

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**  
**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**EVALUACION DE VALERATO DE ESTRADIOL EN AGUA POTABLE  
PROVENIENTE DE LA PLANTA POTABILIZADORA DEL PROYECTO RIO  
LEMPA EN LA COLONIA BELLA VISTA, SOYAPANGO.**

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:**

**CARLOS ALEXANDER LOPEZ GARCIA.**

**MABEL BEATRIZ NAVARRO CALDERON.**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:  
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA.**

**JUNIO DE 2009**

**SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR.**

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ.

**SECRETARIO GENERAL.**

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ.

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA.**

**DECANO.**

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO.

**SECRETARIA.**

MSc. MORENA LIZETTE MARTINEZ DE DIAZ.

**COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION.**

**COORDINADORA GENERAL.**

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo.

**ASESORA DE AREA DE ANALISIS DE ALIMENTOS: FISICOQUIMICO**

Ing. Rina Lavinia Hidalgo de Medrano.

**ASESORA DE AREA DE GESTION AMBIENTAL: CALIDAD AMBIENTAL.**

Licda. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez.

**DOCENTE DIRECTOR.**

Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras.

## **AGRADECIMIENTOS.**

A los asesores de área que por su asesoría y conocimientos relacionados a este tema de la investigación, contribuyó a una investigación profunda, completa y profesional integrándonos a un carácter profesional.

A los habitantes de la Colonia Bella Vista por su valioso aporte y confianza, que fueron un apoyo importantísimo en que esta investigación se pudiera llevar a cabo con el mayor de los éxitos.

Al Licdo. Henry Alfredo Hernández Contreras que fue nuestro docente director que nos proporciono su tiempo y asistirnos en la revisión, orientación y supervisión del desarrollo de este trabajo hasta su finalización y por toda la bibliografía que nos brindo durante el desarrollo de la investigación.

A todas las personas que brindaron su colaboración en diferentes aspectos para el desarrollo de este trabajo.

“Dios recompensa al dador alegre”

Bendiciones para todos

## **DEDICATORIA.**

A Dios Todopoderoso: porque me iluminó y estuvo conmigo en todo momento de mi formación, y cada instante de mi vida.

A mis padres: Clementina López Argueta y José Carlos García (Q.E.P.D), por darme la vida, apoyo espiritual, esfuerzos y muchos sacrificios para ayudarme a alcanzar mi meta.

A mis Hermanos/as: José Salvador López, Mercedes López, Bartolomé López (Q.E.P.D.), José López, María López, Julia López, Domiciano López, Irma López, Elsa López, Carmen López, por su apoyo moral e intelectual y brindarme su amor fraternal.

A personas muy especiales como mi esposa Marisela Castro de López a nuestro pequeño Jostine que me alentaron en todo momento confortándome en cualquier circunstancia, dándole un toque de alegría a mí viva.

A mis Hermanos/as de la Iglesia que estuvieron orando a Dios por mí, para la culminación de mi carrera. A mi compañera de tesis Mabel Beatriz Navarro y su familia por apoyarme siempre.

Y a familiares y amigos/as incondicionales que me motivaron a seguir adelante, tales como Licdo. Henry Hernández, Licda. Alba Julia de Meléndez y personal de farmacia del Hospital de Gotera; en fin a todos los que me impulsaron a realizar mi carrera y ayudarme a ser lo que ahora soy.

**Carlos García.**

## **DEDICATORIA.**

A Dios todo poderoso por haberme ayudado, instruido e iluminado con su santo espíritu en esta investigación y a la Santísima Virgen María por su intercesión en todo momento “Mío es el consejo y mía es la cordura, mía es la prudencia y mía es la fuerza” Proverbios 8-14.

A mi Familia Mabel Calderón, Manuel Navarro y Flor Navarro que me apoyaron a lo largo de todo mi caminar porque creyeron en mí con sus acciones y todo su amor.

A Carlos López por ser parte de este proyecto y por no rendirse en los momentos difíciles por su paciencia y su fe en que lograríamos este proyecto y toda la dedicación que le coloco.

A Ministerio de Jóvenes Guadalupanos (MJG) por todas sus oraciones sus palabras de aliento que me animaban a salir adelante y por brindarme siempre su apoyo y cariño.

A todos mis amigos/as que Dios me dio la oportunidad de conocer a lo largo de esta carrera ya que de una u otra forma me ayudaron a creer nuevamente en mi misma y jamás dejaron que me venciera y siempre estuvieron apoyándome pese a la distancia o a los problemas que tenían siempre guardaron un espacio para saber de mí.

A mi docente director quien leyó este documento y me indico un sin numero de mejoras formas de aclarar los conceptos para la lectura del presente informe.

**Mabel Navarro.**

## INDICE.

	Pág.
Resumen	
<b>Capítulo I</b>	
1.0 Introducción	xvi
<b>Capítulo II</b>	
2.0 Objetivos	
<b>Capítulo III</b>	
3.0 Marco Teórico	21
3.1 Generalidades	21
3.2 Farmacocinética	22
3.3 Anticonceptivos orales solo de progestágenos	23
3.4 Anticonceptivos orales combinados	27
3.5 Interacciones medicamentosas	28
3.5.1 Interacciones farmacológicas que afectan el metabolismo de los anticonceptivos orales	28
3.6 Potabilización de agua	30
3.6.1 Tratamientos de aguas residuales	30
3.7 Planta de potabilización	32
3.8 Monografía del Estradiol	42
<b>Capítulo IV</b>	
4.0 Diseño metodológico	48

4.1	Tipo de estudio	48
4.2	Investigación bibliográfica	48
4.3	Investigación de campo	49
4.3.1	Universo	49
4.3.2	Muestra	49
4.3.3	Técnicas de muestreo	52
4.4	Parte experimental	52
4.4.1	Metodología de análisis de las muestras	52
4.5	Procedimiento para recolectar muestras	55
4.6	Preparación de las soluciones estándar.	56
4.7	Procedimiento para lecturas en el espectrofotómetro .	58
4.8	Procedimiento para leer las muestras.	59
<b>Capítulo V</b>		
5.0	Resultados.	61
<b>Capítulo VI</b>		
6.0	Conclusiones.	78
<b>Capítulo VII</b>		
7.0	Recomendaciones.	81
	Bibliografía	
	Glosario	
	Anexos	



## **INDICE DE ANEXOS.**

### **Anexo Nº:**

1. Estructuras químicas de anticonceptivos.
2. Mapa satelital de la colonia Bella Vista en el municipio de Soyapango.
3. Croquis de la colonia Bella Vista en Soyapango.
4. Análisis de hormonas esteroidales.
5. Listado de reactivos material y equipo.
6. Monografía del Valerato de Estradiol.
7. Certificado de la materia prima Valerato de Estradiol.

## INDICE DE FIGURAS.

<b>FIGURA Nº.</b>	<b>Pág.</b>
1. Planta de potabilización de agua	33
2. Estructura del Estradiol	42
3. Esquema de metodología de trabajo para la recolección de muestras de agua.	55
4. Esquema de metodología de trabajo para la preparación de soluciones de estándares.	56
5. Esquema de metodología de trabajo para la preparación de la solución hidroalcohólica.	57
6. Esquema de metodología de trabajo para lectura de estándares de Valerato de Estradiol.	58
7. Esquema metodología de trabajo para lecturas de muestras de agua.	59
8. Espectro de la muestra numero 4 del mes de octubre	67
9. Promedio de los tres muestreos	70
10. Curva de calibración del Valerato de Estradiol	72
11. Espectro del Valerato de Estradiol de concentración de 160, 100, 75, 50 y 25 µg/mL	73
12. Espectros UV e IR del Valerato de Estradiol	74

## INDICE DE TABLAS.

<b>TABLA No.</b>	<b>Pág.</b>
1. Resumen del muestreo en el mes de agosto	62
2. Resumen de los resultados en el mes de agosto.	63
3. Resumen del muestreo en el mes de octubre	65
4. Resumen de los resultados en el mes de octubre	66
5. Lecturas del corrido de la muestra número cuatro	66
6. Resumen del muestreo en el mes de noviembre	68
7. Resumen de los resultados en el mes de noviembre	69
8. Promedios de cada época de muestreo	70
9. Resultados de los estándares de trabajo	71

## **RESUMEN.**

El agua es un líquido esencial para la vida, pero hoy en día este líquido tanpreciado se ve amenazado por los diferentes contaminantes que se desechan de las actividades industriales, agrícolas y la propia basura, se han encontrado en ella, nuevas sustancias, que no son nada más que fármacos que se ingieren en la población y que pueden encontrarse en el agua que se suministra como apta para consumo humano.

Según estudios realizados anteriormente se ha demostrado presencia de diferentes sustancias medicamentosas (antibióticos, anticonceptivos y otras), en agua potable o en ríos de las diferentes ciudades del mundo en cantidades pequeñas y altas.

Se cree que unas de las sustancias que pueden ocasionar daños perjudiciales a la salud son los anticonceptivos, a los cuales, lo que se le atribuye daños al sistema endocrino de animales que han permanecido en contacto con este tipo de aguas. Es por esto en esta investigación pretende determinar si el agua potable suministrada contiene Valerato de Estradiol.

Preguntándonos si en el país está en una situación similar, en donde las aguas de los ríos los cuales sirven como medio receptor de los desechos de comunidades e industrias y que son utilizadas para potabilizar, están presentando cierta cantidad de sustancias terapéuticas (anticonceptivos), cómo contaminantes, a estos se atribuye la importancia de evaluar si el agua potable que es suministrada por la Administración Nacional de Acueductos y

Alcantarillados, proveniente de la planta del Río Lempa en Tacachico a las diferentes redes del Gran San Salvador, presentó cantidades de Valerato de Estradiol en bajas concentraciones y no se puede afirmar con tal grado de seguridad que correspondan al compuesto en estudio por que la muestra contiene muchas sustancias de naturaleza desconocida.

Se analizaron 22 muestras de agua en las casas de la Colonia Bella Vista, Soyapango, San Salvador, la que es abastecida por dicha planta, en un período comprendido desde Agosto, Octubre y Noviembre del año 2008.

Las muestras fueron analizadas por medio de Espectrofotometría Ultravioleta y mediante soluciones estándares de trabajo (Valerato de estradiol), se facilitó la identificación de la sustancia que se pretendía encontrar, para la cuantificación del Valerato de Estradiol se utilizo la Ley de Beer.

Se concluyó que sí se encontró la sustancia en estudio pero no en valores muy altos en el agua potable por lo tanto no podemos afirmar por completo que sea de Valerato de Estradiol (debido a que son cantidades muy pequeñas) que venían proveniente de la planta del Río Lempa en la Colonia Bella Vista en Soyapango. Los datos obtenidos se darán a conocer al Ministerio de Salud y Asistencia Social, Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados, así como la comunidad bajo estudio.

Es necesario darle una continuidad a esta investigación, empleando equipos más sensibles así como evaluar otras sustancias y los daños que pueden

ocasionar a la salud del ser humano, a corto y largo plazo al consumir este tipo de sustancias presentes en el agua de consumo humano.

**CAPITULO I**  
**INTRODUCCION.**

## 1.0 INTRODUCCION.

El agua potable es uno de los elementos vitales que el ser humano debe consumir, ésta debe estar libre de todo elemento contaminante que dañe la salud de las personas.

La presente investigación demostró una presencia pero no significativa, de anticonceptivos orales químicos (Valerato de Estradiol), en el agua potable proveniente de la planta potabilizadora del Proyecto Río Lempa, suministrada por la empresa ANDA, el estudio se realizó en la Colonia Bella Vista, Soyapango; que consta de 34 viviendas, las cuales, de acuerdo al diseño estadístico se obtuvieron 22 muestras de agua, que posteriormente fueron analizadas en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

En su mayoría los anticonceptivos son usados ampliamente a nivel mundial. Cuando una persona o un animal ingieren estos fármacos, gran parte del principio activo que forma el medicamento se excreta a través de la orina y las heces; llegando así a los ríos y convirtiéndose en nuevos contaminantes del agua: éstas aguas llegan a las plantas potabilizadoras para ser tratadas, con el inconveniente que no todos los contaminantes son retenidos o eliminados del agua mediante este proceso.

El problema es que los procesos que dan estas plantas potabilizadoras no aseguran que se eliminen o que se retienen residuos farmacológicos en su



totalidad y al final, aunque en cantidades muy pequeñas, terminan presentándose en el agua de los grifos de las casas y es así como ingresan al organismo del ser humano, estando expuestos a medicamentos de otras personas a través del agua que se bebe, perjudicando así el sistema endocrino u otra parte del cuerpo.

Investigaciones anteriores <sup>(25)</sup>, demuestran que las sustancias anticonceptivas en el agua, afectan a la población marina: en los peces se encontraron signos de intersexualidad en los que se da la coexistencia del tejido testicular y del ovario (el fenómeno se le atribuye a fármacos y contaminantes de diferentes orígenes). Se cree que a medida transcurre el tiempo aparecen efectos sobre la salud de las personas y animales en general.

Esta investigación se realizó mediante el método de Espectrofotometría Ultravioleta-Visible, lo cual consistió en identificar la sustancia con la ayuda de soluciones de estándares de trabajo de Valerato de Estradiol.

## **CAPITULO II**

### **OBJETIVOS.**

## **2.0 OBJETIVOS.**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar la presencia de Valerato de Estradiol en agua potable proveniente de la Planta Potabilizadora del Proyecto Río Lempa en la Colonia Bella Vista Soyapango.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- 2.2.1** Enunciar los riesgos que conlleva el consumo de agua potable contaminada con Valerato de Estradiol.
- 2.2.2** Obtener la curva de calibración del estándar de trabajo de Valerato de Estradiol de diferentes concentraciones por medio del Método de Espectrofotometría Ultravioleta-Visible.
- 2.2.3** Obtener los espectros de absorbancia del estándar de trabajo y muestras que permita la identificación y determinación de la presencia de estos contaminantes en el agua potable.
- 2.2.4** Cuantificar la concentración de Valerato de estradiol en muestras.
- 2.2.5** Determinar la calidad del agua potable con respecto al Valerato de Estradiol.

**CAPITULOS III**  
**MARCO TEORICO.**

### **3.0 MARCO TEORICO.**

#### **3.1 GENERALIDADES.**

Los anticonceptivos son fármacos de origen esteroidal utilizados para evitar la acción de fecundación del espermatozoide en el ovario.

Actualmente consumir fármacos anticonceptivos es muy común como tomarse un analgésico para curar un dolor cualquiera, es por eso que son tan conocidos por la población.

Por regla general la gente piensa que al tomar un medicamento, el cuerpo lo absorbe y lo metaboliza sin dejar rastro. Pero no es así. Cuando se toma un fármaco parte de esa medicación se absorbe, pero el resto vuelve a salir del organismo por las heces y la orina y eliminado por el retrete; y es así mediante las aguas residuales que llega a embalses, ríos y lagos, posteriormente estas aguas son tratadas mediante plantas potabilizadoras y así convertirlas en aguas potables para ser transportadas hasta los grifos de los diferentes hogares; no obstante los procedimientos de estas plantas de tratamiento no aseguran que son capaces de eliminar o retener estas sustancias, es por ello que se transportan con el agua potable siendo ingeridas por las personas.

La utilización de hormonas como sistema anticonceptivo se basa en el hecho de poder interferir las comunicaciones normales que sincronizan un mecanismo tan complejo como es la ovulación, el funcionalismo tubárico, la preparación del endometrio y las modificaciones del moco cervical.

Mecanismo de acción de los anticonceptivos hormonales esteroides <sup>(7)</sup>:

- a). Asincronía endometrial con creación del entorno hostil para la implantación.
- b). Alteración de la calidad del moco cervical, que se constituye en obstáculo para el paso de los espermatozoides.
- c). Desensibilización del ovario a las gonadotropinas.

Todo ello constituye una barrera inaccesible para el paso del espermatozoide.

Es curioso constatar que estos cambios ocurren con la mayoría de tipos y preparados hormonales utilizados. Estos cambios ocurren de forma rápida, visibles ya a las 24-48 horas de la utilización.

Acciones sobre el ovario.

La morfología ovárica cambia durante el uso de los anticonceptivos orales. Así, se puede apreciar un cambio en su volumen, con desaparición de estructuras funcionales tales como cuerpos lúteos recientes o incluso cuerpos albicans.

### **3.2 Farmacocinética.**

El proceso de metabolización descrito condiciona la farmacocinética del estrógeno. La curva plasmática presenta dos fases. La primera fase de aproximadamente 6-8 horas, y se caracteriza por un aumento rápido, con pico plasmático entre 1 y 2 horas, y un rápido descenso consiguiente.

En esto se parecen a los estrógenos naturales, que sí sufren la acción de la 17- $\beta$ -estradiol-dehidrogenasa. Sin embargo, la ventaja de el etinilestradiol,

escapando a la acción de este enzima y consiguiendo una biodisponibilidad mucho más alta, puede apreciarse porque el aumento relativo desde sus niveles basales (500%), es conseguido con dosis 20 veces inferiores a las correspondientes de los estrógenos naturales. Durante la segunda fase, el factor determinante es la circulación enterohepática, que condiciona un proceso de metabolización y eliminación lenta.

Escapan casi por completo a la acción de la circulación enterohepática, puesto que mayoritariamente son insensibles a los procesos de conjugación. Se acumulan, sin embargo, en variada medida en el tejido graso, lo que puede funcionar como un sistema de depósito, del que se liberan a más largo plazo.

### **3.3 Anticonceptivos orales solo de Progestágeno <sup>(1)</sup>.**

#### **Mecanismo de Acción.**

Aumentan la consistencia del moco cervical, lo que dificulta el paso de los espermatozoides.

Impide la ovulación (salida del ovulo de los ovarios), en más de la mitad de los ciclos menstruales.

La acción anticonceptiva la producen tanto los estrógenos como los progestágenos a través del cual ejercen su acción por inhibición de secreción de la gonadotropina hipofisaria.

Los géstagenos por vía oral se han denominado mini píldoras y los estrógenos solos, se les denominan píldoras de la mañana. La dosis de estos anticonceptivos (géstagenos y estrógenos), más usada es:

Dosis: Estrógenos Etinilestradiol 0.015-0.050 mg y se recomiendan dosis más baja para disminuir efectos secundarios en los anticonceptivos orales.

Desde siempre se ha reconocido la necesidad de la anticoncepción oral. En 1929, Eduard Doisy en E.E.U.U. identificó a la hormona que inicialmente había estudiado Knauer y la llamó Estrógeno (que significa Oistros = deseos locos, y Gennein = engendrar). Años después Butenandt identifica la Estrona, un derivado estrogénico y en 1932 Doisy aísla otro derivado, el Estradiol que es uno de los anticonceptivos más usados con el Etinil-estradiol que se sintetizó en 1938.

El estradiol es un estrógeno que produce gran variedad de efectos fisiológicos. En el caso de las mujeres, dichos efectos comprenden acciones vinculadas con el desarrollo, efectos neuroendocrinos involucrados en el control de la ovulación, preparación cíclica de las vías de reproducción para la fecundación e implantación. El uso terapéutico de estrógenos se halla extremadamente difundido, y sus efectos farmacológicos son un fiel reflejo de sus acciones fisiológicas.

Las aplicaciones más frecuentes de esos compuestos son la hormonoterapia de restitución en posmenopáusicas y la anticoncepción, aunque los medicamentos y las dosificaciones específicos que se utilizan en esas dos situaciones son diametralmente diferentes.

Aún cuando los anticonceptivos orales se utilizan de manera primaria para prevenir el embarazo, también generan importantes beneficios para la salud,



más allá de la anticoncepción. El  $17\beta$ -estradiol es el estrógeno natural más potente en seres humanos, seguido por la estrona y el estriol. Cada una de esas moléculas es un esteroide de 18 carbonos, que contiene un anillo fenólico A (un anillo aromático con un grupo hidroxilo en el carbono 3) y un grupo  $\beta$ -hidroxilo o cetona en la posición 17 del anillo D. El anillo fenólico A es la principal característica estructural, de la cual depende la unión selectiva y de alta afinidad a receptores de estrógenos. El  $17\beta$ -estradiol es absorbido rápida y completamente por el tracto gastrointestinal. El estradiol se transforma en el hígado y en otros tejidos en estrona y estriol<sub>(16)</sub>, y en sus derivados 2-hidroxilados y otros metabolitos. Tras la administración oral, el estradiol es eliminado por la orina y las heces. Para la síntesis del estradiol, es necesaria la acción combinada de las gonadotropinas (LH), que van a estimular las células intersticiales del estroma y el cuerpo lúteo del ovario y las gonadotropinas (FSH) que fijarán su acción sobre las células granulosas del folículo de Graaf. El estradiol se fija a la globulina fijadora de  $17\beta$ -estradiol en el plasma circulante, no siendo así en el caso de la estrona y el estriol que sólo se fijan débilmente. Así mismo el estradiol experimenta un complejo metabolismo en los tejidos periféricos y en el hígado que comprende una oxidación reversible a estrona y una hidroxilación irreversible en C-2 y C-16. Los metabolitos se conjugan con ácido sulfúrico o glucurónico y se excretan por la orina o a la bilis. Los metabolitos biliares pueden sufrir más transformaciones metabólicas por acción de la flora intestinal siendo reabsorbidos en la circulación portal.

El estradiol es comúnmente recomendado para las siguientes indicaciones terapéuticas <sup>(27)</sup>: tratamiento sintomático de menopausia, profilaxis y tratamiento de secuelas posmenopáusicas por falta de estrógenos, osteoporosis, vaginitis atrófica, uretritis atrófica. El estradiol no debe de suministrarse en caso de embarazo o sospecha del mismo tampoco se puede administrar si se posee una enfermedad hepática aguda o crónica, o antecedentes de la misma con pruebas de función hepática que no dieron valores normales. Así mismo podemos citar en otro tipo de enfermedades como son: renal grave, trombosis venosa profunda, alteraciones tromboembólicas, anemia de células falciformes. Cáncer de mama, o antecedentes del mismo. Trastornos congénitos del metabolismo lipídico. Diabetes grave con cambios vasculares. Tumores hepáticos y otras enfermedades relacionadas. En 1960 se introducen masivamente en todo el mundo los anticonceptivos orales.

Desde entonces son considerados, John Rock y Gregory Pincus, los padres de la píldora anticonceptiva.

El Levonorgestrel fue la base de los primeros anticonceptivos orales combinados que incluían 30 µg de Etil-Estradiol, siendo el Microgynon el primer microdosis introducido, en 1973. Durante la década de los ochenta se introdujeron el Gestodeno, Norgestimato y Desogestrel también del grupo de los Gonano, que tienen al parecer un impacto metabólico favorable mucho mayor que sus predecesores.

La combinación de uno de estos, con el Etilnil-estradiol, conforman los anticonceptivos de última generación, los de gran uso y de amplia evaluación actual, donde el sinergismo es evidente.

En 1998 son introducidos en Colombia los anticonceptivos orales combinados de muy baja dosis que asocian 20 µg de Etilnil Estradiol y 75 µg de Gestodeno. Las pequeñas cantidades de estrógeno y gestágeno, en combinación, inhiben mejor la ovulación que grandes cantidades de estrógeno o gestágeno solos.

### **3.4 Anticonceptivos Orales Combinados.**

Incluyen una mezcla de estrógeno y gestágeno para el ciclo anticonceptivo.

Los anticonceptivos orales combinados, según la concentración del estrógeno, siendo el Etilnil-Estradiol el de más amplia utilización hoy día, se subdividen en:

1º). Macro dosis. Cuando la concentración de Etilnil-estradiol es superior a 50 µg en cada tableta.

2º). Micro dosis. Si la concentración es inferior a 50 µg.

3º). Muy baja dosis. Si la concentración es inferior a 30 µg.

Sólo los anticonceptivos orales combinados: monofásicos o trifásicos, de micro dosis o de muy baja dosis, tienen aplicación en la anticoncepción oral moderna.

- Efectos adversos causados por los anticonceptivos orales combinado monofásico o trifásicos <sup>(7)</sup>:

Cefalea (0.6 - 13%). La tensión mamaria se presenta en el 0.5 - 12%, nerviosismo 0 - 8.4%, náuseas 0 - 6%, depresión 0 - 4% y vértigos 0 - 3%. La ganancia de peso y el incremento de la tensión arterial son generalmente ocasionales y ocurre acné en el 0.3 - 5.8% de las usuarias. La incidencia de estos efectos adversos después de tres o cuatro ciclos de ingesta de la píldora es similar a la de antes de utilizarlos.

### **3.5 Interacciones Medicamentosas.**

Se entiende por interacción farmacológica las alteraciones que un fármaco sufre en su farmacocinética o farmacodinamia, como resultado de la acción de otro fármaco administrado simultáneamente.

El resultado de la interacción, normalmente negativo, puede afectar profundamente la acción del fármaco y, en el caso de los anticonceptivos hormonales, a su acción anticonceptiva.

Por otra parte, el hecho de la cronicidad de la terapia hormonal aconseja el estudio de las posibles interacciones que pueden provocar sobre la acción de otros fármacos.

#### **3.5.1 Interacciones farmacológicas que afectan al metabolismo de los Anticonceptivos orales.**

La administración de ciertos fármacos puede inducir un aumento de la metabolización de los esteroides sexuales, que puede tener implicaciones importantes ya que se altera un tratamiento crónico que depende, en las formas

orales más usadas, de la dosis diaria que, además, se ha reducido de forma espectacular en los últimos preparados, provocando una disminución de su eficacia anticonceptiva.

Los mecanismos farmacológicos implicados son varios pero los más importantes son:

Alteraciones provocadas a nivel de la absorción del fármaco, especialmente sensible en el caso de los anticonceptivos por vía oral.

Como ocurre ocasionalmente tras la administración de antibióticos y la aparición de diarrea, que puede disminuir su biodisponibilidad y no representa una solución el incrementar la dosis administrada, sino que, en estos casos, debe advertirse la toma de medidas anticonceptivas adicionales.

Por otro lado, es posible que algunos fármacos aumenten la biodisponibilidad del etinilestradiol, al competir con los sistemas de sulfatación, como es el caso del paracetamol o la Vit. C.

La inducción enzimática a nivel hepático, incrementando el metabolismo de los esteroides, observación derivada de la administración a largo plazo de la rifampicina en casos de tuberculosis representa el tipo de interacción de la mayoría de fármacos que se sabe alteran la eficacia anticonceptiva, como la administración de barbitúricos, anticonvulsivantes y la propia rifampicina, parecen actuar, de forma específica, induciendo la actividad del citocromo P450 hepático encargado de la hidroxilación en posición 2 del etinilestradiol y

favoreciendo, de este modo, su eliminación del organismo a la par que disminuyen su eficacia anticonceptiva.

La interacción depende del tiempo de administración del fármaco puesto que no se produce hasta transcurridas unas dos semanas, que es el tiempo necesario para que se sinteticen las nuevas moléculas de enzima detoxificante (enzimas de oxidación, principalmente).

Por ello, si la administración es de corta duración, es improbable la interacción con estos fármacos. Alternativamente, la inducción enzimática puede persistir unas semanas después de retirar el fármaco inductor.

Se ha demostrado de forma clara que el componente estrogénico inhibe la capacidad oxidativa de algunos fármacos.

Así, la acción inhibitoria sobre la oxidación de las benzodiazepinas explica sus niveles más elevados observados en usuarias de anticoncepción hormonal.

### **3.6 Potabilización de Agua.**

#### **3.6.1 Tratamiento de Aguas Residuales.**

Cuando el agua no es naturalmente potable habrá que hacer un tratamiento corrector, como sucede con las aguas superficiales que arrastran contaminantes como: troncos, residuos Industriales, Agrícolas, Hospitalarios entre otros.

El tratamiento corrector o potabilizador está dividido en tres partes: Físico, Químico o Microbiológico.

A) Físico:

i). Eliminación de la turbiedad y el color; es decir la eliminación de materias en suspensión, finamente divididas, que no asientan fácilmente, acompañadas muchas veces de materias orgánicas coloidales o disueltas, que no son retenidas por la simple filtración.

Para esto es necesario un tratamiento previo con coagulante químico, seguido de decantación o clarificación y luego filtración, a través de un manto de arena u otro material inerte y finalmente un tratamiento de desinfección, más o menos intenso, según el grado de contaminación.

ii). Eliminar o reducir la intensidad de los gustos u olores para lo cual se recomienda distintos procedimientos, que dependen de la naturaleza del problema, como pueden ser: aireación, carbón activado, uso de cloro u otros oxidantes, como el ozono, etc.,

B) Químico: se refiere a la corrección del pH del agua, a la reducción de la dureza, a la eliminación de los elementos nocivos o al agregado de ciertos productos químicos, buscando siempre mejorar la calidad.

La corrección del pH puede hacerse agregando cal o carbonato de sodio, antes o después de la filtración. La reducción de la dureza, puede hacerse por métodos simples (cal, soda, Zeolita o resinas) o métodos compuestos (cal-soda; cal zeolita, cal-resinas).

La eliminación de elementos nocivos puede referirse a bajar los contenidos excesivos de hierro, manganeso, flúor, arsénico o vanadio. Por último con

respecto al agregado de productos químicos, se dice que se refiere al agregado de flúor (prevenir caries).

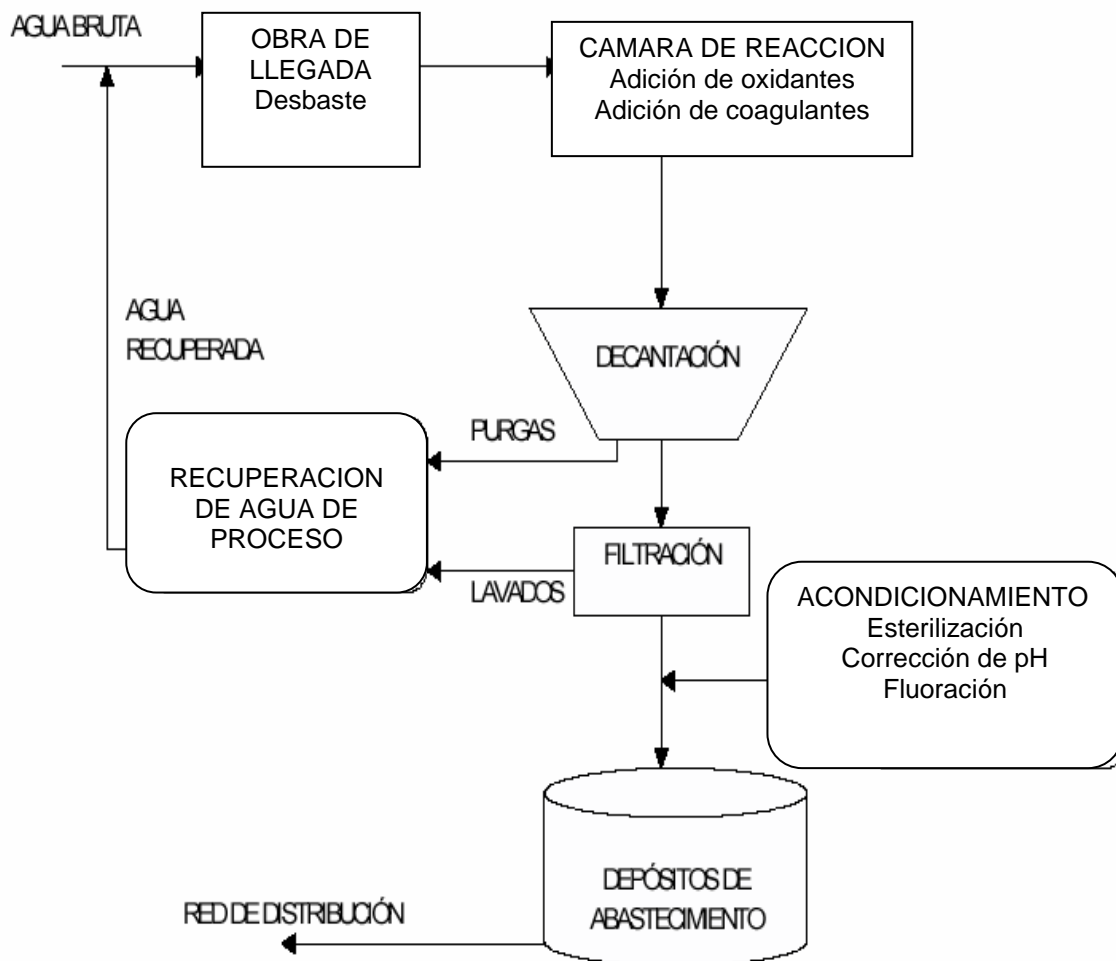
C) Bacteriológico: se refiere a la desinfección con cloro, pudiéndose utilizar cloro puro, sales de cloro o hipocloritos. Las dosis a utilizar generalmente se fijan en base al cloro residual, cuyo valor debe estar entre 0.05 mg/L y 0.1 mg/L, para quedar a cubierto de cualquier contaminación secundaria. Procedimientos necesarios para potabilizar un agua proveniente de una fuente superficial.

Desarenador: Tiene por objeto extraer del agua natural, la grava, arena y partículas minerales, más o menos finas, con el fin de evitar que se produzcan sedimentos en los canales y conducciones y para proteger las bombas contra la abrasión. Al estudiarse una toma de agua debe de evitarse al máximo el arrastre de arena y si las tomas locales de la toma de la muestra no lo permiten será preciso prever un desarenado. El desarenado se refiere normalmente a las partículas a 0.2 mm; una granulometría menor corresponde a los procesos de sedimentación simple.

### **3.7 Planta de Potabilización** (28)•

A continuación se presenta un esquema de trabajo (Fig.№1), para la potabilización del agua que se lleva a cabo en plantas de tratamiento en general.





**Figura. Nº 1:** Planta de potabilización de agua.

La entrada de agua bruta en la planta se produce en la obra de llegada, es la de homogenizar el agua que va a entrar en la planta.

Es posible, que a través de las rejillas de desbastes, colocadas en los embalses, se cuelen pequeños peces, ramas, hojas, y otros sólidos que no son deseables, ya que pueden producir atascos en las distintas unidades de la planta. Por este motivo, lo primero que vamos a encontrar en la obra de llegada, son

dispositivos mecánicos de desbastes, que retengan los arrastres de la conducción.

A continuación, se analizarán los distintos reactivos que serán usados en la primera fase del tratamiento, para ello, se debe aclarar que las sustancias que vienen disueltas en el agua, van a ser eliminadas principalmente mediante oxidación, mientras que las sustancias que vienen en suspensiones coloidales, requieren la adición de coagulantes para su eliminación posterior mediante sedimentación.

### **Oxidación.**

Lo que busca este proceso es:

- a. Eliminación de las sustancias que puedan venir disueltas en el agua, tanto minerales (Fe, Mn, etc.), como orgánicas (ácidos, derivados amonio, etc.).
- b. Eliminación de los olores y sabores, provocados por los compuestos orgánicos.
- c. Eliminación de organismos contaminantes en forma de gérmenes y patógenos causantes de enfermedades de transmisión hídrica.

Existen diversos tipos de agentes oxidantes, a continuación, se citan los más comunes, la elección del producto va a depender del tipo de contaminante que se tengan que oxidar, de la instalación de la que se dispone en la planta y lo económicamente disponible.

**Aireación.**

Es la manera más simple de oxidación, consiste en poner en contacto el agua con el oxígeno del aire, para ello se emplean elementos de oxidación, como pueden ser turbinas, o inyectores de aire conectados a un compresor.

Con esta técnica, se obtienen buenos resultados en lo que se refiere a eliminación de olores, sabores, y oxidación de metales, sin embargo, no es capaz de eliminar los organismos patógenos, así como la mayoría de compuestos orgánicos.

**Permanganato de Potasio.**

Con la utilización del permanganato potásico se consigue la oxidación de minerales como hierro y manganeso (con muy buen resultado), también se eliminan algunos compuestos orgánicos que producen olores y sabores en el agua, es bastante eficaz en la eliminación de algas, y tiene propiedades bactericidas.

Al utilizar este reactivo, el agua se tiñe de un tono rojizo en el punto de dosificación, poco a poco, y conforme va aumentando el tiempo de contacto, este color se va a ir degradando hasta desaparecer.

**Cloro y Derivados.**

El cloro es utilizado en el proceso de potabilización con una doble finalidad: como agente oxidante y como desinfectante.

Comercialmente, el cloro se usa de diversas formas, las más comunes en el mercado son: cloro gas, hipoclorito, hipoclorito cálcico, dióxido de cloro, y cloraminas.

El cloro oxida muy bien al amonio, formando cloraminas, tiene buen resultado como oxidante de la materia orgánica, los minerales también los oxida casi instantáneamente.

El cloro es un elemento con un alto poder oxidante, cuando destruye la materia orgánica e inorgánica, va a permanecer en el agua de dos formas, como cloro residual libre, y como cloro residual combinado.

### **Ozono.**

De los agentes citados, es el de mayor poder oxidante, es capaz de oxidar casi todas las sustancias que lleva el agua, y al igual que el cloro, también es utilizado como desinfectante.

Con respecto al cloro, el ozono es más oxidante (mejores resultado al oxidar a virus y bacterias), tiene las ventajas de no producir olores, sabores, ni los trihalometanos, que se forman al reaccionar el cloro con compuestos orgánicos.

### **Coagulación Y Floculación.**

Coagulación:

El coagulante se utiliza para desestabilizar la carga exterior de las partículas coloidales, evitando la repulsión entre ellas, y favoreciendo las reacciones que generarán coágulos de mayor densidad, lo que acelera su decantación. Los agentes coagulantes comúnmente utilizados, son las sales de

hierro, y aluminio, que comercialmente se presentan en diversas formas: sulfato de aluminio, cloruro de aluminio, polímeros de alúmina, cloruro férrico, y sulfato férrico. Varios aspectos van a influir en el proceso de coagulación: calidad del agua bruta, agitación de la mezcla, dosis y tipo de coagulante.

**Floculación:**

Los floculantes, o también llamados coadyuvantes, son productos que tienen la facultad de captar los coágulos formando entre ellos un entramado más voluminoso, pesado, y denso. De esta forma, se aumenta la velocidad de sedimentación de los floculos formados.

Se pueden clasificar en distintos grupos, según su naturaleza; en minerales u orgánicos, según su carga; en aniónicos, catiónicos o neutros, según su origen; en naturales o sintéticos.

**Decantación:**

El objeto de la decantación es la eliminación de sólidos presentes en el agua, por la acción de la gravedad.

**Decantadores de Contacto de Fango:**

Para aumentar el tamaño de los flóculos, en este tipo de decantadores, se pone en contacto el agua de entrada con parte de los fangos existentes, en lo que se denomina zona de reacción, consiguiéndose un engrosamiento de las sustancias coloidales que el agua lleva, al agruparse con las existentes en el propio decantador. El agua escapa de la zona de reacción, y en un sentido

ascendente atraviesa la zona de decantación hasta salir por la superficie del decantador.

**Decantadores de Lecho de Fango:**

En este grupo de decantadores, el agua en un sentido ascendente, va a ir atravesando una masa uniforme de fango, que va a permanecer en suspensión en el decantador. Esto permite que el lecho de fango actúe como zona de floculación, favoreciendo la retención de los sólidos que trae el agua bruta, por los flóculos integrantes del fango.

Su construcción básica, es la de un depósito de fondo plano, en el suelo se disponen unos tubos perforados que permiten la entrada de agua bruta al decantador de una forma uniforme, el agua como indicamos anteriormente recorre un sentido ascendente atravesando la manta de fangos, y saliendo del decantador por unas canaletas de recogida dispuestas en la superficie

### **Filtración.**

Una vez que el agua ha sido decantada, para terminar el proceso de clarificación, se hace pasar por una etapa de filtración.

El proceso físico va a consistir, en hacer pasar el agua a través de un lecho filtrante, normalmente este lecho será de arena y grava de distinta granulometría.

Para evitar atascamientos, es importante que la retención de partículas se haga en el interior del lecho filtrante, y no en la superficie del lecho, por este motivo,

será muy importante hacer una elección adecuada del tamaño del grano del lecho filtrante.

Dependiendo de las fuerzas que intervengan en el proceso de filtración, podemos distinguir entre filtros de gravedad, y filtros de presión. Se puede hacer una clasificación de los tipos de filtros por gravedad, en función de la velocidad de filtración:

Filtros lentos: La velocidad de filtrado es inferior a  $5 \text{ m}^3 / \text{m}^2 \text{ h}$ , estos filtros se utilizan para aguas poco turbias, que no han necesitado coagulación previa.

Requieren una granulometría fina de la arena, las retenciones se van a producir principalmente en la superficie del lecho, por lo que tienen bajo uso para aguas potables.

Filtros rápidos: La velocidad de filtrado es superior a  $5 \text{ m}^3 / \text{m}^2 \text{ h}$ , son los filtros usados normalmente en aguas potables, que previamente han pasado por un proceso de decantación y coagulación.

### **Acondicionamiento Final.**

Antes de pasar el agua a los depósitos o las redes de distribución, habrá que acondicionarla para asegurarse que se cumple con la normativa de calidad, que dicta la reglamentación, para considerar el agua como potable.

Se podrá observar cada uno de estos procesos, tienen como último objetivo, garantizar la potabilidad del agua de salida a la red.

### **Ajuste Del pH.**

El pH del agua de salida, es necesario mantenerlo entre los valores que cita el reglamento <sup>(3)</sup>, ( $6,5 < \text{pH} < 8,5$ ), para evitar tener un agua agresiva, que pueda producir corrosiones e incrustaciones en la red.

Para corregir el pH entre estos valores, se utilizan varios reactivos, que pueden dosificarse de forma líquida (en solución), o en polvo.

Dependiendo del pH previo a la corrección, se podrán requerir dos situaciones, aumentar o disminuir el pH, los reactivos más usados son:

- a. Aumento de pH: Hidróxido sódico o cálcico, carbonato sódico.
- b. Reducción de pH: Ácidos sulfúricos o clorhídrico, anhídrido carbónico.

### **Dosificación de Flúor.**

En primer lugar, hay que aclarar que la dosificación de flúor, es un complemento en el proceso de potabilidad del agua, en algunos países se agrega por recomendaciones sanitarias.

Se conoce el efecto positivo que tiene el aporte de flúor en los dientes para prevenir la caries, creando una capa que cubre el esmalte, haciéndolo más duro a ataques externos.

El agente más usado es el ácido fluosilísico ( $\text{H}_2\text{SiF}_6$ ), o su sal sódica ( $\text{Na}_2\text{SiF}_6$ ).

### **Desinfección.**

El objetivo que se persigue con la desinfección, es eliminar los organismos patógenos que pueda llevar el agua, garantizando así sanitariamente su consumo. Así se establece en la reglamentación técnica sanitaria, en el



apartado de suministro y distribución de las aguas potables, donde se articula que las aguas potables de consumo público, deberán contener a lo largo de toda la red de distribución, y en todo momento, cloro residual libre o combinado, u otros agentes desinfectantes. El desinfectante más generalizado para potabilizar el agua, es el cloro y sus derivados, a continuación, se detallan algunas características de cada uno de estos agentes.

### **Cloro y sus Derivados.**

El reglamento técnico sanitario <sup>(3)</sup>, establece como valores guías, una concentración de cloro libre residual entre 0,2 y 0,6 ppm, en la red de distribución.

Comercialmente, el cloro se usa de diversas formas, las más comunes en el mercado son: cloro gas, hipoclorito, hipoclorito cálcico, dióxido de cloro, y cloraminas.

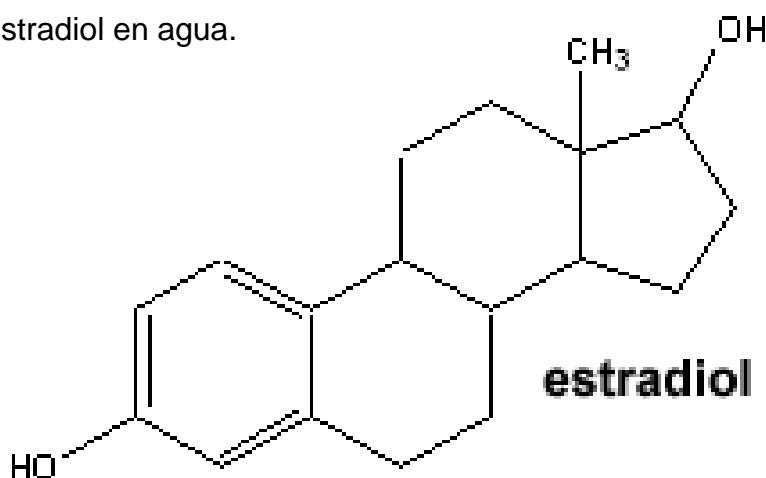
Si se continúa añadiendo cloro, se observa que todo el que se añada, aparece como cloro residual libre, el cual es un agente desinfectante muy activo.

En cuanto a los derivados del cloro usados como desinfectante: las cloraminas se usan poco porque tienen menor poder desinfectante, y por los subproductos que se originan.

Los hipocloritos ofrecen el mismo resultado en desinfección que el cloro, la única diferencia es que elevan el pH del agua, originando más problemas de precipitados en los depósitos y las conducciones, por la alcalinidad que producen.

### 3.8 MONOGRAFIA DEL ESTRADIOL <sup>(12)</sup>.

Esta monografía (ver anexo N°6 copia original en ingles), es muy importante para la investigación debida a que la metodología está basada en la determinación Espectrofotométrica-Ultravioleta, por lo tanto se tomo de ella la parte de la identificación del estradiol para formar el método alternativo y analizar estradiol en agua.



**Figura N° 2:** Estructura del estradiol.

C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub> 272.39

Estra-1, 3,5(10)-triene-3,17-diol, (17β)-

Estra-1, 3,5(10)-triene-3,17β-diol

El estradiol contiene no menos del 97 por ciento y no más del 103.0 por ciento de C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub> calculado en base anhidra.

**Almacenamiento y empaque:** presérvese cerrado y en contenedores resistentes a la luz.

**Estándar de Referencia USP<11>:** Estradiol RS USP, Estrona RS USP.

**Identificación:**

**A:** Absorción Infrarroja <197M>.

**B:** Absorción Ultravioleta <197U>

Solución: 50 microgramos por 1 mL

Medio: Alcohol. Absorciones a 280 nm, calculado en base anhidra, que no difiera mas del 3.0%.

**Rango de fusión, Clase I <741>:** Entre 173° y 179°. (NOTA –Secar sobre silicagel no menos de 16 horas antes de realizar la prueba.).

**Rotación Específica <781S>:** Entre +76 y +83.

Solución problema: 10 mg por mL, en dioxano.

**Agua, Método I <921>:** No más del 3.5%.

**Cromatografía pura** (NOTA hacer las soluciones de preparación reciente).

Fase móvil: Preparar una mezcla filtrada y desgasada de 2, 2,4trimetilpentano, n-butil clorhidrato, y metanol (45:4:1), hacer los ajustes necesarios (ver el sistema de conveniencia debajo de la cromatografía).

Solución diluyente: Prepare una mezcla filtrada o desgasada de n-butil clorhidrato y metanol (5:1).

Solución problema: Transfiera alrededor 70 mg de Estradiol, pesada precisamente, a un frasco volumétrico de 10 mL y disuelva con la solución diluyente, mezcle vigorosamente al agregar la disolución, afore a volumen con la solución diluyente, y mezcle.

Sistema Cromatográfico. La cromatografía líquida está equipada con un detector a 280 nm y una columna 4.6-mm x 25-cm que contiene un empaque L3. La proporción de flujo va de 2 mL por minuto.

La cromatografía de la solución problema, guarda las concentraciones de la cresta como se dirige en el procedimiento: La resolución (R), entre el estradiol y alguna impurezas es no menos del 1.0; la eficiencia de la columna es no menos de 800 platos teóricos; el factor de riesgo no menos del 1.5; y la desviación estándar y la inyección es no más del 2.0%.

Procedimiento: Se inyecta un volumen (aprox. 10 µL) de la solución problema dentro del cromatografo. El cromatografo registra las medidas correspondientes a cada cresta. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción del estradiol de la formula siguiente:  $100(r_i / r_s)$

Donde;

$r_i$ : es el pico que corresponde a cada impureza

$r_s$  es la suma de todos los picos correspondientes: no más del 0.5% de alguna impureza igual que se encuentre.

No más del 1.0% de todas las impurezas encontradas.

### **Ensayo**

Fase móvil: Preparar una mezcla filtrada y desgasada de acetonitrilo y agua (55:45). Haciendo ajustes si es necesario (ver el sistema de conveniencia de la cromatografía <621>).

Estándar de solución interno: transferir alrededor de 300 mg de etilparaben a un frasco volumétrico de 500 mL, agregar el metanol hasta volumen, y mezclar.

Preparación de estándar: Disolver la medida pesada de Estradiol USP y Estrona RS en metanol para obtener una solución que contenga 0.40 mg y 0.24 mg, respectivamente, en cada mL. Pipetear 10 mL de la solución y 5 mL del estándar (solución interna), dentro de un frasco volumétrico de 200 mL.

Agregar 100 mL de metanol, diluir con agua hasta llegar al volumen, y mezclar para obtener una solución que tenga una concentración alrededor de 20 µg de Estradiol RS USP por mL.

**Preparación de ensayo:** Transferir alrededor de 100 mg de estradiol, pesado con precisión, a un frasco volumétrico de 250 mL, agregar metanol hasta volumen, y mezclar. Transferir 10 mL de la solución a un frasco volumétrico de 200 mL, agregar 5.0 mL de solución estándar interno y 100 mL metanol, diluir con agua hasta volumen, y mezclar.

Sistema Cromatográfico: (ver la cromatografía <621>) La cromatografía líquida está equipada con un detector 205-nm y una columna 3.9cm x 30cm que contiene el empaquetamiento L1. El rango del flujo es alrededor 1 mL por minuto. (Ver anexo №6).

#### **Prueba de identificación espectrofotométrica<197>**

**Absorción Ultravioleta.** La referencia <197U> en una monografía significa que una solución problema y una solución estándar son examinadas espectrofotométricamente, en una celda 1 cm, sobre un rango espectral desde

200 a 400 nm a menos que se especifique lo contrario en la monografía individual.

Disolver una porción de la sustancia que está examinando y en designación media para obtener una solución problema teniendo la concentración especificada en la monografía para la solución. Similarmente preparar una solución estándar que contenga el correspondiente estándar de referencia USP. Registrar y comparar el espectro comúnmente obtenido por la solución problema y la solución estándar.

Calcular la absorbancias y/o proporciones absorbidas donde estos criterios son incluidos en la monografía individual.

A menos que se especifique lo contrario, las absorbancias indicadas para estos cálculos están medidas como absorbancias máximas sobre la longitud de onda especificada en la monografía individual. Donde las absorbancias tienen que ser medidas específicas en la longitud de onda, otra es la absorbancia máxima, la abreviación (min.) y (sh), son usadas para indicar una mínima medida, respectiva, en el espectro de absorción. Los requerimientos son conocidos si el espectro de absorción ultravioleta de la solución problema y el estándar de solución exhiben la máxima y mínima en la misma longitud de onda y absorbancias y/o radios absorbidos son límites específicos.

**CAPITULO IV**  
**DISEÑO METODOLOGICO.**

## 4.0 DISEÑO METODOLOGICO.

### 4.1 TIPO DE ESTUDIO:

Según el tiempo de ocurrencia de los hechos y registro de la información, la investigación que se realizó fue de tipo:

**Prospectivo:** porque la información se registró al momento de realizar las pruebas químicas de laboratorio; además tuvo como objeto principal, determinar sustancias anticonceptivas orales (valerato de estradiol), en el agua potable que la Empresa ANDA distribuye de la planta del Río Lempa al municipio de Soyapango.

Según el análisis y alcance de los resultados la investigación fue:

**Experimental:** ya que los datos se obtuvieron a partir de la recolección, procesamiento y análisis químicos de muestras de agua potable tomadas de la colonia Bella Vista en Soyapango. El universo quedó conformado por las 34 casas de la colonia en donde son abastecidas con agua potable que se sustrae de la planta del Río Lempa la empresa de Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados (ANDA).

### 4.2 INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA, se realizó en:

Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia “Dr. Benjamín Orozco”.

Biblioteca de la Facultad de Medicina “Dr. Luis Edmundo Vásquez.

Biblioteca del área de las Ingenierías y Arquitectura.

Biblioteca de la Facultad Multidisciplinaria Oriental.



Biblioteca de la Universidad Alberto Masferrer.

Internet.

### 4.3 INVESTIGACION DE CAMPO.

#### 4.3.1 UNIVERSO.

Son 34 Casas de la colonia Bella Vista. En el mapa satelital que se encuentra en el anexo N°2, se obtiene un mejor panorama de la colonia Bella Vista en Soyapango.

#### 4.3.2 MUESTRA.

Se uso la siguiente fórmula <sup>(5)</sup>, para encontrar el número de muestras:

$$n = \frac{S^2}{V^2} = \frac{\text{Varianza de la muestra}}{\text{Varianza de a poblacion}}$$

La cual se ajusta si se conoce el tamaño de la población N.

Entonces se tiene que:

$$n = \frac{n}{1} + \frac{n}{N}$$

Para asignar los valores se emplea:

$$S^2 = P(1 - P)$$

En cuanto p es la prevalencia esperada del parámetro a evaluar, para esta investigación se le dio el valor del 80%.

$V^2$ = Se define como el cuadrado del error estándar.

$S^2$ = Error estándar que puede llegar hasta un máximo del 5%, siendo éste el valor que se eligió como error.

$N$  = Población total.

Sustituyendo se obtiene:  $n = \frac{s^2}{V^2}$  entonces;

$$\frac{s^2}{n} = \frac{s^2}{V^2} (1 - p) \Rightarrow \frac{0.16}{n} = \frac{0.16}{V^2} (1 - 0.8) = 0.16$$

$$V^2 = (0.05)^2 = 2.5 \times 10^{-3}$$

$$n = \frac{0.16}{2.5 \times 10^{-3}} = 64.0$$

Como se conoce la población de 34, se aplica que:

$$n' = \frac{n}{1 + \frac{n}{N}} = \frac{64}{1 + \frac{64}{34}} = 22.20 \approx 22 \text{ Muestras.}$$

De 34 que es el universo se recolectaron 22 muestras.

Pero como esta investigación se basó en un método probabilístico aleatorio simple <sup>(18)</sup>, el procedimiento que se siguió para elegir las muestras fue:




Se asignó un número a cada individuo de la población (en este caso son las diferentes casas de la colonia). A través de algún medio mecánico (bolas dentro de una tómbola, tablas de números aleatorios, números aleatorios generados por una calculadora u ordenador etc.), se eligieron tantos sujetos fueron necesarios para completar el tamaño de muestra requerida.

De modo que para esta investigación se le asignó un número correlativo a cada casa que conformaron el universo o la población y haciendo uso de un dispositivo mecánico (que fueron bolas en una tómbola donde cada bola representaba una casa de nuestra población, estando enumeradas del 1 al 34),

se fueron extrayendo diferentes bolitas de la tómbola al final se extrajeron 22 bolitas que representan a las casas que se muestrearon.

Los números que salieron en el sorteo que se describió anteriormente fueron: 28,9,6,17,3,34,32,12; 22,2,13,19,10,5,14;27,25,4,29,21,1,15.

En el anexo número 3, se presento un croquis de la población, de las casas a muestrear se le asignaron un numero y color a cada una.

-  Color azul representa las casas que fueron muestreadas en agosto.
-  Color morado representa las casas que fueron muestreadas en octubre.
-  Color anaranjado representa las casas que fueron muestreadas en  
Noviembre.

### **4.3.3 TECNICAS DE MUESTREO** <sup>(5)</sup>:

La técnica que se utilizó para elegir los elementos que conformaron la muestra fue el muestreo probabilístico aleatorio simple ya que mediante el uso de formulas estadísticas se determinaron las casas que se muestrearon.

Del total de viviendas se obtuvieron 22 muestras de agua potable que se tomaron en cantidades de 1L en el periodo de agosto a noviembre subdividiéndose éste en 3 bloques de muestreo de las viviendas seleccionadas, iniciando en agosto en donde se tomaron 8 muestras de agua, el siguiente fue en Octubre en donde se recolectaron 7 muestras y la última etapa que se realizó en Noviembre, recolectando 7 muestras, obteniendo así el número total de 22 muestras en la investigación. Cubriendo todo el periodo de Agosto a Noviembre 2008, obteniendo una muestra por cada casa que se seleccionó para recoger la muestra.

## **4.4 PARTE EXPERIMENTAL.**

### **4.4.1 METODOLOGIA DE ANALISIS DE LAS MUESTRAS.**

Para la evaluación de Valerato de estradiol en el agua potable, se utilizó el método de espectrofotometría ultravioleta, utilizando el espectrofotómetro Lambda 12.

Se tomo este método como alternativo debido a que su identificación oficial es por Absorción Infrarroja según la USP XXIV (ver anexo N°6), además tampoco se encontró una metodología para la determinación de anticonceptivos en el

libro oficial de análisis de agua, pero al consultar otros libros se encontró una metodología <sup>(11)</sup>.

Para este tipo de determinaciones e identificaciones existen metodologías en un Handbook de Análisis de agua (ver anexo N° 4).

La determinación se hace a base de investigaciones bibliográfica <sup>(12)</sup>, de la USP XXIV que es la guía para preparación de las soluciones de estándares de trabajo, así como también de las lecturas por medio del espectrofotómetro.

Con la ayuda de una serie de soluciones de estándares de trabajo, que fueron sometidas a luz ultravioleta, se obtuvieron los respectivos espectros, que se usaron como parámetros para determinar la identificación de Valerato de Estradiol, por medio de una comparación de los espectros de la muestra y de los estándares de trabajo.

El estándar de trabajo que se utilizó en la determinación de Valerato de Estradiol es una materia prima con una pureza de 101.6 % (ver anexo N° 7), debido a que la mayoría de los anticonceptivos orales son estrógeno y progesteronas que pueden ir combinados o trabajando individualmente como anticonceptivo, por ende en su gran mayoría los anticonceptivos orales no son más que esteres del Estradiol, por eso se comprende que tienen similitudes en sus estructuras químicas (ver anexo N° 1).

Al poseer el mismo anillo esteroidal se encuentra esa igualdad en la que se basa dicha investigación porque mediante ésto se pretende llegar a la

cualificación de Valerato de Estradiol que tiene funciones anticonceptivas (químicas), por vía oral.

**- MUESTREO** <sup>(9)</sup>.

Se recolectaron las muestras de agua potable en frascos de polietileno (1L), éstos se llenaron por completo evitando la formación de burbujas de aire y se cerró el frasco herméticamente.

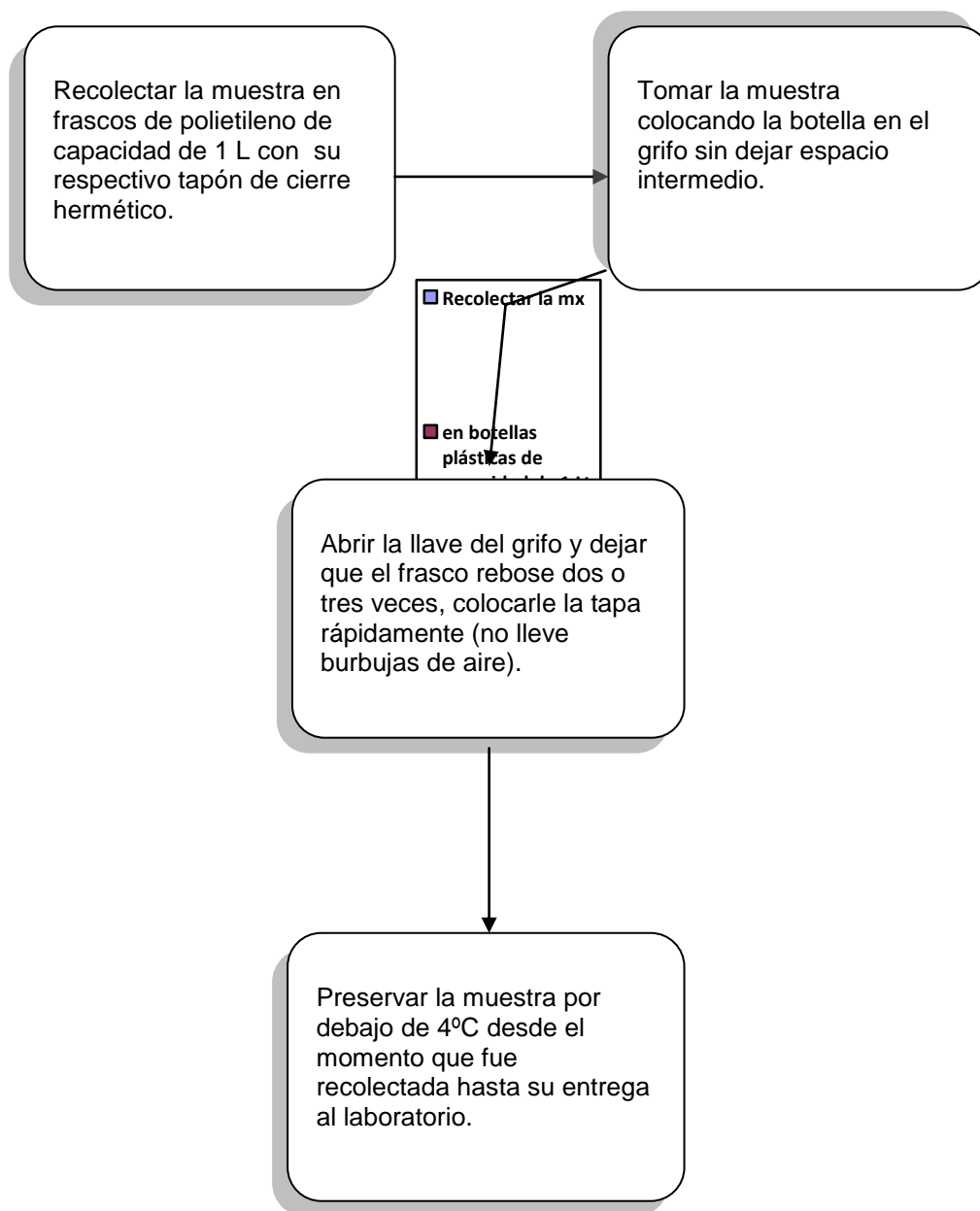
**- PRESERVACION** <sup>(9)</sup>.

Para su transporte se preservaron las muestras por debajo de 4°C, (desde que se obtuvieron hasta el análisis en el Laboratorio de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.)

**- TRANSPORTE DE MUESTRA.**

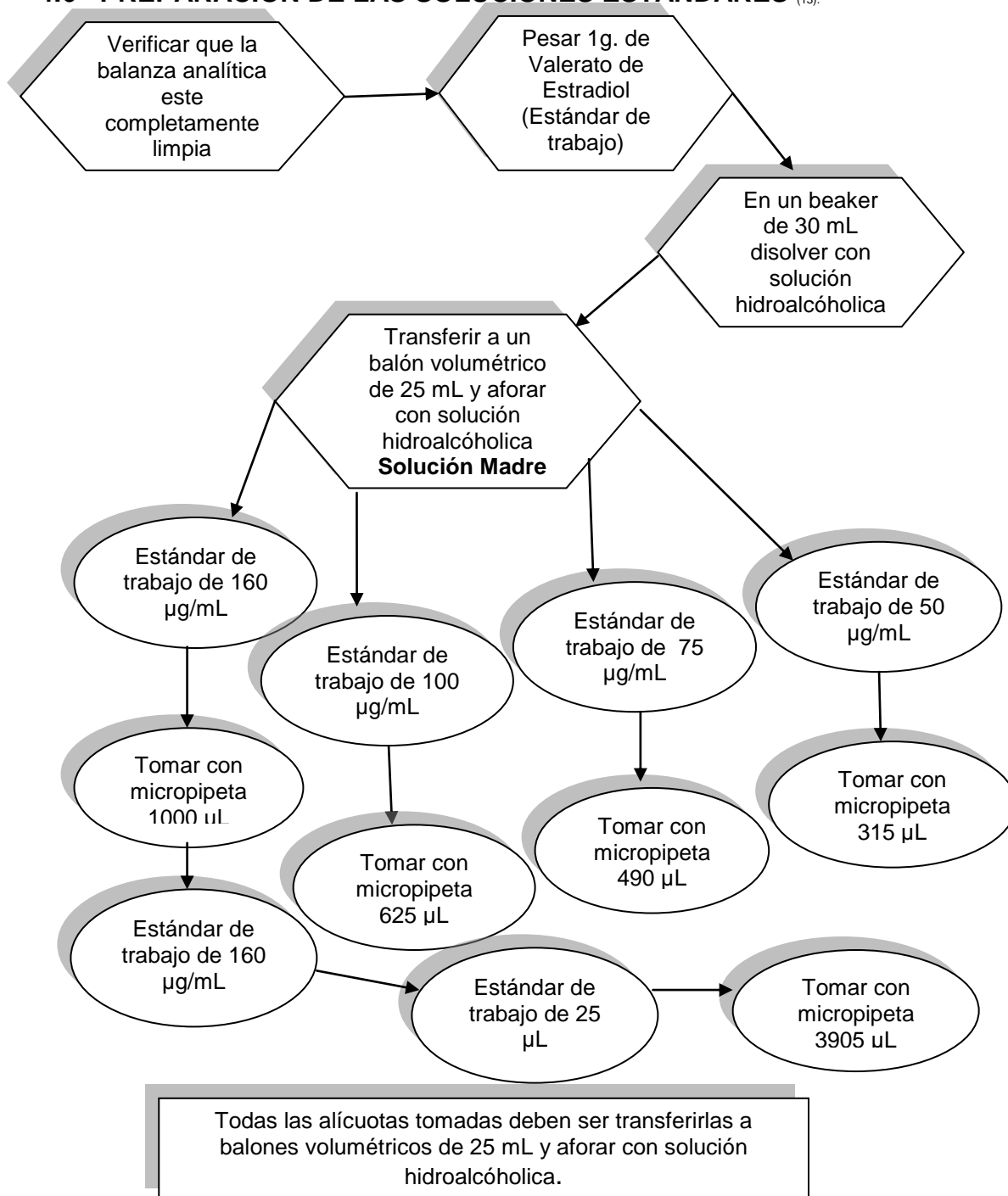
Se transportó la muestra en hielera manteniendo la temperatura de 4°C, con la ayuda de soluciones salinas congeladas “pingüinos” para mantener así por más tiempo temperaturas bajas.

#### 4.5 PROCEDIMIENTO PARA RECOLECTAR LA MUESTRA <sup>(9)</sup>.



**Figura N° 3:** Esquema de Metodología de Trabajo para la Recolección de Muestras de Agua.

#### 4.6 PREPARACION DE LAS SOLUCIONES ESTANDARES <sup>(13)</sup>

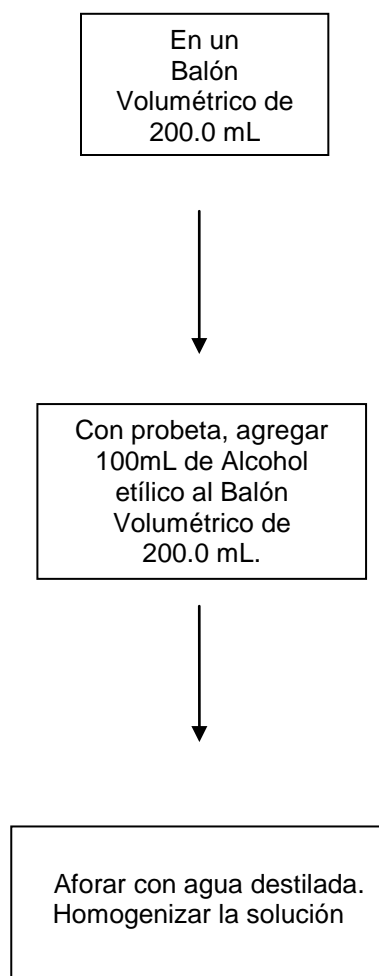


**Figura N° 4:** Esquema de Metodología de Trabajo para Preparación de Soluciones Estándares de Valerato de Estradiol.



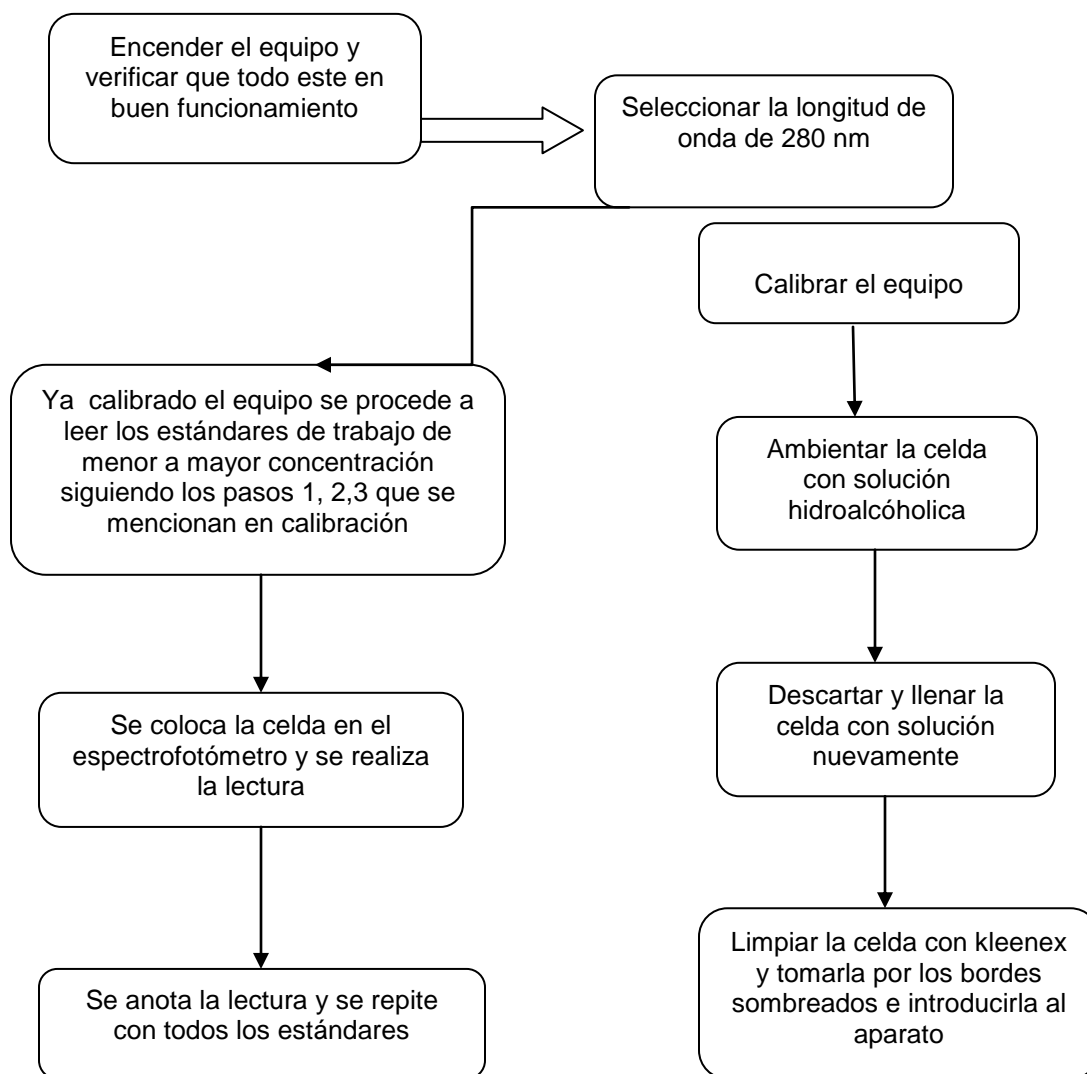
Todos los estándares de trabajo fueron aforados con una mezcla hidroalcohólica de 50:50 de agua y etanol. Almacenados en refrigeración cuidadosamente.

La mezcla hidroalcohólica se preparó de la siguiente forma:



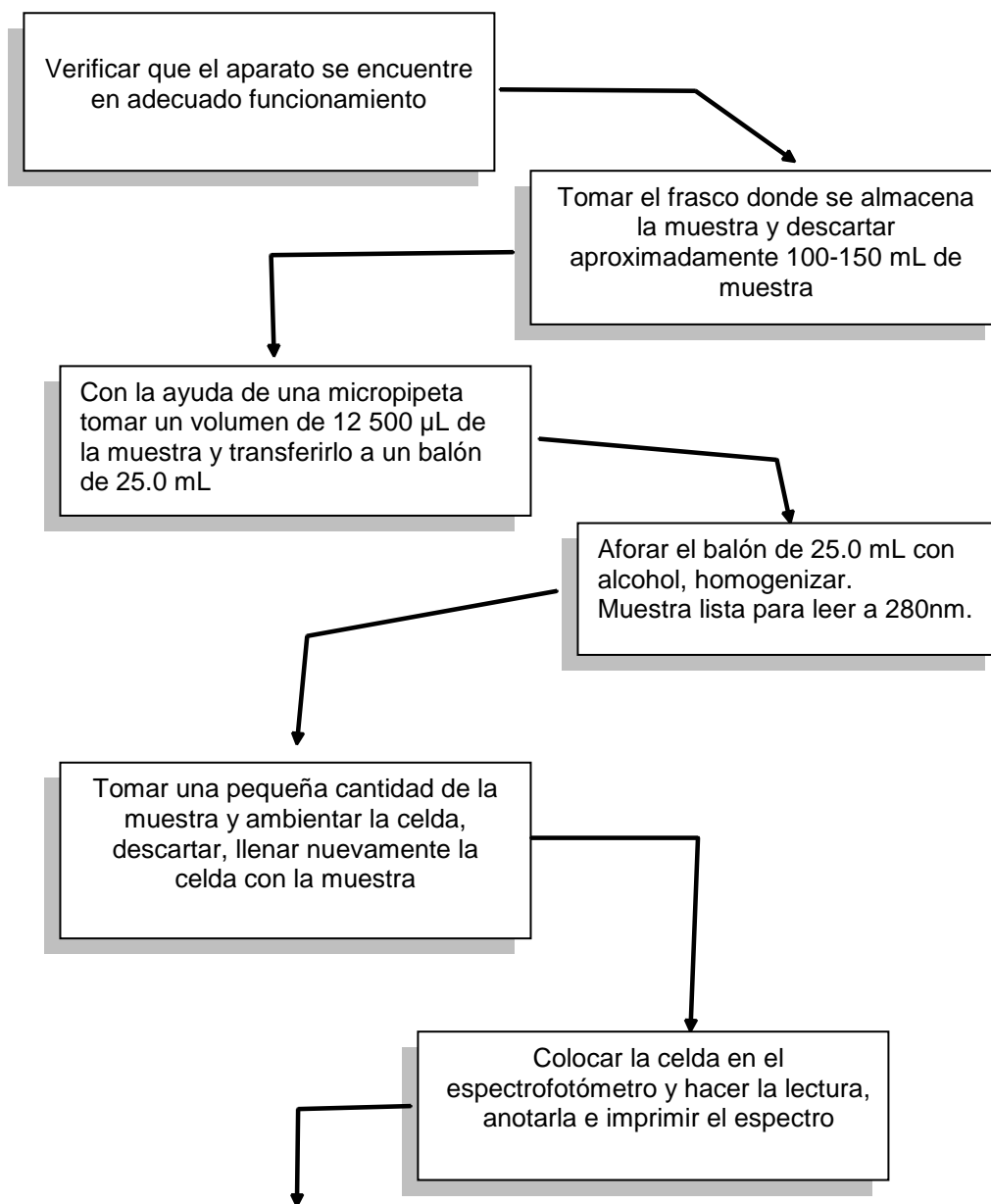
**Figura N° 5:** Esquema de metodología de trabajo para la preparación de la solución hidroalcohólica.

#### 4.7 PROCEDIMIENTO PARA LECTURAS EN EL ESPECTROFOTOMETRO <sup>(13)</sup>



**Figura N° 6:** Esquema de Metodología de Trabajo para Lecturas de Estándares de Valerato de Estradiol.

#### 4.8 PROCEDIMIENTO PARA LEER LAS MUESTRAS EN EL ESPECTROFOTOMETRO <sup>(13)</sup>



Realizar el mismo procedimiento para lectura de las otras muestras.

**Figura Nº 7:** Esquema de trabajo para lecturas de muestras de agua

**CAPITULO V**  
**RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS.**

## **5.0 RESULTADOS.**

Los resultados obtenidos de los diferentes muestreos que se realizaron en el período comprendido de agosto, octubre y noviembre de 2008 (así como los resultados de los estándares de trabajo utilizados).

Han sido ordenados de acuerdo a su fecha de recolección, describiendo en forma clara y ordenada, se toman criterios de recolección de muestra especificando su recolector y observaciones.

Los resultados se encuentran de la siguiente manera:

- 5.1 Primer muestreo en el mes de agosto de 2008.
- 5.2 Segundo muestreo en el mes de octubre de 2008.
- 5.3 Tercer muestreo en el mes de noviembre de 2008.
- 5.4 Estándares de trabajo para fabricar la curva de calibración del método.

## 5.1 RESULTADOS DEL MUESTREO EN EL MES DE AGOSTO.

### (PRIMER MUESTREO):

Fecha realizado: 28 de Agosto de 2008.

Lugar: Colonia Bella vista de Soyapango.

Hora de inicio: 8:30 am.

Hora de finalización: 9:45 am.

**Tabla N°1:** Resumen del muestreo en el mes de agosto

Número de muestra	Dirección	Hora de Recolección	Muestreador/a
1	Casa H-9 Col. (12)*	8:41 AM	Carlos López.
2	Casa G-10 Col. (1)*	8:51 AM	Carlos López.
3	Casa G-5 Col. (6)*	8:58 AM	Carlos López.
4	Casa E-3 Col. (9)*	9:03 AM	Mabel Navarro.
5	Casa F-3 Col. (24)*	9:12 AM	Mabel Navarro.
6	Casa H-3 Col. (18)*	9:17 AM	Mabel Navarro.
7	Casa F-2 Col. (33)*	9:28 AM	Mabel Navarro.
8	Casa F-4 Col. (23)*	9:36 AM	Carlos Lopez.

\* Indica la ubicación de la casa en el croquis que se encuentra en el anexo N° 3

Observaciones: Las muestras de aguas eran incoloras y libres de sustancias extrañas, ninguna presentó características diferentes.

### 5.1.1 CALCULO DE LA CONCENTRACION DE VALERATO DE ESTRADIOL

#### Condiciones

Temperatura: 25.4 ° C

Longitud de onda: 280 nm Hora de inicio: 10:30 AM.

Hora de finalización: 10:58 AM.

**Tabla N°2:** Resumen de los resultados en el mes de agosto.

Numero de muestras	Absorbancia	Concentración en µg/mL
1	0.000	0.00
2	0.000	0.00
3	0.000	0.00
4	0.001	0.13
5	0.000	0.00
6	0.001	0.13
7	0.000	0.00
8	0.006	0.83
<b>Estándares de trabajo</b>		
1	0.072	10.00
2	0.131	25.00

Para la investigación se utilizó la fórmula de La Ley de Beer que es ocupada para estos casos en donde se desconoce la concentración de la muestra por lo tanto tenemos:

$$\frac{C_{mx}}{A_{mx}} = \frac{C_{st}}{A_{st}}$$

Cmx: concentración de la muestra.

Amx: absorbancia de la muestra.

Cst: concentración del estándar.

Ast: absorbancia del estándar.

Y despejando la ecuación matemática:

$$C_{mx} = \frac{C_{st} \times A_{mx}}{A_{st}}$$

Sustituyendo en la fórmula anterior los diferentes valores como es el caso de la concentración del estándar es de 10 µg/mL y su absorbancia 0.072, para la muestra número 4 y 6 que se obtuvieron la misma lectura tenemos:

$$C_{mx} = \frac{10\mu\text{g} \times 0.001}{0.072} = 0.13\mu\text{g/mL de Valerato de Estradiol}$$

Y para la muestra número 8.

$$C_{mx} = \frac{10\mu\text{g} \times 0.006}{0.072} = 0.83\mu\text{g/mL de Valerato de Estradiol}$$



## 5.2 RESULTADOS DEL MUESTREO EN EL MES DE OCTUBRE DE 2008.

(SEGUNDO MUESTREO).

Fecha de realización: 16 de Octubre de 2008.

Lugar: Colonia Bella Vista de Soyapango.

Hora de inicio: 7:20 AM      Hora de finalización: 8:05 AM

**Tabla N°3:** Resumen del muestreo en el mes de octubre

Número de muestra	Dirección.	Hora de Recolección.	Muestreador/a.
9	Casa 8-G (3)*	7:30 AM	Carlos López.
10	Casa 8-H (13)*	7:35 AM	Carlos López.
11	Casa 7-H (14)*	7:40 AM	Carlos López.
12	Casa 6-G (5)*	7:45 AM	Carlos López.
13	Casa 17-E (26)*	7:50 AM	Mabel Navarro.
14	Casa 5-F (22)*	7:59 AM	Mabel Navarro.
15	Casa 4-H (19)*	8:03 AM	Mabel Navarro.

\* Indica la ubicación de la casa en el croquis que se encuentra en el anexo N°3

Observación: la misma del primer muestreo, ninguna diferencia.

## 5.2.1 CALCULO DE LA CONCENTRACION DE VALERATO DE ESTRADIOL

### Condiciones:

Temperatura: 25 .4 ° C

Longitud de onda: 280 nm.

Hora de inicio: 9:00 AM    Hora de finalización: 11:00 AM

**Tabla N°4:** Resumen de los resultados en el mes de octubre

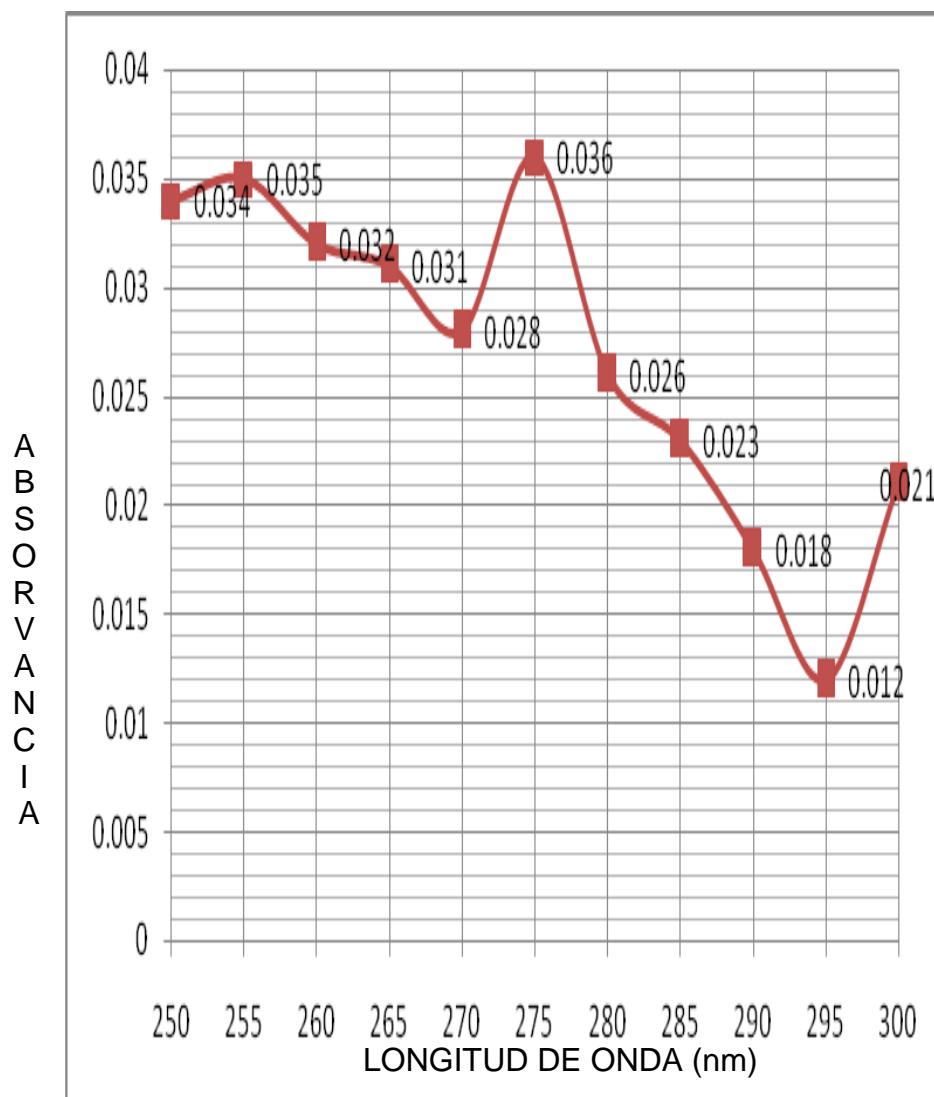
Numero de muestras	Absorbancia	Concentración en µg/mL
9	0.021	2.56
10	0.015	1.83
11	0.010	1.22
12	0.023*	2.80
13	0.017	2.07
14	0.014	1.71
15	0.012	1.46
<b>Estándares de trabajo.</b>		
1	<b>0.082</b>	<b>10.00</b>
2	<b>0.141</b>	<b>25.00</b>

Nota: Los diferentes valores de concentración se obtuvieron por la formula de la Ley de Beer.

\*Se realizo un barrido de la muestra N°12 (ver lecturas en tabla N°5) por presentar la mayor intensidad de absorbancia.

**Tabla N° 5:** Lecturas del barrido para la muestra N°12.

Longitud de onda	Absorbancia
300	0.021
295	0.012
290	0.018
285	0.023
280	0.026
275	0.036
270	0.028
265	0.031
260	0.032
255	0.035
250	0.034



**Figura N°8:** Espectro de la muestra #12 en el mes de octubre.

En este espectro de la muestra de agua se le realizó un barrido de 300 hasta 250 nm, se observó que el espectro de la muestra presenta su mayor absorbancia en la longitud de onda de 275 nm y los diferentes valores por debajo de él.

### 5.3 RESULTADOS DE MUESTREO NOVIEMBRE DE 2008.

#### (TERCER MUESTREO):

Fecha de realización: 12 de Noviembre de 2008

Lugar: Colonia Bella Vista en Soyapango

Hora de inicio: 6:43 AM          Hora de finalización: 7:20 AM

**Tabla N°6:** Resumen del muestreo en el mes de noviembre.

Número de Muestra.	Dirección	Hora de Recolección	Muestreador/a
16	Casa 7-G (4)*	6:46 AM	Carlos López.
17	Casa 6-H (15)*	6:52 AM	Carlos López.
18	Casa 18-E (25)*	6:57 AM	Carlos López.
19	Casa 16-E (27)*	7:01 AM	Carlos López.
20	Casa 14-E (29)*	7:06 AM	Mabel Navarro.
21	Casa 6-F (21)*	7:13 AM	Mabel Navarro.
22	Casa 1-F (34)*	7:19 AM	Mabel Navarro.

\* Indica la ubicación de la casa en el croquis que se encuentra en el anexo N°3

Observación: ninguna

### 5.3.1 CALCULO DE LA CONCENTRACION DE VALERATO DE ESTRADIOL

#### Condiciones:

Temperatura: 26.0 ° C

Longitud de onda: 280 nm

Hora de inicio: 8:20 AM      Hora de finalización: 9:45 AM

**Tabla N°7:** Resumen de los resultados en el mes de noviembre.

Numero de muestras	Absorbancia	Concentración en µg/mL
16	0.007	1.22
17	0.010	1.75
18	0.009	1.58
19	0.006	1.05
20	0.008	1.40
21	0.016	2.81
22	0.026	4.56
<b>Estándares de trabajo</b>		
1	<b>0.057</b>	<b>10.00</b>
2	<b>0.133</b>	<b>25.00</b>

Nota: Los diferentes valores de concentraciones se obtuvieron mediante la formula de la Ley de Beer empleada en el primer muestreo del mes de agosto.

En la figura N° 9 se presentan los datos obtenidos en esta investigación mostrando los promedios de cada muestreo realizado en los diferentes meses estipulados del periodo Agosto a Noviembre de 2008, en el gráfico se observan las diferentes concentraciones de los tres muestreos, estos datos no son mas que la sumatoria de los datos individuales divididos entre el total de muestras.

**Tabla N°8:** Promedio de los diferentes muestreos.

Meses del año	Promedio
Agosto	0.14 $\mu\text{g}/\text{mL}$
Octubre	1.94 $\mu\text{g}/\text{mL}$
Noviembre	2.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$



**Figura N° 9.** Concentraciones promedio de cada muestreo en el periodo de Agosto a Noviembre de 2008.

#### 5.4 RESULTADOS DE LOS ESTANDARES DE TRABAJO

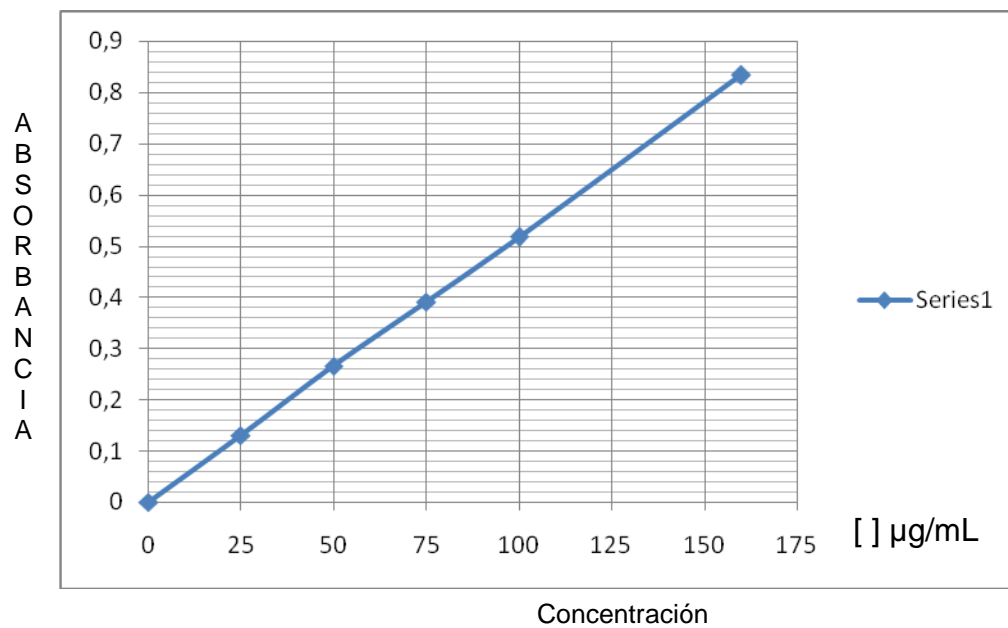
Los estándares de trabajo de diferentes concentraciones se trataron en las mismas condiciones y características de las muestras.

El procedimiento, se encuentra en la metodología de la investigación (ver pagina 52), por lo tanto se presenta un cuadro de las diferentes lecturas de todos los estándares de trabajo utilizados, disueltos en la mezcla hidroalcohólica.

**Tabla N° 9:** Resultados de los estándares de trabajo.

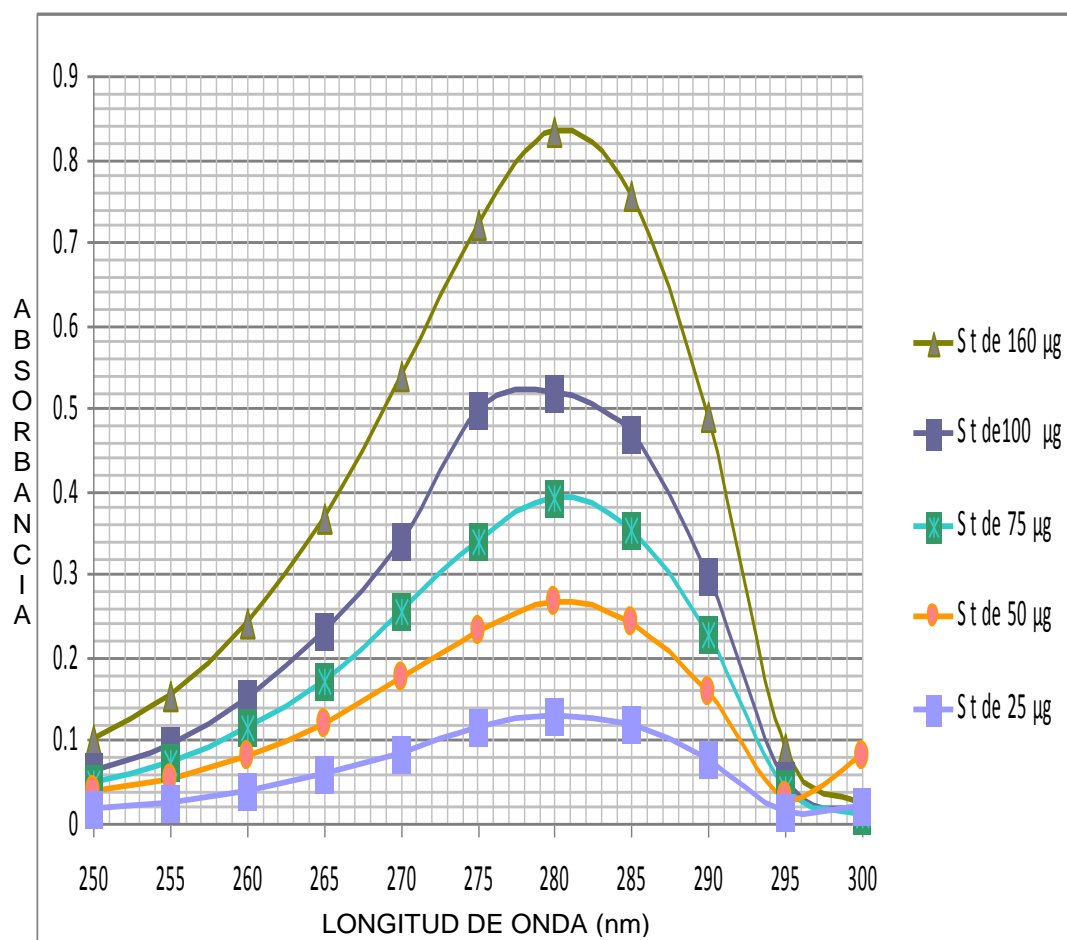
Longitud de onda nm	St de 160µg/mL	St de 100 µg/mL	St de 75 µg/mL	St de 50 µg/mL	St de 25 µg/mL
1. 300	0.020	0.011	0.009	0.08	0.02
2. 295	0.092	0.054	0.042	0.030	0.013
3. 290	0.490	0.298	0.229	0.156	0.076
4. 285	0.756	0.469	0.355	0.242	0.119
5. 280	0.834	0.518	0.391	0.266	0.131
6. 275	0.720	0.499	0.338	0.231	0.114
7. 270	0.541	0.338	0.254	0.174	0.085
8. 265	0.368	0.231	0.173	0.120	0.058
9. 260	0.241	0.151	0.114	0.080	0.039
10. 255	0.153	0.096	0.073	0.053	0.025
11. 250	0.100	0.063	0.048	0.037	0.018

La fila que se encuentra sombreada es dónde se tiene la máxima absorbancia, este fue el valor seleccionado para poder realizar la curva de calibración que se presenta para el compuesto del Valerato de Estradiol.



**Figura N°10:** Curva de Calibración del Valerato de Estradiol.

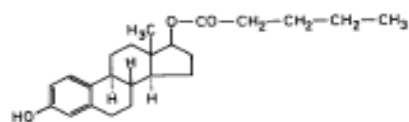




**Figura N°11:** Espectros de estándares de Valerato de Estradiol en concentraciones de 160, 100, 75, 50, 25µg/mL.

## ESPECTROS DEL VALERATO DE ESTRADIOL (4).

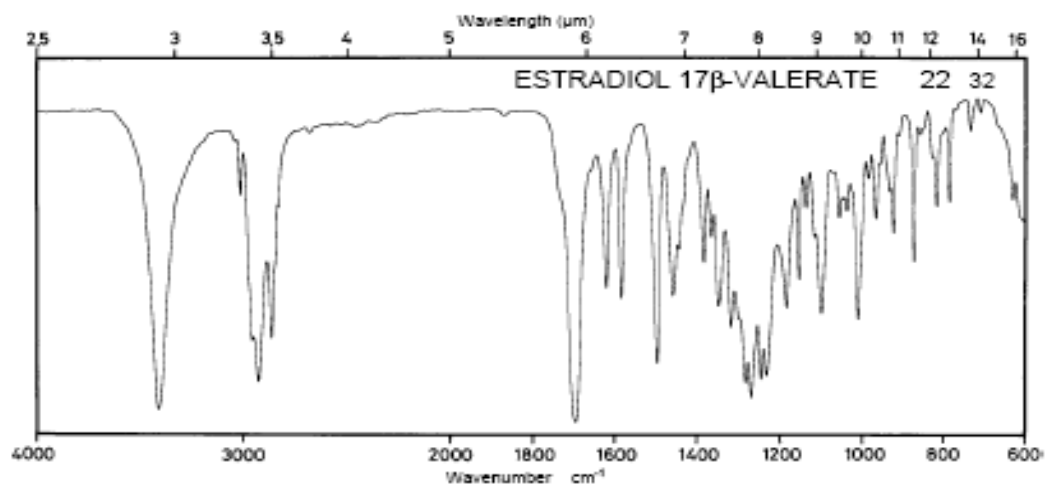
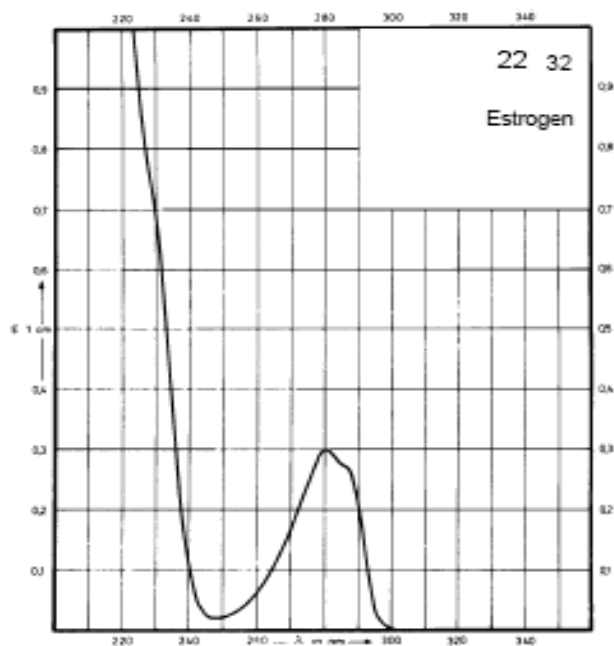
Name **ESTRADIOL 17 $\beta$ -VALERATE**



$M_r$  356.5

Concentration 5 mg / 100 ml

Solvent Symbol	Methanol	Water	0.1 M HCl	0.1 M NaOH
Maximum of absorption	265 nm			
1% 1 cm	50			
E	2100			



© 2002 ECV · Editio Cantor Verlag / Aulendorf (Germany)

Figura N°12: Espectro UV e IR del Valerato de Estradiol (4).

## 5.5 DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

Con la ayuda de los diferentes espectros de los estándares de trabajo (soluciones hidroalcohólica de Valerato de Estradiol en diferentes concentraciones), se facilitó encontrar la longitud de onda donde el compuesto presenta su mayor absorbancia, la cual para el Valerato de Estradiol fue a 280 nm, por lo tanto se tomó ésta como la longitud de onda en dónde fueron leídas las muestras de agua de esta investigación. Todo el procedimiento antes mencionado fue necesario debido a que no se contaba con ningún método oficial para el análisis del Valerato de estradiol en agua potable, por lo que se optó a trabajarlo por medio de la espectroscopia Ultravioleta-visible.

Se utilizó la información de la curva de calibración del Valerato de Estradiol realizada con estándares de trabajo y las lecturas de las muestras de agua analizadas con el espectrofotómetro Lambda 12 de fabricación Perkin Elmer, con esos datos se utilizó la formula de la Ley de Beer y se comprobó la presencia de una sustancia desconocida, pero estos valores encontrados son bastantes pequeños con respecto a los datos obtenidos de los estándares, se realizó un barrido a la muestra que presentó uno de los valores más altos y se obtuvo el espectro, éste al compararse con un espectro del estándar de trabajo no presentaron igual comportamiento por dicha razón no podemos afirmar que las cantidades encontradas correspondan al Valerato de estradiol en las muestras colectadas.

En la figura N°9, se muestra de forma concreta los resultados que se obtuvieron en esta investigación, observando un incremento en sus promedios a medida van transcurriendo los meses, encontrando el valor más alto en el mes de Noviembre de 2008.

La razón por la cual no se puede afirmar que los datos obtenidos sean de Valerato de Estradiol, debido a que el espectro de absorbancia máxima de éste y los espectros de estándares y muestra no son idénticos ni corresponde al de la investigación bibliográfica<sup>(4)</sup>, además la muestra no fue aislada por falta del Cromatografo Liquido para la identificación, por lo tanto al no eliminar la sustancias que están presentes en el agua, se enmascara el compuesto en estudio y los datos que se obtenidos pueden ser de esas sustancias presentes en el agua potable, los resultados se encontraron cantidades pequeñas de Valerato de Estradiol, por lo que no se puede afirmar que dichos valores sean de el.

**CAPITULO VI**  
**CONCLUSIONES.**

## 6.0 CONCLUSIONES

1. En base a los resultados obtenidos y con respecto al espectro de absorbancia máxima del Valerato de estradiol, se obtuvo que los espectros de estándar y muestra no son idénticos, tampoco corresponde al espectro de absorción ultravioleta<sup>(4)</sup> de la referencia bibliográfica, por lo que no se puede asegurar que las pequeñas cantidades obtenidas al máximo de absorbancia del Valerato de estradiol, es decir a 280 nm, correspondan a esta sustancia en las muestras de agua potable.
2. La cantidades encontradas en el muestreo de la sustancia sospechosa en agua potable, en promedio son: para el mes de agosto 0.14 µg/mL, para el mes de octubre 1.94 µg/mL y para el mes de noviembre 2.05 µg/mL, lo cual evidencia un marcado aumento de concentración a medida se fue dando el descenso de lluvias que causa que las partículas se agrupen.
3. La curva de calibración del estándar de trabajo de Valerato de estradiol muestra la sensibilidad del método hacia el analito estudiado, cubriendo un amplio rango de trabajo.
4. Con respecto a la calidad del agua potable suministrada por ANDA a través de la planta potabilizadora del Proyecto Río Lempa, los resultados manifiestan, que no se evidenció que dichos valores fueran de Valerato de estradiol, por lo tanto el Agua Potable, debe seguirse monitoreando en este tipo de parámetros.

5. Al consultar sobre los resultados obtenidos con el personal responsable del Ministerio de Salud y Asistencia Social en la sección de Saneamiento Ambiental, se concluyó que las cantidades encontradas si se tratase de Valerato de estradiol no tendría alguna afección directa al ser humano debido a su baja concentración, por otro lado la Organización Mundial para la Salud, todavía no los ha tomado en cuenta en la norma como un factor de calidad del agua potable.

**CAPITULO VII**  
**RECOMENDACIONES.**



## 7.0 RECOMENDACIONES

1. Que las entidades correspondientes de vigilar y regular el agua que es suministrada como potable proveniente de la planta del Río Lempa, tomen las prevenciones necesarias para evitar que dicha agua lleve nuevas sustancias así como Valerato de Estradiol.
2. Que el Comité Nacional de Ciencia y Tecnología estudie la inserción de límites permitidos en nuevos contaminantes en la norma de agua potable.
3. Que el Ministerio de Salud y Asistencia Social junto Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillado (ANDA), realicen un profundo estudio de las diferentes sustancias no normadas que están presentes en el agua (calificada como apta para consumo humano) y busquen una mejor vigilancia contra la presencia de estos nuevos contaminantes que están siendo suministradas a la población en pequeñas cantidades actualmente.
4. En futuras investigaciones en la identificación y cuantificación de Valerato de estradiol en agua se debe emplear un cromatógrafo líquido de alta resolución con detector de fluorescencia para obtener resultados más exactos y precisos.

## **BIBLIOGRAFIA.**

## **BIBLIOGRAFIA.**

1. Bertram k. Manual Moderno. Farmacología Básica Clínica. Octava Edición
2. Campos L N.2003 Diagnostico para el mejoramiento del servicio y calidad del agua de la zona rural de Armenia Departamento de Sonsonate. San Salvador, Universidad de El Salvador Facultad de Ingeniería y Arquitectura Escuela de Ingeniería Civil.
3. CONACYT (Comité Nacional de Ciencia y Tecnología).2004. Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:04 Agua. Agua Potable (primera actualización).San Salvador El Salvador.
4. Diebbem H. otros. 2002. UV and IR Spectra Pharmaceutical Substances Pharmaceutical and Cosmetic Excipients. Alemania. Edition Cantor Verlay p.606.
5. Fernández, H, L.1997 Metodología de la Investigación. Editores McGraw-Hill/Interamericana. Primera Edición México D.F
6. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentacion). 2006. Who Guidelines for the Safe Use of Wastewater Use in Agriculture. Primera Edición. Estados Unidos. V.2, 215 p.
7. Goodman Gilman.2001.Las bases farmacológicas de la terapéutica interamericana. Editores McGraw-Hill. Décima Edición v.1 y 2.
8. Hopkin J y otros.1999 Lo Esencial de la Tecnología Anticonceptiva. Manual para personal Clínico. Editor de Population Reports.

9. Godoy J. 2006 "Determinación de la velocidad de oxidación de distintas muestras de agua residuales comparadas con una solución patrón de glucosa-acido glutámico en la demanda bioquímica de oxígeno a los cinco días con el método de la azida sódica modificado". San Salvador, Universidad de El Salvador Facultad de Química y Farmacia.
10. Microsoft Corporation.2006 Microsoft ® Encarta
11. Nollet Leo. 2007 Handbook of Water Analysis. CRC Press Taylor y Francis Group. Second Edition
12. The United State Pharmacopoeia Convention, Inc. 2000. The United State Pharmacopoeia. Twenty Four Revisión. USA.
13. Salazar, E y otros.2006. Manual de Química Agrícola Aplicada I y II. San Salvador. Universidad de El Salvador Facultad de Química y Farmacia.
14. <http://encolombia.com/medioambiente/hume-decreto210583.htm>
15. <http://es.wikipedia.org/wik>
16. <http://revista.consumer.es/web/es/20070101/medioambiente/71019>.
17. <http://sec.es./publicaciones/aho/cap03.htm>
18. <http://www.bioingenieria.edu.ar/academica/catedras/metestad/muestreo>
19. [http://www.biopsicologia.net/fichas/page\\_906.html](http://www.biopsicologia.net/fichas/page_906.html).
20. <http://www.consumaseguridad.com/sociedad-y-consumo/2004/03/25>
21. <http://www.definicion.org>
22. [http://www.diariomedico.com/edicion/diario\\_medico/entorno/es/desarrollado/1077074.html-78k](http://www.diariomedico.com/edicion/diario_medico/entorno/es/desarrollado/1077074.html-78k)

23. <http://www.empecidyno.com.ar/notaoo6.php>
24. [http://www.laprovidencia.es/secciones/noticia.j.sp?pRef=2008033000\\_2\\_140410\\_Articulos-MEDICAMENTOS-AGUA-POTABLE-52k](http://www.laprovidencia.es/secciones/noticia.j.sp?pRef=2008033000_2_140410_Articulos-MEDICAMENTOS-AGUA-POTABLE-52k)
25. <http://www.famguerra.com/Meds/search/meds.ctm.htm>
26. <http://www.nuestroclima.com/blog/?p=843-33k>
27. [http://www.pfizer.com.ar/productos/prod\\_detalle.asp?id=48](http://www.pfizer.com.ar/productos/prod_detalle.asp?id=48)
28. [http://www.tdx.cerca.es/TESIS\\_UJI/AVALIABLE](http://www.tdx.cerca.es/TESIS_UJI/AVALIABLE)
29. <http://www.universia.net.co/noticias/noticia-del-dia/novedosa-tecnologia-para-potabilizar-el-agua.htm>

## GLOSARIO (10, 14, 15,21)

**Aguas Crudas:** es aquella que no ha sido sometida a proceso de tratamiento.

**Agua Potable:** es aquella que por reunir requisitos físicos, químicos y bacteriológicos, ha sido tratada para consumo humano según unas normas de calidad promulgada por autoridades locales e internacionales.

**Anticonceptivos:** fármaco de origen esteroidal utilizado para evitar la acción de fecundación del espermatozoide en el embarazo.

**Anticonceptivos Orales:** los contraceptivos orales son compuestos químicos que inhiben la fertilidad y todos actúan sobre el sistema hormonal.

**Biodisponibilidad:** es un término farmacéutico que alude a la porción de la dosis, de un fármaco o nutriente administrado de manera exógeno, que llega hasta el órgano o tejido en el que lleva a cabo su acción.

**Contaminante:** incorporación al agua de materias extrañas, como microorganismos, productos químicos, residuos industriales y de otros tipos, o aguas residuales.

**Cuerpos Lúteos o Cuerpo Amarillo:** es una glándula endocrina que se forma en el ovario después de la ovulación, debido al rompimiento del folículo estimulado por el pico de la hormona LH. Esta glándula segrega estradiol y grandes cantidades de progesterona durante la fase lútea del ciclo menstrual.

**Disminorrea:** Flujo sanguíneo que se produce en la mujer y en las hembras de los mamíferos. Está constituido por sangre y por células procedentes del revestimiento uterino (endometrio).

Se produce durante la edad fértil de la mujer; por lo general comienza entre los 10 y los 16 años, en la pubertad, y cesa hacia los 45 o 55 años en la menopausia.

**Endometrio:** es la mucosa que cubre el interior del útero y consiste en un epitelio simple prismático con o sin cilios, glándulas y un estroma rico en tejido conjuntivo y altamente vascularizado.

Su función es la de alojar al cigoto o blastocito después de la fecundación, permitiendo su implantación, es el lugar donde se desarrolla la placenta y presenta alteraciones cíclicas en sus glándulas y vasos sanguíneos durante el ciclo menstrual en preparación para la implantación del embrión humano.

**La espectroscopia ultravioleta-visible o espectrofotometría ultravioleta-visible (UV/VIS),** es una espectroscopia de fotones y una espectrofotometría. Utiliza radiación electromagnética (luz), de las regiones visible, ultravioleta cercana (UV), e infrarroja cercana (NIR), del espectro electromagnético.

**Estándar:** es aquel patrón o preparación que contiene una concentración conocida de un elemento específico o sustancias.

**Estrógenos:** son hormonas sexuales de tipo femenino producidos por los ovarios y, en menores cantidades, por las glándulas adrenales. Los estrógenos inducen fenómenos de proliferación celular sobre los órganos diana, principalmente endometrio, mama y el mismo ovario.

**Estradiol:** Es una hormona sexual femenina del grupo de los estrógenos. Se sintetiza en los ovarios y participa en el desarrollo sexual de la mujer.

Si nos referimos al calendario del ciclo ovulatorio, ciclo basado en los 28 días, el estradiol se sintetiza antes de la ovulación, para estimular la secreción del moco uterino, que tiene características fértiles, importante para que el espermatozoide llegue al óvulo.

**Infertilidad:** por lo general se define como la incapacidad para concebir, gestar, o dar a luz a un niño. La causa más frecuente de infertilidad es la incapacidad para concebir.

**Hormonas Sexuales:** Son las sustancias que inducen y mantienen las características sexuales secundarias en los varones. Los principales andrógenos son la testosterona y la androsterona. Se encuentran en los testículos y las glándulas suprarrenales, donde se producen, circulan en la sangre y son excretadas en la orina.

Iniciándose en la pubertad, la función principal de los andrógenos es tanto la estimulación de las características sexuales secundarias, como el desarrollo de los órganos genitales

**Muestra:** es la tomada en un lugar representativo en determinado momento.

**Progesterona:** es una hormona del cuerpo lúteo que se forma con la ruptura cíclica de un folículo ovárico. La progesterona es necesaria para que el útero y los senos se desarrollen y funcionen correctamente.



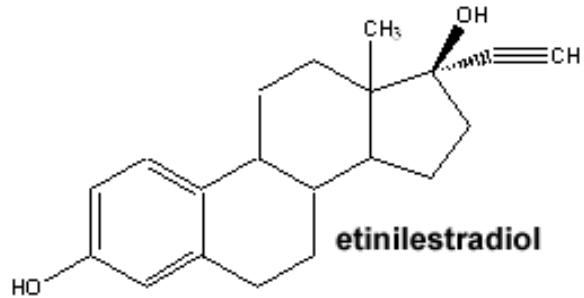
**Tratamiento:** es el conjunto de operaciones y procesos unitarios que se realizan sobre el agua cruda, con el fin de modificar sus características físicas, químicas y bacteriológicas para obtener agua potable que cumpla las normas y criterios de calidad.

**Sinergismo:** La acción combinada de varias sustancias químicas, las cuales producen un efecto total más grande que el efecto de cada sustancia química separadamente.

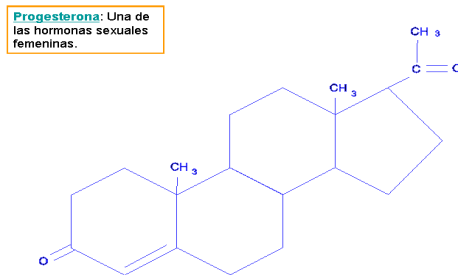
## **ANEXOS**

**ANEXO N°1.**

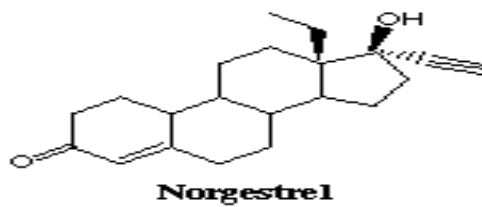
## ESTRUCTURAS QUIMICAS DE ANTICONCEPTIVOS.



**Figura N°13:** Estructura del Etinilestradiol.



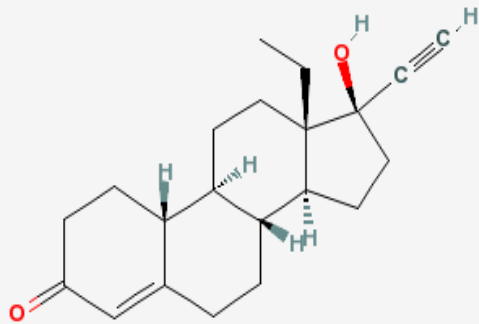
**Figura N°14:** Estructura de la progesterona.



**Figura N°15:** Estructura del Norgestrel.

C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub> Vida media de 5-14 horas

## Levonorgestrel



**Biodisponibilidad ~100%**

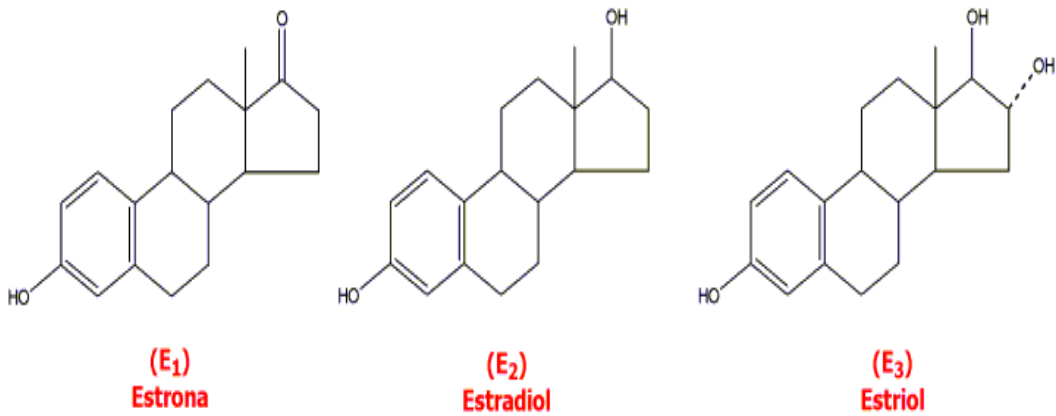
**Unión a proteínas ~55%**

**Vida Media: 36± 13 horas**

**Excreción: renal 45%**

**Fecal 32%**

**Figura N°16:** Estructura del Levonorgestrel.

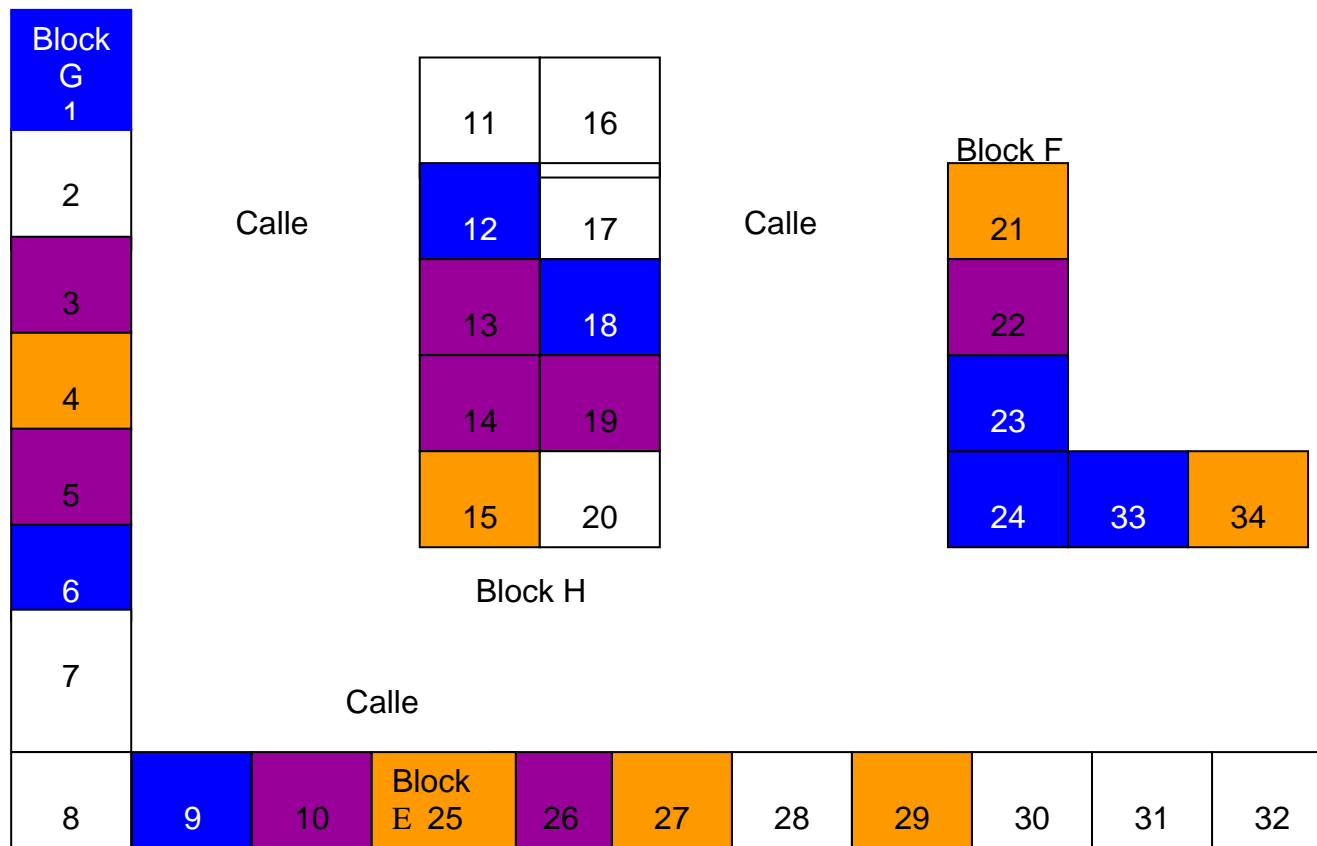


**Figura N°17:** Metabolitos del estradiol.

**ANEXO N° 2.**



**Figura N°18:** Mapa Satelital de la colonia Bella Vista en el Municipio de Soyapango.



**Figura N°19:** Croquis de la colonia Bella Vista en Soyapango.

- Casas que se muestrearon en el mes de Agosto.
- Casas que se muestrearon en el mes de Octubre.
- Casas que se muestrearon en el mes de Noviembre.

## **ANEXO N°4.**

### **ANALISIS DE HORMONAS ESTEROIDALES.**

Esteroides sintéticos y naturales han sido sustancias de interés de todo el mundo debido a que estos componentes interfieren con la reproducción normal de la humanidad, ganado y la fauna. Uno de los grupos de estos componentes bajo investigación son los estrógenos naturales, primordialmente sintetizados en el cuerpo femenino, los cual es esencial en las características femeninas y reproducción y en el acercamiento relacionado con las hormonas sintéticas.

Muchos efectos estrogenicos fueron observados en el ambiente, para el caso de feminización de peces machos, como indicador por producción vitellogenético por los fluidos alcantarillados que han sido identificados en ríos del todo del mundo.

Para datos de efectos estrogenicos en la vida acuática no ha sido concluido o especificado un compuesto en particular, pero algunos químicos hacen responsables principalmente a la causa de una destrucción del sistema endocrino.

Sin embargo los estrógenos naturales estrona (E1), 17B-estradiol (E2), estradiol (E3) y los exógenos 17  $\alpha$ -etinilestradiol (EE2), el ingrediente activo de las píldoras anticonceptivas orales que poseen una alta estrogenicidad. Los estrógenos sintéticos son siempre comúnmente usados en humanos como medicamentos de terapia (estrógenos y progestágenos) y en el ganado como promotores de crecimiento (17 $\beta$  estradiol, progesterona,



testosterona, zeranol, acetato de trembolone y acetato de melengestrol y sus metabolitos).

## SISTEMA DE ANALISIS DE LC-MS/MS

### Procedimiento para Iones de Estrógenos

Para estos es necesario tener en cuenta que se realiza por HPLC en el cual es necesario de una columna Allí tima C18 (250x4.6 mm 5 µm), su fase móvil es Acetonitrilo (ACN) y agua que fueron programada de 30% al 70% después de 24 min, a flujo continuo de 1mL/min.

Una solución Metanol-Amoniacal (40 mmol/Lt) fue la post-columna agregada a la columna LC, fluyendo un flujo continuo de 0.11 ml/min para promover la desprotonización bastante rápida de los ácidos estrógenos, estos resultados son un aumento drástico que responde al sistema de ESI-MS [50].

Dada la concentración baja de esteroides en muestras de ambiente LC-MS/MS es la técnica preferente para analizar estos compuestos.

Sin embargo el principal problema cuando usamos LC MS/MS en los efectos matrices inesperados; cual tiene una influencia negativa en la reproducibilidad y exactitud de los análisis.

### Procedimiento para Analizar Estrógenos Libres o Conjugados

Se hace por medio del sistema LC-MS/MS y ellos se encuentran de la siguiente forma conjugados como en glucoronidos. Sulfatos, acetatos. De los restos de agua estos son extraídos por oasis en cartucho de HLB o cartucho carbografo 4.

Los compuestos son separados con Alltima C18 columna (250x4.6 mm 5  $\mu\text{m}$ ), usando gradiente de elusión con acetonitrilo y agua esa es la fase móvil previamente acidificada con ácido fórmico al 10 mM.

En la fase orgánica II debe de haber un aumento lineal desde 20% -60% en 24 min. Una proporción de flujo de 1ml/min.

De esta manera se analizan las hormonas esteroidales o compuestos anticonceptivos en el medio ambiente acuífero (quiere decir en el agua).

## **ANEXO N°5.**

### **EQUIPO, MATERIALES Y REACTIVOS:**

#### **A. EQUIPO:**

- Equipo de Espectroscopia Ultravioleta-Visible.
- Balanza.

#### **B. MATERIALES:**

- Beaker 10, 25, 30, 50, 100, 250 mL.
- Hielera para transportar las muestras.
- Recipientes para agua (Botellas plásticas de un litro).
- Gabacha, Guantes y Lentes.
- Papel glácil.
- Balones Volumétricos de 10, 25, 100, 200 mL.
- Micropipetas.
- Espátula

#### **C. REACTIVOS:**

- Sales del Estradiol.
- Alcohol (Etanol)
- Agua destilada.

## **ANEXO N°6.**

### **Monografía del Valerato de Estradiol.**

El valerato de estradiol contiene no menos del 98.0 por ciento y no más del 102.0 por ciento de  $C_{23}H_{32}O_3$

**Almacenado y Empacado:** presérvase bien cerrado y en contenedores resistentes a la luz.

**USP Estándar de referencia:** 11.

USP Valerato de Estradiol RS.

**Identificación** por absorción infrarroja (197K).

**Rango de Fusión** (741) entre 143° y 150°

**Rotación Específica** (7815), entre +41 y +47

**Solución problema** 25 mg (libre de humedad) por mL de dioxanos

**Determinación de agua** Método I (1921), no mas del 0.1 %

Límites del estradiol: Aplique 5  $\mu$ L de una solución de valerato de estradiol en Acetona que contenga 5mg/mL y 5  $\mu$ L de una solución de estradiol en acetona que contenga 50  $\mu$ g por mL, alrededor de los 2.5 cm del borde de abajo del plato de cromatografía de capa fina (vea cromatografía 621), cubierto con un 0.25 mm de capa de cromatografía de sílica gel. Desarrolle el cromatograma en un sistema de solventes que consiste en una mezcla de ciclohexano y acetato de etilo (7:3), en una cámara antes que el solvente recorra alrededor de 15 cm de su punto de aplicación.

Remueve el plato, seque a 90 ° por 30 minutos, rocíe el plato con una ligera solución de metanol en ácido sulfúrico 3 en 10, preparado cuidadosamente agregando el ácido sulfúrico a 30 mL de metanol en un frasco volumétrico de

100 mL, en baño de hielo hasta volumen. Caliente el plato a 90° por 30 minutos, al desarrollar el cromatograma de Valerato de Estradiol, cualquier mancha de Estradiol no es más ni menos intensa que la producida por el estándar. (El límite es el 1.0 % de estradiol).

Ácido libre: Neutralice 25 mL de alcohol, en un frasco cónico con hidróxido de sodio VS 0.01N hasta un color azul usando azul de bromotimol TS con precisión pese 500 mg de valerato de estradiol y disuélvalo en el alcohol neutralizado. Titule rápidamente con Hidróxido de sodio 0.01 N VS hasta encontrar un color azul.

Cada mL de hidróxido de sodio 0.01 N es equivalente a 1.021 mg de ácido valérico. El contenido de ácido libre es expresado como ácido valérico y no debe de exceder de 0.5 %.

Impurezas ordinarias (466).

Solución problema: Acetona

Solución estándar: Acetona

Eluyente: mezcla de ciclohexano y éter (4:1).

Visualización: 5 seguido por 1

Ensayo;

Fase móvil: Disuelva 0.8 g de nitrato de amonio en 300 mL de agua, agregue 700 mL de acetonitrilo, mezcle. Filtre y desgástelo haciendo los ajustes necesarios (vea sistema de conveniencia debajo de cromatografía 621).

Solución estándar interna: prepare una solución de benzoato de testosterona en tetrahidrofuron teniendo una concentración de alrededor de 2.0 mg por mL.

Preparación del estándar: Disuelva la cantidad pesada con precisión de USP de Valerato de Estradiol RS en la solución estándar interna y dilúyala cuantitativamente con la solución estándar interna para tener una solución que tenga una concentración conocida de 1 mg de Valerato de Estradiol USP RS por mL.

Preparación del ensayo: Transfiera alrededor de 25 mg de Valerato de Estradiol, pesado con precisión a un frasco volumétrico de 25 mL, agregue solución estándar interna hasta volumen y mezcle.

Sistema Cromatográfico (vea cromatografía 621) El cromatograma líquido es equipado con detector de 280nm y con una columna 4 mm x 30 cm que contiene condensado L1. La proporción de flujo es acerca 2 mL por minuto.

Cromatógrafo la preparación del estándar, graba la contestación de la cresta como es dirigida para el Procedimiento: los tiempos de retención relativa son alrededor de 1.2 de benzoato de testosterona y 1.0 de valerato de estradiol, la eficiencia de la columna determino que la cresta analizada no es menos que 1.100 platos teóricas; la resolución, R, entre el analito y la cresta del estándar interno es no menos que de 3.0, y la desviación estándar relativa para estas inyecciones es no mas del 1.5 %.

Procedimiento: inyectar separadamente igual volúmenes (acerca de 10 µL) de preparación de estándar y de ensayo de preparación dentro del cromatógrafo, recorre el cromatograma y mide la concentraciones para la cresta mayor. Calcule la cantidad en mg de valerato de estradiol de la siguiente formula:

25 C (R<sub>1</sub>/R<sub>2</sub>).

En donde  $C$ , es la concentración en mg/mL de Valerato de estradiol USP RS en la preparación del estándar y  $R_1$  y  $R_2$  son los radios de las crestas obtenidos de la preparación del estándar y de preparación de ensayo, respectivamente.

## Anexo N° 7

CERTIFICADO DE ANALISIS No. MP-0607003685

Producto:	<b>ESTRADIOL VALERATO</b>	Lote:	MP-0607123
Proveedor:	TRANSO-PHARM HANDELS - GMBH	Fch. Ingreso:	25-07-2006
Lote Proveedor:	14606	Fch. Vencimiento:	05-11
Cantidad:	300 g	Fch. Reanálisis:	06-08
		Fch. Fabricación:	06-06

Determinaciones	Especificación	Resultado
DESCRIPCION	Poivo cristalino blanco	CONFORME
SOLUBILIDAD	Prácticamente insoluble en agua, soluble en metanol	CONFORME
IDENTIFICACION	El espectro de la solución muestra corresponde al del estándar.	CONFORME
PUNTO DE FUSIÓN	143 - 150 °C	149 °C
ENSAYO	97 - 103%	101.6%
CUENTA TOTAL MICROBIANA	Máx. 100 UFC/g	CONFORME
HONGOS Y LEVADURAS	Máx. 10 UFC/g	CONFORME
MICROORGANISMOS INDICADORES USP	Ausencia	CONFORME
ENTEROBACTERIAS	Ausencia	CONFORME

Observaciones:

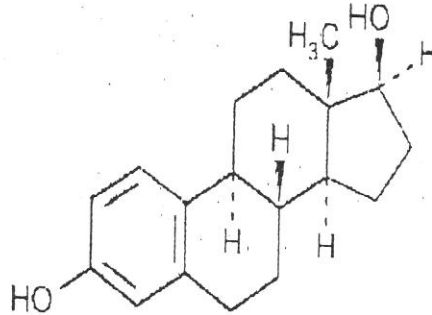
Fecha : 31-07-2006

CONTROL DE CALIDAD

**APROBADO**



Estradiol



$C_{18}H_{24}O_2$  -----272.39

Estra-1,3,5(10)-triene-3,17-diol, (17 $\beta$ )-.

Estra-1,3,5(10)-triene-3,17 $\beta$ -diol ----[50-28-2].

» Estradiol contains not less than 97.0 percent and not more than 103.0 percent of  $C_{18}H_{24}O_2$ , calculated on the anhydrous basis.

**Packaging and storage**— Preserve in tight, light-resistant containers. Store at 25 , excursions permitted between 15 and 30 .

**USP Reference standards** : 11 : —

USP Estradiol RS.

USP Estrone RS.

**Identification**—

**A:** Infrared Absorption : 197M : —

**B:** Ultraviolet Absorption : 197U : —

*Solution:* 50  $\mu$ g per mL.

*Medium:* alcohol.

Absorptivities at 280 nm, calculated on the anhydrous basis, do not differ by more than 3.0%.

**Melting range, Class I** : 741<sup>1</sup> : between 173 and 179 . [NOTE—Dry over silica gel for not less than 16 hours prior to testing.]

**Specific rotation** : 781S<sup>1</sup> : between +76 . and +83 .

*Test solution*: 10 mg per mL, in dioxane.

Water, Method I 921 : not more than 3.5%.

**Chromatographic purity**— [NOTE—Make all solutions fresh daily.]

*Mobile phase*— Prepare a filtered and degassed mixture of 2,2,4-trimethylpentane, *n*-butyl chloride, and methanol (45:4:1). Make adjustments if necessary (see *System Suitability* under

Chromatography 621 ).

*Diluting solution*— Prepare a filtered and degassed mixture of *n*-butyl chloride and methanol (5:1).

*Test solution*— Transfer about 70 mg of Estradiol, accurately weighed, to a 10-mL volumetric flask, dissolve in *Diluting solution*, shake vigorously to aid dissolution, dilute with *Diluting solution* to volume, and mix.

*Chromatographic system* (see Chromatography 621 )— The liquid chromatograph is equipped with a 280-nm detector and a 4.6-mm × 25-cm column that contains packing L3. The flow rate is about 2 mL per minute. Chromatograph the *Test solution*, and record the peak responses as directed for *Procedure*: the resolution, *R*, between estradiol and any impurity is not less than 1.0; the column efficiency is not less than 800 theoretical plates; the tailing factor is not more than 1.5; and the relative standard deviation for replicate injections is not more than 2.0%.

*Procedure*— Inject a volume (about 10 µL) of the *Test solution* into the chromatograph, record the chromatogram, and measure the peak responses. Calculate the percentage of each impurity in the portion of Estradiol taken by the formula:

$$100(r_i / r_s)$$

in which *r<sub>i</sub>* is the peak response for each impurity; and *r<sub>s</sub>* is the sum of the responses of all the peaks: not more than 0.5% of any individual impurity is found; and not more than 1.0% of total impurities is found.

**Assay**—

*Mobile phase*— Prepare a filtered and degassed mixture of acetonitrile and water (55:45). Make adjustments if necessary (see *System Suitability* under Chromatography 621 ).

*Internal standard solution*— Transfer about 300 mg of ethylparaben to a 500-mL volumetric flask, add methanol to volume, and mix.

*Standard preparation*— Dissolve accurately weighed quantities of USP Estradiol RS and USP Estrone RS in methanol to obtain a solution containing 0.40 mg and 0.24 mg, respectively, in each mL. Pipet 10 mL of this solution and 5 mL of the *Internal standard solution* into a 200-mL volumetric flask. Add 100 mL of methanol, dilute with water to volume, and mix to obtain a solution having a known concentration of about 20 µg of USP Estradiol RS per mL.

*Assay preparation*— Transfer about 100 mg of Estradiol, accurately weighed, to a 250-mL volumetric flask, add methanol to volume, and mix. Transfer 10.0 mL of this solution to a 200-mL volumetric flask, add 5.0 mL of *Internal standard solution* and 100 mL of methanol, dilute with water to volume, and mix.

*Chromatographic system* (see *Chromatography* 621 )— The liquid chromatograph is equipped with a 205-nm detector and a 3.9-mm × 30-cm column that contains packing L1. The flow rate is about 1 mL per minute. Chromatograph the *Standard preparation*, and record the peak responses as directed for *Procedure*: the relative retention times are about 0.7 for the internal standard, about 1.3 for estrone, and 1.0 for estradiol; the resolution, *R*, between the analyte and estrone is not less than 2.0; and the relative standard deviation for replicate injections is not more than 2.0%.

*Procedure*— Separately inject equal volumes (about 25 µL) of the *Standard preparation* and the *Assay preparation* into the chromatograph, record the chromatograms, and measure the responses for the major peaks. Calculate the quantity, in mg, of C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub> in the portion of Estradiol taken by the formula:

$$5C(R_v / R_s)$$

in which *C* is the concentration, in µg per mL, of *USP Estradiol RS* in the *Standard preparation*; and *R<sub>v</sub>* and *R<sub>s</sub>* are the peak response ratios obtained from the *Assay preparation* and the *Standard preparation*, respectively.

**Auxiliary Information**— *Staff Liaison* : Daniel K. Bempong, Ph.D., Senior Scientist

*Expert Committee* : (MDPS05) Monograph Development-Pulmonary and Steroids

USP30–NF25 Page 2074

*Pharmacopeial Forum* : Volume No. 29(5) Page 1478

*Phone Number* : 1-301-816-8143

Estradiol Valerate  
 $C_{23}H_{32}O_3$  ---356.50

Estra-1,3,5(10)-triene-3,17-diol(17 $\beta$ )-, 17-pentanoate.  
Estradiol 17-valerate. ---[979-32-8].

» Estradiol Valerate contains not less than 98.0 percent and not more than 102.0 percent of  $C_{23}H_{32}O_3$ .

**Packaging and storage**— Preserve in tight, light-resistant containers.

**JSP Reference standards** : 11 : —  
*USP Estradiol Valerate RS.*

**Identification, Infrared Absorption** : 197K :

**Melting range, Class Ia** : 741 : between 143 and 150 .

**Specific rotation** : 781S : between +41 and +47 .

**Test solution**: 25 mg, uncorrected for moisture, per mL, in dioxane.

**Water, Method I** : 921 : not more than 0.1%.

**Limit of estradiol**— Apply 5  $\mu$ L of a solution of Estradiol Valerate in acetone, containing 5 mg per mL, and 5  $\mu$ L of a solution of estradiol in acetone, containing 50  $\mu$ g per mL, about 2.5 cm from the lower edge of a thin-layer chromatographic plate (see *Chromatography* : 621 : ) coated with a 0.25-mm layer of chromatographic silica gel. Develop the chromatogram in a solvent system consisting of a mixture of cyclohexane and ethyl acetate (7:3) in an unlined chamber until the solvent front has moved about 15 cm above the point of application. Remove the plate, dry at 90 for 30 minutes, and spray the plate lightly with a 3 in 10 solution of methanol in sulfuric acid, prepared by cautiously adding sulfuric acid to 30 mL of methanol in a 100-mL volumetric flask, in an ice bath, to volume. Heat the plate at 90 for 30 minutes: any spot in the chromatogram of Estradiol Valerate close to the origin and corresponding to the estradiol spot is not larger nor more intense than that produced by the standard. (The limit is 1.0% of estradiol.)

**Free acid**— Neutralize 25 mL of alcohol, in a conical flask, with 0.01 N sodium hydroxide VS to a faint blue color, using *bromothymol blue TS*. Accurately weigh 500 mg of Estradiol Valerate, and dissolve it in the neutralized alcohol. Titrate rapidly with 0.01 N sodium hydroxide VS to a faint blue color. Each mL of 0.01 N sodium hydroxide is equivalent to 1.021 mg of valeric acid. The free acid content, expressed as valeric acid, does not exceed 0.5%.

**Ordinary impurities** 466 —

*Test solution:* acetone.

*Standard solution:* acetone.

*Eluant:* a mixture of cyclohexane and ether (4:1).

*Visualization:* 5 followed by 1.

**Assay—**

*Mobile phase—* Dissolve 0.8 g of ammonium nitrate in 300 mL of water, add 700 mL of acetonitrile, and mix. Filter, and degas. Make adjustments if necessary (see *System Suitability* under *Chromatography* 621 ).

*Internal standard solution—* Prepare a solution of testosterone benzoate in tetrahydrofuran having a concentration of about 2.0 mg per mL.

*Standard preparation—* Dissolve an accurately weighed quantity of *USP Estradiol Valerate RS* in *Internal standard solution*, and dilute quantitatively with *Internal standard solution* to obtain a solution having a known concentration of about 1 mg of *USP Estradiol Valerate RS* per mL.

*Assay preparation—* Transfer about 25 mg of Estradiol Valerate, accurately weighed, to a 25-mL volumetric flask, add *Internal standard solution* to volume, and mix.

*Chromatographic system* (see *Chromatography* 621 )—The liquid chromatograph is equipped with a 280-nm detector and a 4-mm × 30-cm column that contains packing L1. The flow rate is about 2 mL per minute. Chromatograph the *Standard preparation*, and record the peak responses as directed for *Procedure*: the relative retention times are about 1.2 for testosterone benzoate and 1.0 for estradiol valerate; the column efficiency determined from the analyte peak is not less than 1100 theoretical plates; the resolution, *R*, between the analyte and internal standard peaks is not less than 3.0; and the relative standard deviation for replicate injections is not more than 1.5%.

*Procedure—* Separately inject equal volumes (about 10 µL) of the *Standard preparation* and the *Assay preparation* into the chromatograph, record the chromatograms, and measure the responses for the major peaks. Calculate the quantity, in mg, of C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub> in the portion of Estradiol Valerate taken by the formula:

$$25C(R_v/R_s)$$

in which *C* is the concentration, in mg per mL, of *USP Estradiol Valerate RS* in the *Standard preparation*; and *R<sub>v</sub>* and *R<sub>s</sub>* are the peak response ratios obtained from the *Assay preparation* and the *Standard preparation*, respectively.

**Auxiliary Information—** *Staff Liaison* : Daniel K. Bempong, Ph.D., Senior Scientist

*Expert Committee* : (MDPS05) Monograph Development-Pulmonary and Steroids