
- D.S.N° 004, de 2009, del Ministerio Secretaría General de la Presidencia (DO 28.10.09), Reglamento para el manejo de lodos generados en plantas de tratamiento de aguas servidas.
- D. Carter, David Yellowlees, Mark Tibbett. 2007. Autoclaving kills soil microbes yet soil enzymes remain active. *Pedobiologia,* 51: 295-299.

- E. Topp; John G Hendel; David R Lapen; Ralph Chapman. 2008. Fate of the nonsteroidal anti-inflammatory drug naproxen in agricultural soil receiving liquid municipal biosolids. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 27: (10) 2005-2010.
- J.L. Santos, I. Aparicio, E. Alonso, M. Callejón. 2005. Simultaneous determination of pharmaceutically active compounds in wastewater samples by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array and fluorescence detectors. *Analytica Chimica Acta*, 550:116–122.
- Jackson M.L. 1970. *Análisis químico de suelos*. Ediciones Omega S.A. Barcelona, España. pp 102.
- J. Rámila G., Sebastián I. Rojas B., Alternativas de uso y disposición de Biosólidos y su impacto en las tarifas de agua. Seminario (Ingeniero Comercial Mención Administración). Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Economía y Negocios, 2008. 9-28.
- K. Lin, Jay Gan. 2011. Sorption and degradation of wastewater-associated non-steroidal anti-inflammatory drugs and antibiotics in soils. *Chemosphere* 83: 240-246.
- M. Ferial. 2005. Fármacos analgésicos-antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos. Antiartríticos. En: JESÚS FLÓREZ. *Farmacología Humana*. Cuarta Edición. España. Masson, 355-387.
- M. Gómez, Mira Petrovic, Amadeo R. Fernández-Alba, Damiá Barceló. 2006. Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. *Journal of Chromatography A*, 1114: 224–233.
- M. Gross, Mira Petrović, Damiá Barceló. 2006. Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 70: 678–690.

- Sadzawka M.A. et al. 2006. Métodos de Análisis Recomendados para los Suelos de Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Serie Actas INIA-N°34, Santiago, Chile.
- S. Razavi darbar, A. Lakzian. 2007. Evaluation of chemical and biological consequences of soil sterilization methods. *Caspian J. Env. Sci.*, 5: (2) 87~91.
- S. Weigel, Roland Kallenborn, Heinrich Hühnerfuss. 2004. Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples at ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1023:183–195.
- T. Ternes, Matthias Bonerz, Nadine Herrmann, Dirk Löffler, Elvira Keller, Bárbara Bagó Lacida, Alfredo C. Alder. 2005. Determination of pharmaceuticals, iodinated contrast media and musk fragrances in sludge by LC/tandem MS and GC/MS. *Journal of Chromatography A*, 1067: 213–223.
- UNIVERSIA. Uso y abuso de los antiinflamatorios: Alerta por alto consumo. [en línea] <<http://noticias.universia.cl/vida-universitaria/noticia/2009/04/15/291698/uso-abuso-antiinflamatorios-alerta-alto-consumo.html>> [consulta: 13 de enero 2012].

7. Anexos

TABLA A 1: Contenido de metales traza en suelo Linderos, suelo Lonquén y en biosólido.

	LINDEROS		LONQUEN		BIOSÓLIDO	
	(mg/kg)	Desv. Est.	(mg/kg)	Desv. Est.	(mg/kg)	Desv. Est.
Cu	150,360	0,585	80,920	1,731	629,751	17,770
Zn	245,667	5,222	147,554	2,913	1497,913	19,887
Ni	55,004	9,246	47,821	9,495	99,741	1,876
Pb	51,784	3,339	47,425	1,289	64,907	3,993
Cr	34,361	1,972	47,388	16,115	366,685	21,211
Cd	3,670	0,285	2,860	0,197	2,992	0,103

TABLA A 2: Curvas estándar en matriz (1) y en solvente (2) para los cuatro AINEs en el suelo Lonquén (Los datos muestran la lectura de área a distintas concentraciones de AINEs).

(1) CURVA MATRIZ (LONQUÉN)

[] ppm	Ketoprofeno	Naproxeno	Diclofenaco	Ibuprofeno
0,5	271186	591511	164355	443925
1	509566	922975	353451	871177
5	1052804	2046822	597213	1589439
10	1957183	4218067	1279768	3003988
15	2954368	6380761	1985142	4525210

(2) CURVA SOLVENTE (LONQUÉN)

[] ppm	Ketoprofeno	Naproxeno	Diclofenaco	Ibuprofeno
0,1	42923	160377	53872	64974
0,5	165214	355297	118500	264008
1	262032	540053	201281	392848
5	900555	1926643	674928	1470680
10	1614855	3644971	1322082	2573800
20	3245570	7598681	2450518	5117397

TABLA A 3: Curvas estándar en matriz (1) y en solvente (2) para los cuatro AINEs en el suelo Linderos (Los datos muestran la lectura de área a distintas concentraciones de AINEs.

(1) CURVA MATRIZ (LINDEROS)

[] ppm	Ketoprofeno	Naproxeno	Diclofenaco	Ibuprofeno
0,5	699539	1139156	299632	793187
1	678723	1116611	257794	863964
5	1360736	2510241	725005	1834257
10	2288016	4546423	1377200	3340063
15	3403450	6930152	2127364	4990798

(2) CURVA SOLVENTE (LINDEROS)

[] ppm	Ketoprofeno	Naproxeno	Diclofenaco	Ibuprofeno
0,5	25130	234067	50475	103900
2	320060	791185	219383	453306
8	1229010	3014379	803501	1800176
10	1586668	3736601	1060531	2093474
20	3085927	7149449	2047222	4319769

TABLA A 4: Concentración de AINEs adsorbidos en suelo Linderos.

[] Jeq. AINEs (ppm)	Ketoprofeno (mg/g)	Naproxeno (mg/g)	Diclofenaco (mg/g)	Ibuprofeno (mg/g)
10	0,003	0,038	0,011	0,006
25	0,005	0,057	0,018	0,009
50	0,012	0,097	0,047	0,014
100	0,030	0,171	0,086	0,031
150	0,038	0,196	0,138	0,042
200	0,035	0,186	0,132	0,042
300	0,031	0,179	0,126	0,041
500	0,024	0,166	0,120	0,042