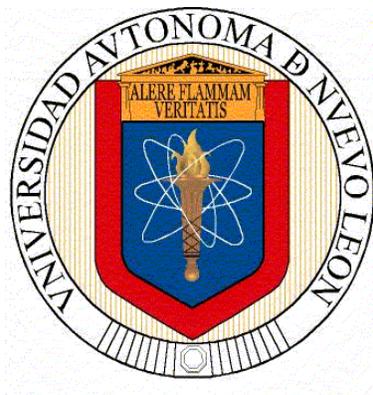


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



TESIS

**MINERALIZACIÓN COMPLETA DE UNA MEZCLA DE NORFLOXACINO,
OFLOXACINO Y CIPROFLOXACINO MEDIANTE LA COMBINACIÓN SECUENCIAL
DE ELECTRO-FENTON Y UN TRATAMIENTO MICROBIOLÓGICO**

QUE PRESENTA

ISRAEL ANGEL LARRALDE PIÑA

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN
EN QUÍMICA Y TECNOLOGÍA AMBIENTAL**

JULIO 2024

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



Mineralización completa de una mezcla de norfloxacin, ofloxacin y ciprofloxacino mediante la combinación secuencial de electro-Fenton y un tratamiento microbiológico

Por:

M.C. Israel Angel Larralde Piña

Tesis de Doctorado realizada en el Posgrado de Ciencias con orientación en Química y Tecnología Ambiental de la Universidad Autónoma de Nuevo León, como parte de los requisitos para obtener el grado de doctor en Ciencias.

Monterrey, Nuevo León

Julio 2024

Aprobación de Tesis:

Dr. Edgar Jocsan Ruiz Ruiz
Presidente

Dr. Jorge Luis Guzmán Mar
Codirector de Tesis

Dr. Karim Acuña Askar
Codirector de Tesis

Dra. Minerva Villanueva Rodríguez
Comité Tutorial

Dra. María Elena Cantú Cárdenas
Comité Tutorial

Dr. María Guadalupe Sánchez Anguiano
Comité Tutorial

MINERALIZACIÓN COMPLETA DE UNA MEZCLA DE NORFLOXACINO, OFLOXACINO
Y CIPROFLOXACINO MEDIANTE LA COMBINACIÓN SECUENCIAL DE ELECTRO-
FENTON Y UN TRATAMIENTO MICROBIOLÓGICO

Revisión de Tesis:

Dr. Edgar Jocsan Ruiz Ruiz
Director de Tesis

Dr. Jorge Luis Guzmán Mar
Codirector de Tesis

Dr. Karim Acuña Askar
Codirector de Tesis

Dra. Minerva Villanueva Rodríguez
Comité Tutorial

Dra. María Elena Cantú Cárdenas
Comité Tutorial

Dr. María Guadalupe Sánchez Anguiano
Comité Tutorial

Dra. Cinthia Guadalupe Aba Guevara
Comité Tutorial

Dr. Hugo Alberto Luna Olvera
Comité Tutorial

RESUMEN

M.C. Israel Angel Larralde Piña

Fecha de Graduación: octubre 2024

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del estudio: Mineralización completa de una mezcla de norfloxacin, ofloxacin y ciprofloxacino mediante la combinación secuencial de electro-Fenton y un tratamiento microbiológico.

Número de páginas: 179

Candidato para el grado de Doctor en Ciencias con orientación en Química y Tecnología Ambiental

Área de estudio: Química y Tecnología Ambiental

Propósito y método de estudio:

Evaluar la eficiencia de remoción de contaminantes de origen farmacéutico combinando un proceso electroquímico y un proceso biológico en un reactor de lecho empacado de flujo ascendente, empleando técnicas analíticas disponibles que permitan identificar, cuantificar y elucidar en dependencia con el paso experimental correspondiente.

Contribuciones y conclusiones:

El proyecto de investigación se centró en evaluar una propuesta para mejorar la eficiencia de las plantas de tratamiento de agua para empresas de giro farmacéutico. Se implementó un enfoque combinado que incluye un proceso avanzado de oxidación y un tratamiento biológico en un reactor de lecho de flujo ascendente y viceversa. Este enfoque permitió la eliminación completa de una mezcla de contaminantes farmacéuticos. Además, la secuencia combinada logró eliminar eficazmente los subproductos finales de baja toxicidad, reduciendo así la carga orgánica del agua tratada.

Firma del estudiante: ___M.C. Israel Angel Larralde Piña _____

Firma del director de tesis: ___Dr. Edgar Jocsan Ruiz Ruiz _____

DEDICATORIA

Dedicada a la memoria de mi padre, Eugenio Larralde Hernández (1960-2017). Desde la licenciatura hasta el doctorado; sé que no pudiste estar presente. Con todo mi corazón: padre, esto es para ti.

A mi madre, Susana Isabel Piña Escamilla; mi motor, mi fuente de inspiración. Nada tendría sentido sin ti a mi lado. Mil gracias por tu apoyo.

A mis hermanos, Eugenio Karim y Mizzden Lizeth Larralde Piña. Esto también es para ustedes.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores de tesis: Dr. Edgar J. Ruiz Ruiz, Jorge Luis Guzmán Mar, Karim Acuña Askar.

A todos los sinodales que leyeron el documento y lo aprobaron. Muchas gracias

Amigos y compañeros del Laboratorio de fotocatalisis y electroquímica ambiental (LAFEAM). Muchas gracias por el apoyo en cada situación.

A los doctores y personal profesional del LAFEAM. Muchas gracias por la aclaración de todas las dudas que surgieron.

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el otorgamiento de la beca durante mi ciclo de estudios.

Al instituto de tecnología de Karlsruhe, *Karlsruher Institut Für technologie* (KIT) por permitirme realizar la estancia de investigación en sus instalaciones. Vielen dank für alles.

A Laura Belén Hernández Díaz por haberme ayudado a realizar experimentos mientras estaba en la estancia y darles seguimiento a los datos. Muchas gracias por tu apoyo.

Por último, pero no menos importante, gracias a mis amigos de toda la vida por su apoyo.

No es la posesión de la verdad, sino el éxito que llega tras la búsqueda, donde el buscador se enriquece con ella.

-Max Planck

ÍNDICE

RESUMEN	iv
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
ÍNDICE	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
CAPÍTULO 1	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1. Marco teórico	4
1.1.1. Procesos Avanzados de Oxidación	4
1.1.2. Procesos Electroquímicos Avanzados de Oxidación	6
1.1.2.1. Electro-Fenton.....	7
1.1.2.2. Oxidación Anódica	8
1.1.3. Procesos biológicos	9
1.1.3.1. Sistemas discontinuos.....	10
1.1.3.2. Sistemas continuos	12
1.1.3.3. Reactores biológicos	14
1.1.3.3.1. Reactores de lecho empacado	14
1.1.3.4. Parámetros ambientales	17
1.1.3.5. Respiración celular bacteriana	18
1.3.5.1. Respiración por nitrato reducción.....	19
1.2. Antecedentes	22
1.2.1. Degradación y mineralización de FQs mediante PEAO.....	22
1.2.2. Degradación de FQs mediante procesos biológicos.....	23
1.2.3. Acoplamiento entre PEAO y procesos biológicos en la degradación de compuestos farmacéuticos.....	24
1.3. Análisis crítico de la literatura	25
1.4. Aportación científica	26
1.5. Hipótesis	26

1.6. Objetivos.....	26
1.6.1. Objetivo general	27
1.6.2. Objetivos específicos.....	27
CAPÍTULO 2	28
METODOLOGÍA.....	28
2.1. Reactivos	28
2.1.1. Reactivos utilizados en el pretratamiento con EF	28
2.1.2. Reactivos utilizados en el tratamiento biológico	28
2.2. Material y equipo	30
2.3. Metodología experimental de la primera parte: tratamiento electroquímico	31
2.3.1. Implementación del método analítico por HPLC para la detección y cuantificación de OFL, NOR y CIP	31
2.3.2. Instalación de la celda electroquímica.....	31
2.3.2.1. Cuantificación de H ₂ O ₂	31
2.3.2.2. Evaluación de la degradación de la mezcla de OFL, NOR, y CIP	32
2.3.2.3. Determinación y cuantificación de ácidos carboxílicos y iones inorgánicos.....	34
2.3.2.4. Identificación de intermediarios de degradación por cromatografía de líquidos acoplada con espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).....	34
2.3.3 Evaluación de la toxicidad mediante los bioensayos con <i>Vibrio fisheri</i> .	36
2.4. Metodología experimental de la segunda parte: tratamiento biológico	36
2.4.1. Preparación y caracterización del soporte microbiano	36
2.4.2. Instalación y operación de los reactores de lecho empacado	37
2.4.3. Aclimatación de la biopelícula a los sustratos limitantes en el RE-1	38
2.4.3.1. Metodología de dispersión de OFL, NOR, y CIP en el MNR.....	38
2.4.4. Evaluación de la biodegradación del OFL, CIP y NOR en el RE-1	39
2.4.5. Determinación de la masa celular volátil y grosor de la biopelícula por segmento	40
2.4.6. Metodología experimental de la tercera parte: Acoplamiento de los procesos.....	41
2.4.6.1 Tren 1: RE-1/EF	41
2.4.6.2 Tren 2: EF/RE-2	42

CAPÍTULO 3	44
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
PRIMERA PARTE: TRATAMIENTO ELECTROQUÍMICO	44
3.1. Implementación del método cromatográfico por HPLC	44
3.2. Cuantificación de H₂O₂ electrogenerado	46
3.3. Evaluación de la degradación en mezcla de OFL, NOR y CIP mediante EF	49
3.3.1. Pruebas control de degradación	49
3.4. Evaluación del diseño Box-Behnken para la optimización de la degradación de OFL, NOR, CIP en mezcla mediante EF	52
.....	57
3.5. Evaluación del grado de mineralización de la mezcla de FQs	61
3.6. Determinación y cuantificación de intermediarios de degradación	65
3.6.1. Elucidación del mecanismo de degradación	65
3.6.2. Ácidos carboxílicos y iones inorgánicos	71
3.7. Inhibición de las especies reactivas de oxígeno (prueba de <i>scavenger</i>)	76
.....	76
SEGUNDA PARTE: TRATAMIENTO MICROBIOLÓGICO	80
3.8. Caracterización del soporte microbiano	80
3.9. Instalación y operación de los reactores de lecho empacado	82
3.10. Aclimatación de la biopelícula con OFL, NOR, y CIP y medición de los parámetros ambientales	83
3.11. Evaluación de la degradación biológica del ciprofloxacino, ofloxacino y norfloxacino	85
3.11.1. Cinética bifásica de primer orden: degradación individual	85
3.11.2. Cinética bifásica de primer orden: degradación en mezcla	94
3.11.3. Evaluación del modelo cinético de Arvin (1991).....	99
3.11.4. Evaluación del modelo cinético de Monod (1949).....	105
3.12. Cinética abiótica en reactor de referencia (RE-0)	107
TERCERA PARTE: ACOPLAMIENTO DE LOS PROCESOS.....	115
3.14. Acoplamiento de los procesos	115
3.14.1. Tren de tratamientos reactor biológico RE-1/EF	115
3.14.1.1. Análisis del carbón orgánico total.....	117

3.14.2. Tren de tratamientos electro-Fenton/reactor biológico 2 (EF/RE-2)	120
3.14.2.1. Análisis del carbón orgánico total	123
CAPÍTULO 4	126
CONCLUSIONES	126
CAPÍTULO 5	129
REFERENCIAS	129
APÉNDICE I	139
CURVAS DE CALIBRACIÓN Y OPERACIÓN DE LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS	139
1.1. Espectrofotometría de UV-Vis	139
1.2. Cromatografía de líquidos de alta resolución HPLC: fase reversa	141
1.3. Cromatografía de exclusión iónica	143
1.4. Cromatografía de intercambio iónico	144
1.5. Cromatografía de líquidos acoplada a masas	146
APÉNDICE 2	147
TÉCNICAS ANALÍTICAS	147
2.1. Espectrofotometría de UV-Vis	147
2.1.1. Fundamento	147
2.2. Cromatografía de líquidos en fase reversa	147
2.2.1. Fundamento	148
2.3. Cromatografía de intercambio iónico	148
2.3.1. Fundamento	149
2.4. Cromatografía de exclusión iónica	149
2.4.1. Fundamento	150
2.5. Cromatografía de líquidos acoplada a masas	150
2.5.1. Fundamento	150
2.6. Carbono orgánico total	151
2.6.1. Fundamento	151
RECOMENDACIONES	152
DISPOSICIÓN DE LOS RESIDUOS	153
RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO	154

LISTA DE ABREVIATURAS

Acrónimo	Significado
USEPA	Agencia de protección Ambiental de los Estados Unidos
TRH	Tiempo de retención hidráulica
TMU	Tasas de máxima utilización de sustrato
THF	Tetrahidrofurano
RRO	Reacción de reducción de oxígeno
RLE	Reactores de lecho empacado
RELEM	Reactor biológico de lecho empacado
RE	Reactor biológico
POR	Potencial óxido reducción
PEO	Potencial de evolución de oxígeno
PEAO	Procesos electroquímicos avanzados de oxidación
PAOs	Procesos avanzados de oxidación
OXM	Ácido oxámico
OXL	Ácido oxálico
OFL	Ofloxacino
OD	Oxígeno disuelto
OA	Oxidación anódica
NOR	Norfloxacino
MNR-FQs	Medio de cultivo nitrato reductor enriquecido con fluoroquinolonas
MNR	Medio de cultivo nitrato-reductor
MAL	Ácido maleico
LC-MS/MS	Cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
FUM	Ácido fumárico
FQs	Fluoroquinolonas
FOR	Ácido fórmico
ENH	Electrodo normal de hidrógeno
EF	electro-Fenton
E _{coT}	Costo energético por Kg de COT
ECOSAR	Ecological Structure Activity Relationships
ECM	Eficiencia corriente de mineralización
COT	Carbón orgánico total
CL50	Concentración letal al 50%
CIP	Ciprofloxacino
CDA	Cátodo de difusión de aire
ACN	Acetonitrilo
ACC	Ácidos carboxílicos de cadena corta
%IB	Porcentaje de inhibición bacteriana

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Procesos Avanzados de Oxidación [35].....	5
Tabla 2. Resumen del mecanismo de la RRO	6
Tabla 3. Lista de los reactivos utilizados en el proceso de EF.....	28
Tabla 4. Lista de reactivos utilizados en el tratamiento biológico.....	29
Tabla 5. Lista de material y equipo utilizado en ambos procesos	30
Tabla 6. Factores y niveles del diseño Box-Behnken para la degradación de la mezcla de FQs mediante EF.....	33
Tabla 7. Condiciones en la degradación individual de las FQs para la identificación de intermediarios de degradación mediante LC-MS/MS.....	35
Tabla 8. Composición del medio de cultivo nitrato reductor.....	38
Tabla 9. Parámetros de separación del OFL, NOR y CIP.....	45
Tabla 10. Parámetros analíticos de las curvas de calibración del OFL, NOR y CIP	46
Tabla 11. Resumen de la producción de H ₂ O ₂ por los CDA de tela de grafito.....	48
Tabla 12. Matriz de experimentos del diseño Box-Behnken para la optimización de la degradación y mineralización de OFL, NOR y CIP mediante EF.	53
Tabla 13. ANOVA para modelo cuadrático de la respuesta 1: k_{app} OFL	54
Tabla 14. ANOVA para modelo cuadrático de la respuesta 2: k_{app} NOR	55
Tabla 15. ANOVA para modelo cuadrático de la respuesta 3: k_{app} CIP	55
Tabla 16. ANOVA para modelo cuadrático de la respuesta 4: %COT	56
Tabla 17. Balance total por molécula mineralizada.....	74
Tabla 18. Caracterización física de la piedra volcánica tezontle.....	80
Tabla 19. Caracterización de los reactores de lecho empacado.....	83
Tabla 20. Monitoreo de los parámetros ambientales antes y después de la aclimatación con CIP.....	84
Tabla 21. Condiciones del reactor de lecho empacado RE-1 en la biodegradación del CIP.....	87
Tabla 22. Condiciones del reactor de lecho empacado RE-1 en la biodegradación del OFL.	90
Tabla 23. Condiciones del reactor de lecho empacado RE-1 en la biodegradación del NOR.....	93
Tabla 24. Masa celular por segmento del reactor y su relación con el área superficial.	100
Tabla 25. Condiciones de la remoción biológica de la mezcla de FQs en reactor biológico RE-1 a un TRH = 1.5 h.....	104
Tabla 26. Constantes de saturación de Monod para la mezcla de FQs.....	107
Tabla 27. Parámetros ambientales reportados en el tren de tratamiento EF/RE-2	123
Tabla 28. Parámetros obtenidos de la curva de calibración del H ₂ O ₂	141

Tabla 29. Parámetros analíticos obtenidos en las curvas de calibración del OFL, NOR y CIP.....	142
Tabla 30. Parámetros analíticos obtenidos de las curvas de calibración de los ácidos carboxílicos	144
Tabla 31. Parámetros analíticos obtenidos de las curvas de calibración de los aniones NO_3^- y F^-	146
Tabla 32. Condiciones cromatográficas para la detección de las FQs mediante LC-MS/MS.	146

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Estructura química del a) ofloxacino, b) norfloxacino y c) ciprofloxacino. ...	4
Fig. 2. Crecimiento típico de poblaciones bacterianas en sistema discontinuo. Basado en Shuler Michael L. y Kargi Fikret. Bioprocess Engineering Basic Concepts (pp. 155-200) Prentice Hall PTR.	11
Fig. 3. Transporte del sustrato limitante a través de la biopelícula soportada en partículas esféricas. (Reproducido y modificado de Warnock et al., Bioreactors for Tissue Engineering: Principles, Design and Operation, Springer Netherlands, Dordrecht.....)	16
Fig. 4. Componentes del sistema nitrato reducción en bacterias desnitrificantes ubicado en membrana plasmática y periplasma. (Reproducido y modificado de Zunft, W.G., 1997. Cell biology and molecular basis of denitrification. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61 (4),.....)	21
Fig. 5. Configuración de la celda electroquímica.	32
Fig. 6. Configuración esquemática de los reactores de lecho empacado.	37
Fig. 7. Determinación del grosor de biopelícula y la masa celular volátil por segmento en el RE-1.....	40
Fig. 8. Cromatograma de OFL, NOR y CIP en columna C18; fase móvil 30 mmol L ⁻¹ KH ₂ PO ₄ : ACN: THF (86:10:4 v/v) a $\lambda = 275$ y 290 nm. Flujo 1 mL min ⁻¹	45
Fig. 9. a) Producción de H ₂ O ₂ por los CDA y b) eficiencia corriente en la producción de H ₂ O ₂ ; en 0.05 mol L ⁻¹ Na ₂ SO ₄ , pH 3, j = 83.3, 166.6 y 250 mA cm ⁻²	47
Fig. 10. Prueba de adsorción de OFL, NOR y CIP (30 mg L ⁻¹) en la tela de carbón utilizando el CDA; en 0.05 mol L ⁻¹ Na ₂ SO ₄ a pH 3.....	50
Fig. 11. Degradación de OFL, NOR y CIP (30 mg L ⁻¹ c/u) mediante OA-H ₂ O ₂ ; en 0.05 mol L ⁻¹ Na ₂ SO ₄ pH 3, aplicando j = 83.3 mA cm ⁻² . Inserto: cinética de pseudo primer orden del OFL, NOR y CIP, mismas condiciones.	50
Fig. 12. Degradación de OFL, NOR y CIP (30 mg L ⁻¹ c/u) mediante EF; en 0.05 mol L ⁻¹ Na ₂ SO ₄ pH 3, [Fe ²⁺] = 0.3 mmol L ⁻¹ , aplicando j = 83.3 mA cm ⁻² , . Inserto: cinética de pseudo primer orden del OFL, NOR y CIP, mismas condiciones.....	51
Fig. 13. Valores predichos vs actuales de las respuestas a) k _{app} OFL, b) k _{app} NOR, c) k _{app} CIP y d) %COT de la mezcla FQs.	57
Fig. 14. Superficie de respuesta para a) k _{app} OFL, b) k _{app} NOR, c) k _{app} CIP y d) %COT de la mezcla FQs.....	60
Fig. 15. a) Mineralización de la mezcla de FQs mediante EF, b) eficiencia de corriente de mineralización (%ECM), c) costo energético por kg de COT (ECOT) y d) ensayos de toxicidad con <i>V. fisheri</i> expresado como inhibición de la bioluminiscencia (%IB).	64
Fig. 16. Mecanismo de degradación del NOR (1000 ng L ⁻¹) mediante EF, seguido por LC-MS/MS. [Fe ²⁺] = 0.05 mmol L ⁻¹ , j =83.3 mA cm ⁻² ; en 0.005 mol L ⁻¹ de Na ₂ SO ₄ pH 3.....	66

Fig. 17. Mecanismo de degradación del CIP (1000 ng L ⁻¹) mediante EF, seguido por LC-MS/MS. [Fe ²⁺] = 0.05 mmol L ⁻¹ , j =83.3 mA cm ⁻² ; en 0.005 mol L ⁻¹ de Na ₂ SO ₄ pH 3.....	68
Fig. 18. Mecanismo de degradación del OFL (1000 ng L ⁻¹) mediante EF, seguido por LC-MS/MS. [Fe ²⁺] = 0.05 mmol L ⁻¹ , j =83.3 mA cm ⁻² ; en 0.005 mol L ⁻¹ de Na ₂ SO ₄ pH 3.....	70
Fig. 19. Evolución en el tiempo de a) ácido oxálico, maleico, oxámico, fórmico y fumárico, y b) iones F ⁻ y NO ₃ ⁻ ; provenientes de las moléculas de OFL, NOR y CIP en el proceso de mineralización mediante EF, bajo condiciones óptimas: [FQs] = 87.0 mg L ⁻¹ , [Fe ²⁺] = 0.31 mmol L ⁻¹ , j = 244.7 mA cm ⁻² ; en 0.05 mol L ⁻¹ de Na ₂ SO ₄ pH 3.....	75
Fig. 20. Estructura química de los ácidos a) OXL (C ₂ H ₂ O ₄), b) MAL(C ₄ H ₄ O) c) OXM (C ₂ H ₃ NO ₃), d) FOR (CH ₂ O ₂) y d) FUM (C ₄ H ₄ O ₄).....	76
Fig. 21. Prueba de inhibición con 1,4-benzoquinona para el radical O ₂ • – en la degradación de OFL, NOR y CIP en mezcla (87.0mg L ⁻¹) mediante EF, bajo condiciones óptimas: [Fe ²⁺] = 0.31 mmol L ⁻¹ , j = 244.7 mA cm ⁻² ; en 0.05 mol L ⁻¹ a pH 3. Inserto: degradación de OFL, NOR, y CIP mediante EF sin inhibición, mismas condiciones.	77
Fig. 22. Prueba de inhibición con ter-butanol (5%) para la inhibición del radical •OH en la degradación de OFL, NOR y CIP en mezcla (87.0 mg L ⁻¹) mediante EF, bajo condiciones óptimas: [Fe ²⁺] = 0.31 mmol L ⁻¹ , j = 244.7 mA cm ⁻² ; en 0.05 mol L ⁻¹ a pH 3. Inserto: degradación de OFL, NOR, y CIP mediante OA-H ₂ O ₂ sin inhibición, mismas condiciones.	78
Fig. 23. Isoterma de adsorción y desorción con N ₂ a 77K para la caracterización textural de la piedra tezontle. Inserto: distribución del tamaño de poro.....	82
Fig. 24. Reactores biológicos de lecho empacado: a) Reactor de referencia (RE-0), b) reactor de acoplamiento de procesos (RE-2), y c) reactor de degradación biológica (RE-1).....	83
Fig. 25. Cinética bifásica de primer orden de la degradación biológica del ciprofloxacino en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.....	87
Fig. 26. Monitoreo de a) OD y b) POR, en función de la concentración del CIP en el RE-1. TRH = 1.15 h.	89
Fig. 27. Cinética bifásica de primer orden de la degradación biológica del ofloxacino en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.	89
Fig. 28. Monitoreo de a) OD y b) POR, en función de la concentración del OFL el RE-1. TRH = 1.15 h.....	91
Fig. 29. Cinética bifásica de primer orden de la degradación biológica del norfloxacino en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.	92
Fig. 30. Monitoreo de a) OD y b) POR, en función de la concentración del OFL el RE-1. TRH = 1.15 h.....	94
Fig. 31. Cinética bifásica de primer orden de la degradación biológica de norfloxacino, ofloxacino y ciprofloxacino en mezcla (1:1:1) a diferentes concentraciones en el influente de a) 5 mg L ⁻¹ ; b) 15 mg L ⁻¹ ; c) 30 mg L ⁻¹ ; d) 50 mg	

L ⁻¹ ; e) 70 mg L ⁻¹ ; y f) 90 mg L ⁻¹ en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.	96
Fig. 32. Modelo cinético de Arvin para las seis concentraciones en el influente de la degradación biológica de norfloxacin, ofloxacin y ciprofloxacino en mezcla (1:1:1) a diferentes concentraciones en el influente de a) 5 mg L ⁻¹ ; b) 15 mg L ⁻¹ ; c) 30 mg L ⁻¹ ; d) 50 mg L ⁻¹ ; e) 70 mg L ⁻¹ ; y f) 90 mg L ⁻¹ en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.	102
Fig. 33. Modelo cinético de máxima utilización del sustrato por la biopelícula (TMU) de la degradación biológica de norfloxacin, ofloxacin y ciprofloxacino en mezcla (1:1:1) a diferentes concentraciones en el influente de a) 5 mg L ⁻¹ ; b) 15 mg L ⁻¹ ; c) 30 mg L ⁻¹ ; d) 50 mg L ⁻¹ ; e) 70 mg L ⁻¹ ; y f) 90 mg L ⁻¹ en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.	104
Fig. 34. Modelo cinético de Monod aplicado a la degradación biológica de la mezcla de FQs en RE-1, TRH = 1.15 h.	106
Fig. 35. Cinética abiótica en RE-0: a) TRH 1.15 h a diferentes concentraciones de CIP en el influente; b) TRH 250 h, flujo continuo; c) hidrólisis en batch con 4 mmol L ⁻¹ de HCl en 140 h.	109
Fig. 36. Modelo de adsorción de Thomas (1944), en RE-0, a TRH = 1.15 h.	109
Fig. 37. Modelo de adsorción de Adam y Bohart en RE-0, a TRH = 1.15 h.	111
Fig. 38. Modelo de adsorción de Yoon-Nelson (1984) en RE-0, a TRH = 1.15 h.	112
Fig. 39. Cromatograma de iones inorgánicos presentes en RE-1 posterior a cinética con 30 mg L ⁻¹ de la mezcla de FQs (1:1:1) en influente a TRH = 1.15 h. En columna de intercambio iónico; fase móvil de 4.5 mmol L ⁻¹ Na ₂ CO ₃ /0.8 mmol L ⁻¹ NaHCO ₂ , 1 mL min ⁻¹ , 25 mA, 35°C.	113
Fig. 40. Liberación de F ⁻ residual en RE-1 posterior a cinética de degradación con 30 mg L ⁻¹ de la mezcla FQs (1:1:1) a un TRH= 1.15 h.	114
Fig. 41. Degradación combinada de 30 mg L ⁻¹ (1:1:1) de mezcla de FQs, en reactor biológico RE-1 (primer tratamiento) y EF (segundo tratamiento). TRH = 1.5 h; [Fe ²⁺] = 0.31 mmol L ⁻¹ ; j = 250 mA cm ⁻² en 0.05 mol L ⁻¹ de Na ₂ SO ₄ a pH 3. Inserto: cinética de degradación en reactor biológico RE-1 de la mezcla de FQs (30 mg L ⁻¹) (1:1:1).	117
Fig. 42. a) Mineralización de 30 mg L ⁻¹ (1:1:1) de la mezcla de FQs en RE-1 (primer tratamiento) y EF (segundo tratamiento); b) Eficiencia corriente de mineralización (%MCE); y c) costo energético por kg de COT (ECOT). TRH = 1.5 h; [Fe ²⁺] = 0.31 mmol L ⁻¹ ; j = 250 mA cm ⁻² en 0.05 mol L ⁻¹ de Na ₂ SO ₄ a pH 3.	119
Fig. 43. Liberación de los ácidos, a) OXL, b) OXM, c) FOR, d) MAL e) FUM en la degradación de 30 mg L ⁻¹ (1:1:1) de la mezcla de FQs mediante el proceso combinado de EF (primer tratamiento) y tratamiento biológico en RE-2 (segundo tratamiento). [Fe ²⁺] = 0.31 mmol L ⁻¹ ; j = 250 mA cm ⁻² en 0.05 mol L ⁻¹ de Na ₂ SO ₄ a pH 3. TRH = 2.15 h.	122

Fig. 44. a) Mineralización de la mezcla de 30 mg L ⁻¹ (1:1:1) de FQs en EF (primer tratamiento); y b) en reactor biológico RE-2 (segundo tratamiento). [Fe ²⁺] = 0.31 mmol L ⁻¹ ; j = 250 mA cm ⁻² en 0.05 mol L ⁻¹ de Na ₂ SO ₄ a pH 3. TRH = 2.15 h.	125
Fig. 45. Espectro de absorción del H ₂ O ₂ a diferentes concentraciones.	139
Fig. 46. Espectros de absorción de OFL, CIP y NOR.	140
Fig. 47. Curva de calibración del H ₂ O ₂ , λ = 410 nm.	141
Fig. 48. Curvas de calibración de a) OFL, b) NOR y c) CIP. Fase móvil: K ₂ HPO ₄ :ACN:THF (90:5:5 v/v) a 1.0 mL min ⁻¹ , λ = 275 y 290 nm.	142
Fig. 49. Cromatograma de los ácidos oxálico, maleico, oxámico, fórmico y fumárico detectados mediante cromatografía de exclusión iónica, empleando fase móvil de 4 de mmol L ⁻¹ a 0.8 mL min ⁻¹ , λ = 210 nm.	143
Fig. 50. Curvas de calibración de los ácidos a) OXL, b) MAL, c) OXM, d) FOR y d) FUM. Fase móvil de 4 de mmol L ⁻¹ a 0.8 mL min ⁻¹ , λ = 210 nm.	144
Fig. 51. Curvas de calibración de los aniones a) NO ₃ – y b) F- en cromatografía de intercambio iónico. Fase móvil de 4.5 mmol L ⁻¹ Na ₂ CO ₃ /0.8 mmol L ⁻¹ NaHCO ₃ a un flujo de 1 mL min ⁻¹	145

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

Los contaminantes emergentes son sustancias de distinto origen que están presentes en los ecosistemas acuáticos en diferentes concentraciones (desde el orden de ng L^{-1} hasta $\mu\text{g L}^{-1}$) y cuya regulación aún no se ha implementado para la mayoría de ellos a nivel mundial [1]. Existen diferentes grupos o familias de estos contaminantes, como los disruptores endócrinos, herbicidas, plaguicidas, retardantes de flama y compuestos farmacéuticos, entre otros [2,3]. Dentro del grupo de los fármacos destacan los antibióticos, que son compuestos orgánicos producidos a partir del metabolismo secundario de los microorganismos o sintetizados artificialmente, y cuya función principal es el tratamiento de enfermedades infecciosas producidas por bacterias. La aplicación de estos compuestos no es únicamente de uso humano, ya que también se utilizan ampliamente en la ganadería y en la acuicultura; debido a esto, se estima que su consumo mundial ha crecido un 65 % entre los años 2000 y 2015.[4].

Las fluoroquinolonas (FQs) son una clase de antibióticos de amplio espectro, muy activos contra bacterias tanto grampositivas como gramnegativas. Actualmente, las FQs son una de las familias de antibióticos de mayor consumo humano, junto con los macrólidos y las penicilinas, por lo que es común encontrarlas en cuerpos de agua como ríos, lagos, aguas subterráneas y aguas residuales [4–8]. Las FQs que se han encontrado con mayor frecuencia son norfloxacin, ciprofloxacino, prulifloxacin y moxifloxacin, entre otras. Sin embargo, las más comunes, según estudios recientes, son ofloxacin, norfloxacin y ciprofloxacino [9,10]. Adicionalmente, se ha reportado que la presencia de estos antibióticos incide directamente en la biota acuática, provocando toxicidad a especies de interés ecológico como anuros, cianobacterias, microalgas y cladóceros [11–13].

Ante esta problemática ambiental, la biodegradación asistida por microorganismos podría considerarse un abordaje viable para su remoción, incluso cuando se trata de antibióticos. En dicho proceso, los microorganismos son capaces de utilizar estos

compuestos como única fuente de carbono y energía, o para cometabolismo, logrando así su transformación en moléculas más pequeñas mediante reacciones enzimáticas [14]. Actualmente, las bacterias son los agentes biológicos más utilizados para este tipo de procesos en el tratamiento del agua debido a las altas eficiencias en la remoción; sin embargo, es necesario optimizar variables como el pH, la temperatura de cultivo, la concentración del contaminante, la inoculación de la biomasa y el tiempo de incubación, entre otras [15]. Dichas variables pueden ser fácilmente controladas en escala de laboratorio mediante el uso de reactores biológicos.

Por su parte, la utilización de reactores biológicos de lecho empacado ha demostrado ser eficiente en la degradación de una amplia gama de contaminantes. Estas notables eficiencias de eliminación se alcanzan gracias a la formación de una biopelícula bacteriana sobre un soporte poroso. Esta biopelícula favorece la degradación de los contaminantes al promover el contacto y la difusión molecular a través de las capas de exopolisacáridos que la componen [16]. Por otro lado, las principales desventajas de estos tratamientos incluyen el transporte de materia y el tiempo prolongado necesario para la formación de la biopelícula, que puede variar entre 6 y 12 meses. Este proceso depende de la alimentación continua de las bacterias con un medio de cultivo enriquecido, lo que está relacionado con el tipo de consorcio bacteriano empleado, y resulta en el desarrollo eventual de una comunidad bacteriana [17]. Además de la formación de la biopelícula, la optimización de variables como concentración del contaminante, velocidad de flujo y tiempo de retención hidráulica (TRH), juegan un papel importante para lograr altas eficiencias de degradación [15].

Paralelamente, existen otros tratamientos alternativos para la degradación de las FQs y otros contaminantes emergentes, denominados Procesos Avanzados de Oxidación (PAO), que se basan en la generación de especies reactivas de oxígeno, como el radical $\cdot\text{OH}$ [18]. Esta especie debido a su alto poder oxidativo ($E^\circ = 2.80\text{V/ENH}$) es capaz de degradar la materia orgánica de manera efectiva, incluso de lograr altas eficiencias de mineralización [18,19]. Dentro de los PAO, destacan

los Procesos Electroquímicos Avanzados de Oxidación (PEAO), los cuales requieren reacciones de electrólisis para la generación de radicales $\cdot\text{OH}$ de manera directa o indirecta [20]. Los PEAO más comunes son la Oxidación anódica (OA), Electro-Fenton (EF) y Foto electro-Fenton (FEF), ampliamente usados por su simplicidad de manejo y bajo costo de operación [21]. Estos procesos son capaces de degradar una gran cantidad de compuestos orgánicos con altas velocidades de reacción [22,23]; sin embargo, su principal desventaja es el consumo de energía eléctrica, que se relaciona indirectamente con un incremento en el costo de operación. Adicionalmente, el proceso EF requiere tiempos relativamente prolongados de electrólisis para conseguir el 100% de mineralización de los compuestos (4-6 h), en tanto que la degradación se logra generalmente en tiempos menores a 1 h [24–26]. Como resultado de la degradación, se forman diversos compuestos de menor tamaño que, en muchos de los casos, presentan cierto grado de toxicidad. Esta toxicidad incluso puede ser mayor que la del compuesto original, la cual puede variar según los compuestos intermediarios que se hayan formado durante el proceso, y estos pueden ser potencialmente biodegradables [24]. Por otra parte, la combinación de EF como tratamiento primario, y un proceso biológico como secundario, puede ser viable para lograr la degradación efectiva de la materia orgánica (disminución de la toxicidad y posterior mineralización), disminuyendo el tiempo de electrólisis, permitiendo una mineralización parcial e incrementado su biodegradabilidad con el primer tratamiento [27–29].

Con base en este contexto, en este trabajo se propone la implementación de un pretratamiento electroquímico con Electro-Fenton previo a la aplicación de un tratamiento biológico en un reactor de lecho empacado para la mineralización de una mezcla de ofloxacino (OFL), norfloxacino (NOR) y ciprofloxacino (CIP). Las estructuras de cada compuesto se muestran en la Figura 1.

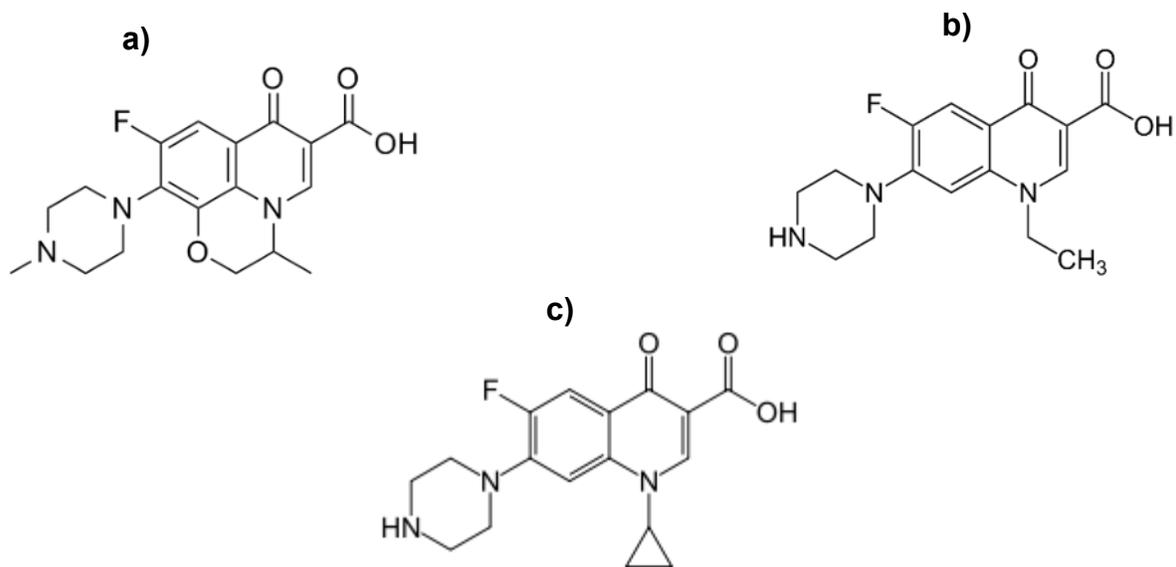


Fig. 1. Estructura química del a) ofloxacino, b) norfloxacino y c) ciprofloxacino.

1.1. Marco teórico

1.1.1. Procesos Avanzados de Oxidación

Los procesos avanzados de oxidación (PAO) son un conjunto de tecnologías aplicadas al tratamiento de aguas cuya principal característica es la generación de especies reactivas de oxígeno, entre las cuales se destaca el radical $\cdot\text{OH}$, que, como se mencionó en la sección anterior, tiene la capacidad de degradar y mineralizar la materia orgánica [30,31]. Los radicales $\cdot\text{OH}$ atacan a las moléculas orgánicas mediante el mecanismo de abstracción de hidrógeno o mediante la adición electrofílica que ocurre en los dobles enlaces de las moléculas orgánicas. De esta manera, se consigue la eventual remoción de la materia orgánica en aguas residuales antes de descargarla en cuerpos de agua superficiales [30,32].

Los PAO pueden llevarse a cabo tanto previa como posteriormente a los tratamientos biológicos dentro de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), ya que generalmente los procesos convencionales con tratamientos biológicos suelen ser ineficientes en casos puntuales cuando el agua de los influentes tratados presenta cierta recalcitrancia y/o toxicidad

[33]. Cuando en primera instancia se tiene conocimiento de que el influente presenta compuestos biocidas, los PAO se recomiendan como tratamiento primario, con el objetivo particular de reducir la toxicidad del influente y, de este modo, permitir un tratamiento biológico posterior. En cambio, cuando el influente no presenta riesgo de toxicidad, los PAO pueden emplearse como proceso secundario para completar la degradación de la materia orgánica recalcitrante [34]. Por otro lado, los PAO se dividen en dos grandes categorías con base en el requerimiento de energía luminosa para la generación de los radicales $\cdot\text{OH}$: a) procesos fotoquímicos y b) no fotoquímicos. En los procesos no fotoquímicos se incluyen una serie de reacciones térmicas, mecánicas o de electrólisis para la generación de los radicales $\cdot\text{OH}$, entre otras especies oxidantes, mientras que los fotoquímicos requieren la utilización de radiación [35].

En particular, los procesos que requieren la aplicación de energía eléctrica para llevar a cabo reacciones de electrólisis reciben el nombre de Procesos Electroquímicos Avanzados de Oxidación (PEAO). En ellos, categóricamente se agrupan los procesos de Electro-Fenton, Foto electro-Fenton y la oxidación electroquímica, de los cuales se abordarán en la siguiente sección. En la Tabla 1 se enlistan los principales PAO utilizados en el tratamiento del agua residual.

Tabla 1. Procesos Avanzados de Oxidación [35]

Procesos no fotoquímicos	Procesos fotoquímicos
Ozonificación en medio alcalino (O_3/OH^-)	Fotólisis del agua en el Ultravioleta de vacío (UVV)
Ozonificación con peróxido de hidrógeno ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$)	UV/ H_2O_2
Procesos Fenton y relacionados ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$)	Foto-Fenton y relacionados
Oxidación electroquímica	UV/ O_3
Radiólisis γ , tratamiento con haz de electrones	Ferrioxolato y otros complejos de Fe^{3+}
Plasma no térmico	UV/Peryodato
Descarga electrohidráulica - ultrasonido	Fotocatálisis heterogénea
Oxidación en agua sub- y supercrítica	

1.1.2. Procesos Electroquímicos Avanzados de Oxidación

Como su nombre lo indica, los PEAO son procesos que requieren reacciones de electrólisis para producir radicales $\cdot\text{OH}$, de los cuales se derivan EF, FEF y la oxidación anódica (OA). En el proceso de EF se involucra la reacción de reducción de oxígeno (RRO), en la cual, mediante la aplicación de un potencial ($E^\circ = +0.68$ V/EEH), el oxígeno es reducido parcialmente a H_2O_2 mediante la vía $2e^-$ en medio ácido. En dicho mecanismo, el oxígeno es adsorbido en la superficie del cátodo, provocando la ruptura del enlace O-O y, en consecuencia, generando H_2O_2 como producto final. Esta reacción se describe a continuación en la Ecuación 1.[36].



Cabe mencionar que la condición indispensable para lograr esta reacción de manera predominante es la utilización de electrodos elaborados con materiales de naturaleza carbonácea, tales como tela de carbono, carbón activado granular, grafito, carbón mesoporoso, carbón negro, entre otros. Estos materiales pueden ser sintetizados en el laboratorio a través de la pirólisis de moléculas orgánicas o bien adquiridos de manera comercial [37–39]. En cambio, la utilización de otros materiales, como electrodos metálicos, en las mismas condiciones de acidez generalmente conduce a la RRO completa (vía $4e^-$), la cual produce H_2O como producto final. Por otro lado, en condiciones alcalinas, la RRO genera iones OH^- como producto final, considerados no deseados en el proceso EF. En la Tabla 2 se resume el mecanismo de la RRO [40,41].

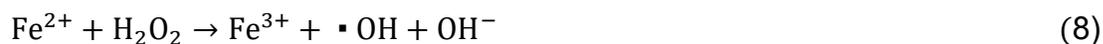
Tabla 2. Resumen del mecanismo de la RRO

pH	Vía	RRO	Potencial termodinámico en condiciones estándar (V)	Número de la ecuación correspondiente
Alcalino	$4 e^-$	$\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 4 e^- \rightarrow 4\text{OH}^-$	0.401	2

	2 e ⁻	$O_2 + H_2O + 2e^- \rightarrow HO_2^- + OH^-$	-0.065	3
		$O_2H^- + 2H_2O + 2e^- \rightarrow 3OH^-$	-0.867	4
Ácido	4 e ⁻	$O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O_2$	1.229	5
	2 e ⁻	$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2$	0.7	6
		$H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O$	1.76	7

1.1.2.1. Electro-Fenton

El poder oxidante del H₂O₂ se intensifica tras la adición de una pequeña cantidad de Fe²⁺ generalmente ≤0.5 mmol L⁻¹ en un pH entre 2.8 y 3. Esta reacción produce un radical [•]OH y es la segunda reacción involucrada en EF, después de la RRO (Ecuación 1) conocida como Fenton clásico [42,43] , y se describe como sigue en la Ecuación 8:



El proceso de EF ofrece ciertas ventajas sobre el Fenton clásico: I) el H₂O₂ es generado electroquímicamente, evitando riesgos derivados de su transporte y almacenamiento; II) solo una pequeña cantidad de Fe²⁺ o Fe³⁺ es necesaria debido a la continua regeneración del Fe²⁺ a partir de la reducción del Fe³⁺ en el cátodo, manteniendo la producción de los radicales [•]OH [44]. Esta reacción describe en la Ecuación 9:



III) no se necesita un ajuste en la relación estequiométrica del H₂O₂/Fe²⁺, a diferencia del Fenton clásico [49]. Esto conlleva a una menor acumulación de lodo de hidróxido de hierro debido a la regeneración del Fe²⁺, de acuerdo con la reacción de Fenton-like descrita en la Ecuación 10:



Esta última reacción se da de manera simultánea con la reacción de EF (Ecuación 8) y es considerada indeseada debido a que la especie $\cdot\text{OOH}$ ($E^\circ = + 1.0 \text{ V/ EEH}$) producto de la reacción ejerce menor poder oxidativo que el $\cdot\text{OH}$ ($E^\circ = + 2.8 \text{ V/ EEH}$) [45–47].

1.1.2.2. Oxidación Anódica

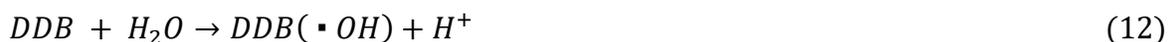
La OA consiste en la descarga del agua en el ánodo, generando radicales fisisorbidos en la superficie del electrodo $M(\cdot\text{OH})$, de acuerdo con la Ecuación 11. La promoción de estos radicales se da por la ventana de potencial del electrodo, cuando se sobrepasa el potencial de oxidación del agua. Sin embargo, esta especie puede presentarse como fisisorbida o quimiosorbida, según las características del electrodo [48].



Estas condiciones se presentan en función del potencial de evolución de oxígeno (PEO), atribuido principalmente a la capa que compone el electrodo. Aquellos electrodos que presentan un bajo PEO se consideran electrodos activos, tales como Pt, RuO_2 , IrO_2 y grafito [49–51]. En estos casos, la oxidación del agua produce mayoritariamente el desprendimiento de O_2 , lo que los hace capaces de degradar la materia orgánica, pero no de completar su mineralización, debido a la producción de radicales $M(\cdot\text{OH})$ quimiosorbidos en la superficie del electrodo; una condición que reduce el contacto con la materia orgánica. [50]. No obstante, en los electrodos no activos, como PbO_2 , SnO_2 y diamante dopado con boro (DDB), sí se presenta el mecanismo mencionado en la Ecuación 11; por lo tanto, mejoran la eficiencia de degradación, además de lograr la mineralización completa de los contaminantes. [52–54]. Esto se debe principalmente a su alto PEO que le provee las condiciones para generar el radical $M(\cdot\text{OH})$ en mayor cantidad y de mayor accesibilidad al presentarse fisisorbidos en la superficie [52].

El electrodo más destacado en la degradación de contaminantes es el DDB, ya que posee características importantes propias del diamante, como dureza, resistencia mecánica y a la corrosión; mientras que el dopaje con boro le confiere alta

conductividad (4.0 S cm^{-1}) [55]. Comúnmente se acopla este ánodo a las reacciones de EF y FEF para completar la eficiencia degradativa del sistema electroquímico [56–59]. La reacción de la oxidación de agua con el electrodo DDB se muestra en la Ecuación 12:



Es importante mencionar que en este proyecto se utilizó como cátodo un electrodo de difusión de aire (CDA) de tela de carbón, en el cual se mantiene constante un suministro de aire como fuente de oxígeno y cuyo objetivo es llevar a cabo la RRO (Ecuación 1). La aireación constante y la difusión del aire a través del material carbonáceo permiten encontrar sitios activos, mejorando el transporte del O_2 y logrando una mayor producción de H_2O_2 . Por esta razón, los CDA han sido ampliamente utilizados en los procesos EF y FEF, además de su bajo costo de adquisición y elaboración [60–63].

Aquí tienes el texto corregido:

Tal y como se abordó al inicio de esta sección, los PEAO se aplican como tratamientos alternos en el tratamiento de aguas residuales, generalmente como tratamientos posteriores al tratamiento biológico. Recientemente, han sido más implementados a escala de laboratorio, como se detalla en la sección de antecedentes (*ver sección 1.2*). Sin embargo, no se desconoce su aplicación en casos reales debido a su alta eficiencia y fácil operación. En este trabajo también se abordará a nivel de laboratorio, con la expectativa de que los resultados puedan extrapolarse a nivel piloto o para su aplicación industrial, en el contexto del proceso combinado entre electroquímico (EF) y el proceso biológico.

1.1.3. Procesos biológicos

En este tipo de procesos se involucran agentes biológicos para llevar a cabo la degradación de contaminantes orgánicos (biodegradación), generalmente

microorganismos como bacterias, hongos y levaduras [64–66]. En el tratamiento de aguas convencionales, las bacterias son los microorganismos más utilizados debido a su rápida aclimatación a condiciones adversas [64]. En este proceso, la materia orgánica presente en el medio (sustrato) puede ser utilizada como fuente de energía o para la biosíntesis, la formación de productos celulares y el incremento de la masa celular [67–69], como se describe en la Ecuación 13:

sustrato + células → productos extracelulares + más células



El crecimiento celular está determinado por la concentración de células, siendo la reproducción el objetivo final de la reacción con los contaminantes tratados en los influentes. La tasa de crecimiento microbiano se puede expresar de la siguiente manera en las Ecuaciones 14a y 14b:

$$\mu_{net} = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (14a)$$

$$\mu_{net} = \mu_g - K_d \quad (14b)$$

Donde X es la concentración de masa celular (biomasa) (g L^{-1}), t es el tiempo (h), μ_{net} corresponde a la tasa de crecimiento específico (h^{-1}), que se define como la diferencia entre la tasa de crecimiento bruto, μ_g (h^{-1}) y la tasa de pérdida de biomasa debido a la muerte celular, K_d (h^{-1}), o también llamada metabolismo endógeno. Esto puede ser aplicado en escala experimental utilizando reactores biológicos. El tipo de reactor más común es el reactor tipo batch o discontinuo, que consiste en un reservorio con agitación y alimentación constante durante un tiempo determinado.

1.1.3.1. Sistemas discontinuos

En este tipo de reactores un medio de cultivo es suministrado como fuente de carbono para la generación de biomasa. El crecimiento bacteriano en batch incluye las siguientes fases: 1) fase *lag*, 2) fase logarítmica o exponencial, 3) fase de

desaceleración, 4) fase estacionaria, y 5) fase de muerte. La Figura 2 muestra el ciclo de crecimiento en batch.

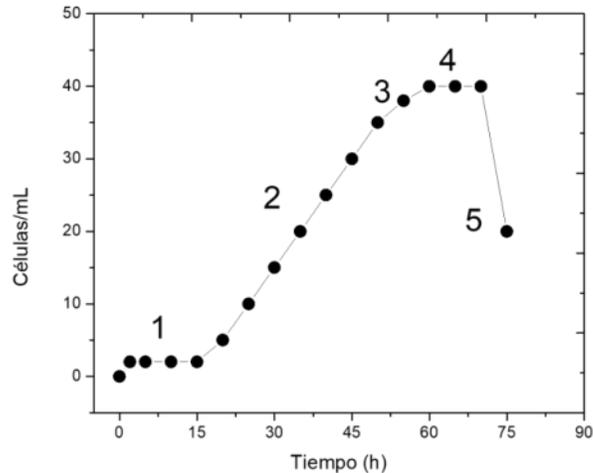


Fig. 2. Crecimiento típico de poblaciones bacterianas en sistema discontinuo. Basado en Shuler Michael L. y Kargi Fikret. *Bioprocess Engineering Basic Concepts* (pp. 155-200) Prentice Hall PTR.

En la fase lag (1) se da comienzo a la asimilación de los nutrientes; dicha fase puede ser tan lenta o rápida dependiendo de la complejidad del medio suministrado. En esta fase, comienza la liberación de diversas enzimas, tales como lacasas, lipasas, citocromo P450, hidrolasas, peroxidasas, deshalogenasas, deshidrolasas, proteasas, entre otras [70,71], las cuales son capaces de desdoblar la materia orgánica a través de mecanismos de degradación que incluyen reacciones de oxidación, reducción, eliminación, ruptura de anillos, entre otras [71].

La fase exponencial (2) es donde tiene lugar la adaptación celular y, por ende, la degradación de la materia orgánica. En esta fase, las células comienzan a crecer rápidamente y la densidad celular se incrementa exponencialmente. También es conocida como la fase de crecimiento balanceado, ya que todos los componentes involucrados en el crecimiento celular se encuentran en la misma tasa de crecimiento. [72].

Acto seguido, tiene lugar la fase de desaceleración (3), donde la disminución de ciertos nutrientes esenciales, incluyendo materia orgánica, y la acumulación de subproductos tóxicos producen la desaceleración en la tasa de crecimiento [73].

La fase estacionaria (4) inicia al final de la fase de desaceleración, cuando el crecimiento neto es cero; es decir, la tasa de crecimiento es igual a la tasa de muerte celular. En esta zona, la multiplicación celular es inversamente proporcional a la concentración de sustrato, lo que conlleva a una disminución total de la degradación de la materia orgánica remanente. Durante la fase estacionaria, el metabolismo celular se mantiene activo, fabricando monómeros para la obtención de energía; a esto se le conoce como metabolismo endógeno [74,75].

Adicionalmente, la célula se ve forzada a mantener una membrana celular energizada que permita el transporte de nutrientes esenciales, así como el mantenimiento de la motilidad y la reparación de componentes celulares[76]. A esto se le conoce como energía de manutención, y se expresa como sigue en la Ecuación 15:

$$\frac{dX}{dt} = -k_d X \quad \text{ó} \quad X = X_{SO} e^{-k_d t} \quad (15)$$

Donde k_d , es una constante de primer orden que corresponde al metabolismo endógeno, y X_{SO} , es la concentración celular al inicio de la fase estacionaria.

La última fase corresponde a la fase de muerte (5) o fase de declinación, que comienza justo después de la fase estacionaria. Aquí tiene lugar la muerte celular por la acumulación de subproductos tóxicos o por la baja disponibilidad de nutrientes esenciales [76].

1.1.3.2. Sistemas continuos

Los sistemas continuos son una serie de técnicas utilizadas para mantener los cultivos celulares en la tasa submáxima de crecimiento (estado estacionario) por un tiempo prolongado. En esta etapa, como se mencionó en la sección anterior, todas

las condiciones del cultivo se mantienen constantes [77]. Los microorganismos inoculados crecerán a la velocidad que las condiciones les permitan. Durante el crecimiento, las condiciones ambientales tienden a cambiar, pero se mantendrán siempre y cuando la concentración del sustrato esencial sea utilizada. Esto tiene lugar cuando los demás nutrientes presentes se encuentran en exceso, excepto uno, y a este último se le conoce como *sustrato limitante* [78]. La tasa de crecimiento específico depende de la concentración del sustrato limitante de acuerdo con la ecuación de Monod (1949) [79]:

$$\mu = \mu_{max} \frac{C_s}{K_s + C_s} \quad (16)$$

Donde μ es el crecimiento específico, μ_{max} es la tasa de crecimiento máximo específica, C_s corresponde a la concentración del sustrato limitante, y K_s es la constante de saturación de Monod que es numéricamente igual a la concentración del sustrato cuando $\mu = \mu_{max}$.

Además de mantener el estado estacionario, una de las ventajas importantes de los sistemas continuos, a diferencia de los *batch*, es que se pueden controlar fácilmente parámetros como el pH, la temperatura, el oxígeno, la concentración de los productos de excreción y la densidad de la población [80,81]. Existen varios tipos de sistemas continuos (p. ej., quimiostatos, turbidostatos, auxostatos, entre otros), siendo el quimiostato el más utilizado y el representativo para este proyecto [82,83].

El quimiostato es un sistema abierto en el cual un medio de cultivo, cuya composición es esencialmente fuentes orgánicas fácilmente asimilable, es introducido a un reservorio a un flujo constante definido como ϕ , en donde el fluido del cultivo emerge a la misma tasa de flujo [83]. Con un flujo y volumen constantes V , la tasa de dilución D en el quimiostato se expresa como sigue:

$$D = \frac{\phi}{V} \quad (17)$$

En este proyecto la tasa de dilución se expresará como tiempo de retención hidráulica (TRH), expresado en horas (h).

El medio de cultivo suministrado contiene todos los nutrientes esenciales en exceso, salvo uno que corresponde al sustrato limitante mencionado anteriormente [84]. Adicionalmente, el medio de cultivo se suministra aplicando un volumen y flujo definidos para mantener a la población en el estado estacionario. La implementación de los quimiostatos generalmente se aplica tanto a escala industrial como a escala de laboratorio, como en los reactores biológicos para evaluar la degradación de contaminantes orgánicos como sustrato limitante [80,85–87].

1.1.3.3. Reactores biológicos

1.1.3.3.1. Reactores de lecho empacado

Un ejemplo de quimiostatos son los reactores biológicos, que consisten en reservorios con diferentes arreglos para mantener el crecimiento celular con diversos fines biotecnológicos. Generalmente, los biorreactores se implementan para la producción de productos a través del proceso de fermentación [88,89] y para el tratamiento de aguas residuales y domésticas [90–92], ya sea *in situ* o *ex situ*.

A nivel de laboratorio, los reactores de lecho empacado (RLE) han sido implementados para la remoción de contaminantes con gran eficiencia, debido a la inmovilización celular [33,65,93]. Para conseguir dicha inmovilización, estos reactores consisten en columnas que contienen en su interior un empaque, el cual se utiliza como soporte microbiano. Este empaque puede estar hecho de esferas o piedras porosas. Estas estructuras porosas o macroporosas, además de garantizar la protección celular, le confieren una gran área superficial para permitir el anclaje celular en la superficie porosa, formándose así la biopelícula. La biopelícula es un tapiz complejo y sólido formado por una red de exopolisacáridos adheridos a una superficie, cuya formación en el soporte confirma la adaptación microbiana a las condiciones ambientales [88].

Los RLE mantienen el suministro de un medio de cultivo a un flujo y volumen constantes, como se mostró anteriormente en la Ecuación 17. Dichos parámetros,

así como la composición del medio mineral, son definidos previamente por el operador. Al constante suministro del medio a través del reactor se le denomina influente. Por otro lado, la salida del medio desemboca en un reservorio final conocido como efluente. El influente está constituido por el medio de cultivo, cuya composición es una mezcla de micro y macronutrientes a una temperatura determinada, con un pH cercano a la neutralidad, que varía entre 6 y 8.

Además, el efluente es un desecho de fluido microbiano que puede ser reutilizado o desechado.

La principal desventaja de los RLE son las limitaciones en el transporte de masa, ya que este fenómeno involucra tanto el transporte de nutrientes como el transporte de oxígeno en sistemas aeróbicos. Según el módulo de Thiele (1939) [94], el tamaño requerido deberá ser infinitamente pequeño para lograr una difusión cercana a 1 ($\eta \sim 1$). Sin embargo, en este tipo de reactores biológicos no es posible determinar un tamaño óptimo cercano a la unidad, ya que este depende del tipo de microorganismo predominante. Además, al tratarse de un sistema continuo, la microbiota presente en el RLE es totalmente heterogénea. [94,95] .

La degradación comienza cuando el sustrato limitante presente en medio de cultivo se difunde a través de la biopelícula que corresponde a las células inmovilizadas en la matriz porosa mediante un gradiente de concentración. A partir de ahí el sustrato limitante es consumido y comienza la liberación de metabolitos o productos de degradación que eventualmente son liberados al líquido circundante. Este fenómeno se muestra en la Figura 3.

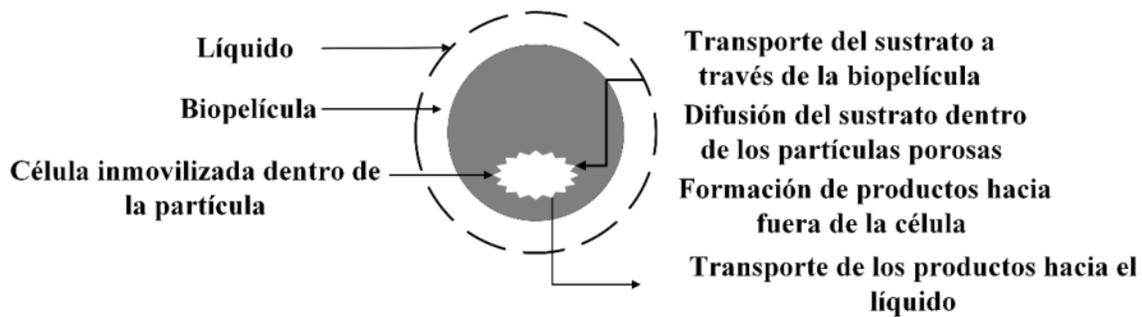


Fig. 3. Transporte del sustrato limitante a través de la biopelícula soportada en partículas esféricas. (Reproducido y modificado de Warnock et al., *Bioreactors for Tissue Engineering: Principles, Design and Operation*, Springer Netherlands, Dordrecht.

Los subproductos generados pueden ser productos extracelulares o subproductos de degradación del sustrato limitante, como CO₂, agua, ácidos orgánicos y sales minerales. Sin embargo, se requieren técnicas sofisticadas para la identificación y evaluación de estos productos de degradación. La degradación del sustrato limitante en este tipo de reactores puede ser evaluada mediante modelos cinéticos que relacionan la disminución en la concentración del sustrato con el grosor de la biopelícula. Uno de estos modelos es el modelo cinético de Arvin (1991) [96] permite evaluar los aumentos en las tasas de remoción del sustrato en función del aumento de la concentración como se describe en la Ecuación 18.

$$S_e = \frac{S_i}{[1+(K\frac{A}{Q})]} \quad (18)$$

Donde S_e , es igual a la concentración del sustrato en el efluente (mg L⁻¹); S_i , es igual a la concentración del sustrato en el influente (mg L⁻¹); A , es igual al área superficial de contacto del RLE (cm²); Q corresponde al caudal del flujo (cm³ min⁻¹) y K equivale a la constante global de biodegradación de primer orden. La constante de velocidad global de degradación de primer orden se relaciona con las constantes cinéticas intrínsecas dentro de la biopelícula, expresado de la siguiente manera en la Ecuación 19:

$$K = [k_x/K_s]X_f L \varepsilon \quad (19)$$

Donde k_x , representa la tasa de utilización máxima del sustrato limitante (g de sustrato/g de células); K_s , es la constante de Monod (g cm⁻³); X_f , es la biomasa activa en la biopelícula (g cm⁻³); L , es el grosor de la biopelícula (cm) y ε , es igual al factor de eficiencia.

El factor de eficiencia representa la relación entre la tasa de reacción por difusión y la tasa de reacción en el caudal del flujo, como se muestra en la Ecuación 20.

$$\varepsilon = \frac{\tan \alpha}{\alpha} \quad y \quad \alpha = \sqrt{\frac{(K)(L)}{(\varepsilon)(D)}} \quad (20)$$

Donde D corresponde al coeficiente de difusión del sustrato en la biopelícula.

1.1.3.4. Parámetros ambientales

Para la formación y mantenimiento de la biopelícula es necesario controlar parámetros como temperatura, pH, potencial óxido reducción, oxígeno disuelto [17,97]. Un factor importante involucrado en el crecimiento microbiano es la temperatura, ya que afecta el desempeño celular. Los microorganismos pueden clasificarse en tres diferentes grupos de acuerdo con su temperatura óptima: 1) psicrófilos ($T_{opt} = < 20^\circ\text{C}$), 2) mesófilos ($T_{opt} = \text{de } 20 \text{ a } 50^\circ\text{C}$), y termófilos ($T_{opt} = > 50^\circ\text{C}$). Cuando la temperatura sobrepasa el rango óptimo se produce una disminución en el crecimiento y posteriormente la muerte térmica [98].

El pH juega un papel importante en la actividad enzimática y por ende en el crecimiento de los microorganismos; en el caso de las bacterias el pH óptimo es de 3 a 8 [99]. El pH juega un papel importante en la actividad enzimática y, por ende, en el crecimiento de los microorganismos, aunque dependerá del tipo específico. Una gran cantidad de microorganismos son considerados neutrófilos, ya que su pH óptimo para el crecimiento se encuentra entre 5 y 8. Generalmente, los procesos biológicos para la remoción de contaminantes utilizan este tipo de microorganismos debido a su alta disponibilidad y al bajo coste que implica mantener valores cercanos a la neutralidad.

El Potencial de Oxidación-Reducción (POR) se utiliza para medir la cantidad de diversas reacciones óxido-reducción, las cuales dependen del pH, OD y de otras fuentes de iones presentes. La medición de este parámetro es un indicador directo de la respiración bacteriana y de su actividad en el RLE. En otras palabras, evaluar el POR permite confirmar el crecimiento de los microorganismos en la biopelícula del RLE. [100].

El oxígeno disuelto (OD) es un parámetro importante, especialmente en sistemas con condiciones aerobias, donde el oxígeno puede convertirse en un sustrato limitante cuando la tasa de absorción por parte de los microorganismos supera la tasa de suministro proporcionada mediante la aireación continua. En contraste, los sistemas con condiciones anaerobias no dependen del oxígeno suministrado, lo que permite que el crecimiento microbiano se lleve a cabo de manera independiente. Esta característica representa una ventaja significativa debido a la baja solubilidad del oxígeno en el agua [101]. En sistemas anaerobios facultativos, como es el caso de este proyecto, el oxígeno suele no interferir en el proceso; sin embargo, es necesario mantenerse controlado realizando mediciones frecuentes[101].

1.1.3.5. Respiración celular bacteriana

El mecanismo de la respiración celular se lleva a cabo a través de una serie de reacciones bioquímicas que derivan en el transporte de electrones con el objetivo principal de generar energía. En células bacterianas, los electrones viajan a través de una cadena de transportadores que tiene lugar en la membrana plasmática [102].

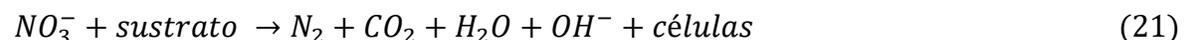
Además de la fuente de carbono, las bacterias utilizan al sustrato limitante como fuente de electrones, siendo este el segundo objetivo de la degradación. El suministro de oxígeno depende directamente del tipo de respiración del microorganismo; ya sean de tipo aerobia, o anaerobia. En la respiración aerobia el oxígeno es el último aceptor de electrones y es requerido de manera obligada para la supervivencia bacteriana en los microorganismos aerobios obligados [103]. Por el contrario, cuando las bacterias crecen en ausencia de oxígeno, utilizando

aceptores de electrones alternos como SO_4^{2-} , NO_3^- , CO_2 , NO_2^- , o fumarato, se le conoce como respiración anaerobia [15,86,104]. Adicionalmente, existe la respiración facultativa, en donde las bacterias pueden crecer en presencia o en ausencia de oxígeno molecular. Cuando el oxígeno molecular está presente, se mantiene como último aceptor de electrones; mientras que, cuando las concentraciones de oxígeno son bajas, las bacterias terminan por ajustar su metabolismo para realizar una respiración anaerobia. Algunas bacterias que respiran mediante esta vía son: *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Lactococcus lactis*, *Pseudomonas aeruginosa*, entre muchas otras [105].

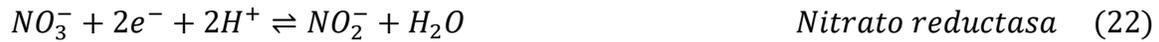
1.3.5.1. Respiración por nitrato reducción

Como se mencionó anteriormente, las bacterias pueden ajustar su metabolismo para cambiar su respiración vía oxígeno por vía nitrógeno, cuando la concentración de oxígeno es baja en el ambiente. A este proceso se le conoce como *desnitrificación* [106]. La desnitrificación consiste en la reducción del nitrato (NO_3^-) o nitrito (NO_2^-) a nitrógeno N_2 ; en otras palabras, ambas especies funcionan como aceptores de electrones. No obstante, cuando el nitrato es la especie receptora de electrones, se añade el término específico de *nitrato reducción*[107] .

La disponibilidad de materia orgánica es otro factor crucial para la ejecución del proceso, ya que constituye la fuente principal de energía para la generación de nuevas células. La reacción global del crecimiento celular a través de la reducción del nitrato se describe en la Ecuación 21:



Específicamente, el proceso comienza con la reducción del NO_3^- a nitrito NO_2^- , (NO), y N_2 (gas). Cada reacción individual con las enzimas participantes se describe en las Ecuaciones 22-25:



El proceso completo se muestra en la Figura 4, donde se muestran todos los componentes bioquímicos de la reacción nitrato reducción en bacterias desnitrificantes. El primer paso corresponde a la reducción de NO_3^- a NO_2^- por medio de la biocatálisis de la enzima nitrato reductasa (NAR) que se encuentra unida a la membrana plasmática. Eventualmente, el NO_2^- viaja a través del canal aniónico (AP) hacia el periplasma y es reducido a NO por la enzima nitrito reductasa (NIR). La última etapa tiene lugar en el periplasma: el NO es reducido a N_2O , y posteriormente a N_2 . Estos dos pasos están mediados por las enzimas óxido nítrico reductasa (NOR) y óxido nitroso reductasa (N_2OR), respectivamente. Por cada NADH se permite la activación de las diversas reacciones de oxido-reducción en el sistema, generando una energía libre de Gibbs de $-205.0 \text{ kJ mol}^{-1}$ por NADH, mientras que en la respiración aerobia bacteriana es de $-218.1 \text{ kJ mol}^{-1}$ por NADH [106,107].

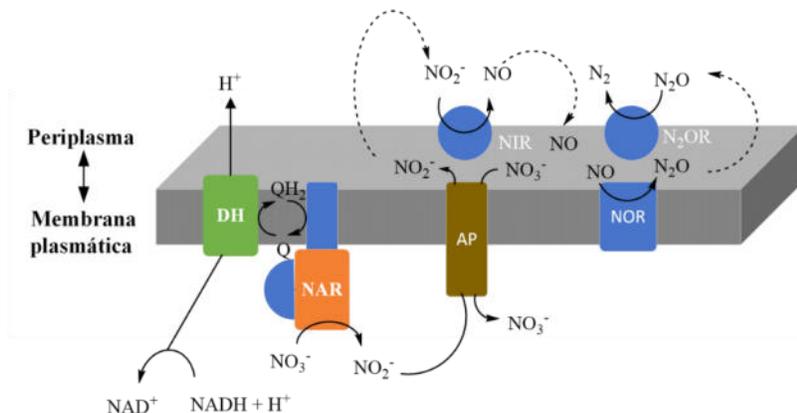
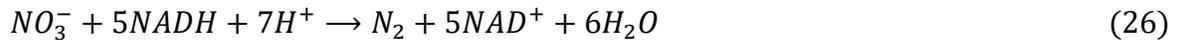


Fig. 4. Componentes del sistema nitrato reducción en bacterias desnitrificantes ubicado en membrana plasmática y periplasma. (Reproducido y modificado de Zu mft, W.G., 1997. Cell biology and molecular basis of denitrification. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61 (4),

La reacción global de nitrato reducción en la cadena transportadora de electrones se expresa como sigue en la Ecuación 26:



En el área de la biotecnología ambiental, la desnitrificación es aplicada cuando se desea la remoción total de N presente en las aguas tratadas. El principal objetivo de la remoción del N es evitar la eutrofización, además de reducir el riesgo por metahemoglobinemia en infantes; removiendo los altos niveles de NO_3^- y NO_2^- en agua potable. No obstante, para que las bacterias puedan llevar a cabo este tipo de respiración; el nitrógeno disponible en el ambiente deberá estar en su forma oxidada (NO_3^- o NO_2^-) [107].

Aunque aparentemente la reacción nitrato reducción solo puede ocurrir en condiciones anóxicas, se sabe que diversos lodos activados pueden llevar a cabo el proceso de desnitrificación incluso en presencia de oxígeno, de acuerdo con lo reportado por Eckenfelder. (1966). Esto dependerá de la cantidad de flóculo anóxico presente en la biomasa además de la disponibilidad de la materia orgánica. No obstante, la tasa de desnitrificación en el sistema dependerá en cierta medida del tipo de contaminante considerando el tipo de reactor.

La tasa de desnitrificación se puede expresar mediante la Ecuación 27:

$$R_{DN} = K_{DN}X_v \times 1.09^{(T-20)}(1 - D.O.) \quad (27)$$

Donde R_{DN} corresponde a la tasa global de desnitrificación; mientras que K_{DN} corresponde a la tasa específica de desnitrificación. El término D.O que se refiere al oxígeno disuelto en la Ecuación 27, sugiere que la desnitrificación ser reduce linealmente a cero cuando el oxígeno disuelto alcanza el valor de 1.0 mg L^{-1} ; sin embargo, esto se determinará experimentalmente en los RLE.

1.2. Antecedentes

Los PEO han sido exitosamente aplicados en la degradación y mineralización efectiva de diversos contaminantes emergentes incluyendo compuestos farmacéuticos como las FQs. A continuación, se resumen algunos trabajos de investigación relacionados con este tema.

1.2.1. Degradación y mineralización de FQs mediante PEO

En el año 2018 Coria *et al.* [108] evaluaron la degradación del antibiótico de levofloxacino (LVN, 60 mg L⁻¹) mediante el proceso de FEFS en una planta piloto de 6 L conectada a un colector solar parabólico. La celda electrolítica estaba conformada con electrodos de tela de carbón PTFE y Pt (cátodo y ánodo, respectivamente) operando a potencial controlado, alcanzando el 100% de la degradación en 60 min y el 100% de la mineralización en 360 min bajo las condiciones de: 0.50 mmol L⁻¹ de Fe²⁺; 0.05 mol L⁻¹ Na₂SO₄ a pH 3; E= -0.30 V vs ENH.

Posteriormente, Yahya *et al.* (2020) [109], reportaron la mineralización del ofloxacino (OFL, 0.2 mmol L⁻¹) mediante EF utilizando una celda de 200 mL conformada por un electrodo de difusión de fieltro de carbono como cátodo y un ánodo de Pt; logrando en 90 min de electrólisis el 100% de la degradación y el 91% de mineralización en 300 min, con las siguientes condiciones de operación: 0.20 mmol L⁻¹ de Fe²⁺; 0.05 mol L⁻¹ Na₂SO₄ a pH 3; 200 mA cm⁻².

Adicionalmente, Lima *et al.* [110], evaluaron la degradación y mineralización del ciprofloxacino (CIP, 30 mg L⁻¹) en una celda electrolítica de 250 mL utilizando electrodos de difusión de gas (O₂) como cátodo y ánodo y comparando diferentes PEO (OA; H₂O₂; H₂O₂/UV; EF y FEF); siendo el proceso de FEF el más efectivo al degradar el 100% del CIP con 84.56% de mineralización en 15 y 360 min respectivamente, con las condiciones: 0.10 mmol L⁻¹ de Fe²⁺; 0.05 mol L⁻¹ Na₂SO₄ a pH 2.5; 50 mA cm⁻² a 350 nm de radiación UV.

1.2.2. Degradación de FQs mediante procesos biológicos

Shu *et al.* (2021) [15], evaluaron la biodegradación de levofloxacin (10 mg L⁻¹) utilizando distintos consorcios bacterianos de *Lactobacillus spp.* El consorcio M-G-S, el cual fue enriquecido en condiciones anaerobias con 20 mmol L⁻¹ de glucosa como fuente de carbono externa y 10 mmol L⁻¹ de sulfato (como aceptor de electrones), obtuvo los mejores resultados con 53.1% en tiempo de incubación de 10 días. Posteriormente y bajo estas mismas condiciones, se reportó la biodegradación del norfloxacin (10 mg L⁻¹) y ciprofloxacino (10 mg L⁻¹) logrando una biodegradación de 29.9 y 56.7%, respectivamente, en un tiempo de incubación de 10 días.

En ese mismo año los autores Hou *et al.* (2021) [111], evaluaron la biodegradación del gatifloxacin (GAT, 10 mg L⁻¹), bajo condiciones aerobias, facultativas y anaerobias con el aislamiento de las enzimas manganeso peroxidasa, (*Phanerochaete chrysosporium*); citocromo oxidasa (*Paracoccus denitrificans*) y oxidorreductasa (*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*). El tratamiento con la enzima citocromo oxidasa (condiciones facultativas), obtuvo los mejores resultados de biodegradación con un 36.54% en 10 días de incubación, con respecto a un 31.33 y 35.50% bajo las condiciones aerobias y anaerobias, respectivamente.

Ha sido limitado el número estudios en cuanto a la degradación de FQs mediante el uso de reactores biológicos; el trabajo más reciente mediante este tratamiento corresponde a (Carneiro *et al.*, 2020), quienes evaluaron la biodegradación del CIP (500 mg L⁻¹) utilizando un reactor anaeróbico de lecho empacado estructurado (RALERE) y un reactor anaeróbico de lecho empacado simple (RALERS). La diferencia entre estos dos reactores consistió en el acomodo del empaque: siguiendo una secuencia en el caso del RALERE, mientras que en el RALERS el acomodo fue en aleatorio. La degradación del CIP se evaluó a dos diferentes TRH (4 y 12 h) obteniendo porcentajes de biodegradación en el RALERS de 85 y 64% cuando se aumentó el TRH de 4 a 12 h, respectivamente; mientras que en el

RALERE fueron de 86 y 64%, respectivamente. Los autores concluyeron que esta tendencia se debe al aumento de los coeficientes de transferencia de masa en fase líquido que se dieron en función del aumento del TRH (RALERE: K_s de 0.01 a 0.05 cm h^{-1} ; RALERS: K_s de 0.07 a 0.24 cm h^{-1}).

1.2.3. Acoplamiento entre PEO y procesos biológicos en la degradación de compuestos farmacéuticos

En el año 2015, Mansour *et al.* [27], evaluaron la degradación del antibiótico sulfametazina (0.2 mmol L^{-1}) en un efluente farmacéutico mediante EF y un proceso biológico en un reactor tipo Batch con un lodo activado proveniente del efluente de una PTAR. La aplicación de EF logró completar la degradación del fármaco en 100 min de electrólisis con una mineralización de 7.5%, bajo las condiciones óptimas de: 0.5 mmol L^{-1} de Fe^{2+} ; pH 3; 500 mA; mientras que en el proceso biológico se logró el 79.6% de la mineralización después 15 días de tratamiento. En este trabajo no se realizó la identificación de los microorganismos predominantes.

Posteriormente, Martínez-Pachón *et al.* (2019) [113], utilizaron el proceso de FEF en la degradación del valsartán (20 mg L^{-1}) acoplado con un tratamiento biológico en reactores Batch utilizando un cultivo de microorganismos aeróbicos proveniente de un efluente de una planta procesadora de alimentos. La degradación del contaminante mediante el proceso FEF se logró en 45 min, y tan solo el 25% de la mineralización después de 120 min de electrólisis, en condiciones óptimas de: $3.6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Fe^{2+} ; pH 3; 3.46 mA cm^{-2} . Por su parte la degradación biológica, previamente aclimatada durante 300 min con la solución de 20 mg L^{-1} del fármaco, logró alcanzar el 90% de la mineralización después de ocho días de tratamiento. En este trabajo tampoco se reportó la identificación de los microorganismos predominantes.

El trabajo más reciente fue reportado por Aboudalle *et al.* (2021) [29], quienes evaluaron la degradación del metronidazol (100 mg L^{-1}) mediante EF y la

mineralización de los subproductos de degradación mediante un proceso biológico. En el proceso EF se obtuvo la degradación completa del fármaco después de 20 min y con un 32.0% de la remoción del COT en 2 h de electrólisis bajo las condiciones de (0.1 mmol L⁻¹ de Fe²⁺; pH 3; 0; 0.07 mA cm⁻²). Posteriormente, los subproductos de la degradación identificados mediante LC-MS/MS fueron sometidos a la degradación biológica con la utilización de un lodo activado (LA) y dos cultivos bacterianos de *Pseudomonas putida* (cepa A) y *Achromobacter sp.* (cepa B); los cuales fueron aclimatados con los subproductos de la electrólisis durante 48 h a 200 rpm. Luego de 120 h de tratamiento se logró 96% de mineralización en 120 h de tratamiento con la combinación de la bioaumentación (adición de LA a las cepas A y B) y con la bioestimulación (adición de 1 g L⁻¹ de glucosa como fuente de carbono externa).

1.3. Análisis crítico de la literatura

La revisión bibliográfica indica que los PEAO tienen la capacidad de degradar completamente compuestos orgánicos, incluyendo aquellos que son altamente recalcitrantes. Si bien el tiempo necesario para lograr esta degradación total es inferior a una hora, la mineralización casi completa requiere un periodo considerablemente más largo, que oscila entre 4 y 6 h, dependiendo de la naturaleza y concentración de los compuestos en cuestión. A medida que se agota la materia orgánica, la mineralización se torna más compleja, lo que implica un mayor consumo de tiempo y energía para descomponer las pequeñas cantidades remanentes.

Los tratamientos biológicos han demostrado ser efectivos para el tratamiento de aguas residuales; sin embargo, presentan desventajas significativas, como los largos periodos de tratamiento (que pueden extenderse por días) y la limitada degradación de ciertos compuestos orgánicos recalcitrantes. Para mitigar estos inconvenientes, se han propuesto enfoques que combinan tratamientos, lo que permite reducir el tiempo necesario para el tratamiento biológico.

A pesar de su importancia, hasta ahora no se han evaluado parámetros clave que afectan la calidad de los efluentes, como el pH. Este suele ajustarse a un valor de 3, y aunque algunos tratamientos biológicos pueden tolerar este pH, es necesario reajustarlo a niveles cercanos a la neutralidad. Este ajuste conlleva un consumo adicional de reactivos, o bien resulta en un efluente tratado con cierto grado de acidez.

Hasta donde se tiene conocimiento, no se ha estudiado la degradación combinada de OFL, NOR y CIP en procesos individuales (ya sea EF-FEF o tratamiento microbiológico), ni en su combinación. Este trabajo, por lo tanto, representa un avance significativo y novedoso en el campo, al emplear reactores de lecho empacado para llevar a cabo el proceso biológico acoplado con electroquímica.

Los reactores de lecho empacado, en comparación con los reactores de tipo lote, mejoran la eficiencia en la degradación de contaminantes debido a su diseño, que favorece un contacto más efectivo y prolongado entre el sustrato y la fase inmovilizada (empaquete), donde se desarrolla la biopelícula. Además, la construcción de estos reactores es generalmente sencilla y de bajo costo.

1.4. Aportación científica

Implementación de un proceso combinado entre EF y un tratamiento biológico de lecho empacado para mineralizar completamente una mezcla de ofloxacino, norfloxacino y ciprofloxacino. Además de la degradación de la mezcla mediante ambos tratamientos individuales.

1.5. Hipótesis

El proceso combinado de EF y el tratamiento biológico mineralizan completamente la mezcla de ofloxacino, norfloxacino y ciprofloxacino.

1.6. Objetivos

1.6.1. Objetivo general

Mineralizar completamente la mezcla ofloxacino, norfloxacino y ciprofloxacino mediante la combinación del proceso EF y un tratamiento biológico.

1.6.2. Objetivos específicos

1. Implementar un método analítico por HPLC para la detección y cuantificación del OFL, NOR, y CIP en mezcla.
2. Instalar, operar tres reactores de lecho empacado utilizando piedra volcánica tezontle como soporte microbiano y determinar los parámetros de oxígeno disuelto, potencial óxido-reducción y pH.
3. Evaluar la degradación y mineralización de la mezcla OFL, NOR, y CIP mediante EF y optimizar los parámetros de pH, intensidad de corriente y concentración de la mezcla.
4. Determinar la toxicidad de la muestra tratada con Electro-Fenton mediante los bioensayos con *Vibrio fischeri*.
5. Evaluar la cinética de biodegradación de OFL, NOR, y CIP en un reactor de lecho empacado.
6. Realizar el acoplamiento entre Electro-Fenton y el proceso biológico en la degradación de OFL, NOR, y CIP.
7. Elucidar los mecanismos de degradación de la mezcla OFL, NOR, y CIP mediante LC-MS/MS.

CAPÍTULO 2

METODOLOGÍA

En esta sección se abordará a detalle la metodología experimental, así como la descripción del material, técnicas, y equipos utilizados para la realización de esta investigación. La parte experimental se describió en tres partes: 1) tratamiento electroquímico, 2) tratamiento biológico, y 3) acoplamiento de los procesos.

2.1. Reactivos

2.1.1. Reactivos utilizados en el pretratamiento con EF

Tabla 3. Lista de los reactivos utilizados en el proceso de EF.

Reactivo	Fórmula	Pureza (%)	Marca
Sulfato de hierro (II) hepta-hidratado	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	99.0	Jalmek
Oxisulfato de titanio	TiOSO_4	99.99	Riedel-de Haën
Ácido sulfúrico	H_2SO_4	97.7	J.T Baker
Sulfato de sodio anhidro	Na_2SO_4	99.0	LeMont
Fosfato de potasio monobásico	KH_2PO_4	99.0	Sigma-Aldrich
Ácido fosfórico	H_3PO_4	99.0	Pd
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2	30.0	LeMont
Hidróxido de sodio	NaOH	99.0	Merck
Acetonitrilo (ACN)	$\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$	99.9	Sigma-Aldrich
Tetrahidrofurano (THF)	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$	99.9	Sigma-Aldrich
Ciprofloxacino	$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$	98.0	Supelco
Norfloxacino	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$	98.0	Sigma-Aldrich
Ofloxacino	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$	98.0	Sigma-Aldrich
Sulfito de sodio	NaSO_3	98.0	Supelco

2.1.2. Reactivos utilizados en el tratamiento biológico

Tabla 4. Lista de reactivos utilizados en el tratamiento biológico.

	Reactivo	Fórmula	Pureza (%)	Marca
Medio de cultivo nitrato reductor	Glicerol	$C_3H_8O_3$	99.0	Merck
	Fosfato dibásico de potasio	KH_2HPO_4	99.99	J.T Baker
	Fosfato monobásico de potasio	K_2HPO_4	99.0	J.T Baker
	Acetato de sodio	$C_2H_3NaO_2$	90.0	MCB reagents
	Cloruro de magnesio	$MgCl_2$	99.0	Sigma-Aldrich
	Extracto de levadura	NA	99.0	Sigma-Aldrich
	Triptona	NA	30.0	Sigma-Aldrich
	Nitrato de sodio	$NaNO_3$	99.0	CTR Scientific
	Nitrato de amonio	NH_4NO_3	99.9	Fermont
	Solución stock de nutrientes	Sulfato de hierro heptahidratado	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	99.9
Molibdato de sodio		$NaMoO_4$	99.0	Sigma-Aldrich
Sulfato de cobre pentahidratado		$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	99.0	Analytika
Sulfato de zinc heptahidratado		$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	99.0	Supelco
Nitrato de cobalto hexahidratado		$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	99.0	Sigma-Aldrich
Sulfato de níquel		$NiSO_4$	99.0	Sigma-Aldrich
Ácido bórico		H_3BO_3	97.9	Supelco
Selenato de sodio		Na_2SeO_3	99.0	Analytika
Sulfato de manganeso hidratado		$MnSO_4 \cdot H_2O$	99.0	CTR Scientific
Bicarbonato de sodio		$NaHCO_3$	99.0	Fermont
Cloruro de calcio		$CaCl_2$	99.0	Fermont
Ácido sulfúrico		H_2SO_4	99.0	Sigma-Aldrich
Prueba de reducción de nitritos Fluka	Caldo de nitratos	NA	99.9	Fluka
	Ácido acético	CH_3COOH	98.0	Sigma-Aldrich
	N-N-dimetil-1-amina	$C_5H_{14}N_2$	99.0	Sigma-Aldrich
	Ácido sulfanílico	$C_6H_7NO_3S$	99.0	Sigma-Aldrich

2.2. Material y equipo

Tabla 5. Lista de material y equipo utilizado en ambos procesos

Equipo/Material	Marca	Modelo
Baño de ultrasonido	Cole-Parmer	8890
Cromatógrafo de líquidos HPLC	HPLC system	YL9100
Cromatógrafo de líquidos acoplado con espectrometría de masas (LC-MS/MS)	Agilent 1920 Agilent 6470 Triple Quadrupole	Infinity II UHPLC LC/MS System
Analizador de carbón orgánico total	Shimadzu	TOC-VCSH
Espectrofotómetro de UV/Vis	Varian	Cary 50
Analizador de partículas por fisisorción de nitrógeno	Micromeritics	TriStar-II+
Columna cromatográfica de exclusión iónica	Animex	HPX-87H
Columna cromatográfica de intercambio iónico	Dionex	IonPac AS23
Columna cromatográfica de octadecilsilano (C-18)	Phenomenex Agilent ZORBAX	Luna C-18 Eclipse Plus C-18
pH metro	Thermo Scientific	ORION STAR A 111
Material de vidrio	Pyrex	NA
Centrífuga	Allegra™	X-22R
Filtros de jeringa 0.45 µm	Phenomenex	Phenex
Placas Petri	Becton-Dickson	M100-S
Incubadora	Fisher-Scientific	NA
Analizador de oxígeno disuelto	HANNA	1079
Analizador de potencial óxido-reducción	HANNA	1079
Bomba para pecera	Elite	799
Fuente de poder		MPL-1303
Tela de carbón activado		NA
Electrodo de diamante dopado con boro	Adamant y Metaken	NA
Bomba de vacío	Felisa	NA
Balanza analítica	Ohaus Corporation Sartorius	PA224C CP224-S
Microscopio óptico	UNICO®	NA
Bomba peristáltica	Texas	Control

2.3. Metodología experimental de la primera parte: tratamiento electroquímico

2.3.1. Implementación del método analítico por HPLC para la detección y cuantificación de OFL, NOR y CIP

Para dar seguimiento a la degradación de la mezcla de fluoroquinolonas (FQs), se implementó un método analítico utilizando un cromatógrafo HPLC System, serie YL900, equipado con un detector de arreglo de diodos. La fase móvil se compuso de un buffer de fosfatos (KH_2PO_4) a 30 mmol L^{-1} y pH 2.6, combinado con acetonitrilo (ACN) y tetrahidrofurano (THF) en una proporción de 90:5:5 (v/v).

La fase estacionaria consistió en una columna C18 Luna Phenomenex, con dimensiones de $30 \times 1.5 \text{ cm}$ y un tamaño de poro interno de 0.5 \AA . La detección de los compuestos se realizó a longitudes de onda de 290 nm para el ofloxacino (OFL) y 275 nm para ciprofloxacino (CIP) y norfloxacino (NOR). Además, se llevó a cabo un barrido espectral en el espectrofotómetro UV/Vis Varian Cary 50 en el rango de 200 a 600 nm .

Las curvas de calibración para cada compuesto se construyeron en un rango de concentración de 0.2 a 60 mg L^{-1} . Las inyecciones de los estándares se realizaron utilizando filtros de nylon para jeringa de 45 \mu m (Phenex), asegurando así la pureza de las muestras analizadas.

2.3.2. Instalación de la celda electroquímica

2.3.2.1. Cuantificación de H_2O_2

La Figura 5 muestra la configuración de la celda electroquímica utilizada para la cuantificación de H_2O_2 . La celda consistió en 250 mL de $0.05 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ como electrolito soporte ajustado a pH 3 con H_2SO_4 . Como cátodo se utilizó un electrodo de difusión de aire de tela de grafito (CDA), y un electrodo de DDB como ánodo. El suministro de aire como fuente de oxígeno, se realizó con una bomba de aire Elite

79, mientras que la aplicación de corriente (A) se llevó a cabo mediante la fuente de poder MPL-1303.

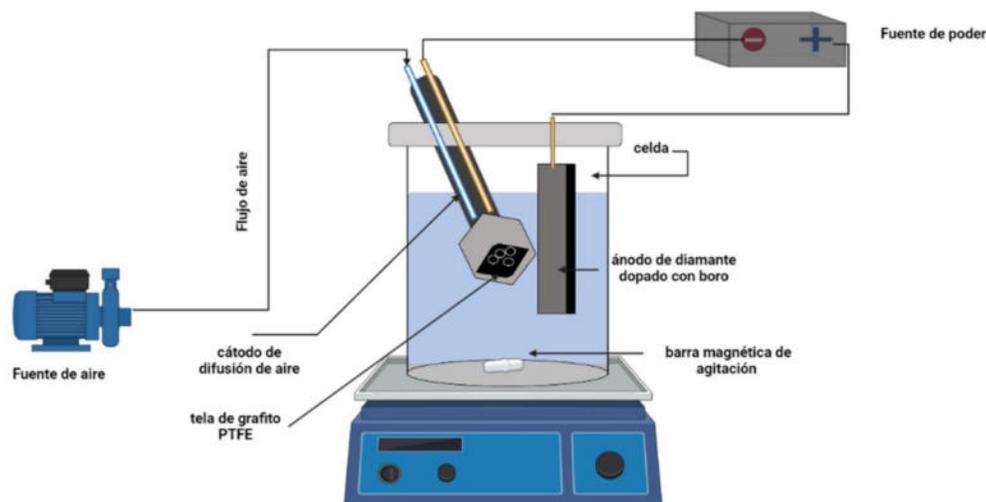
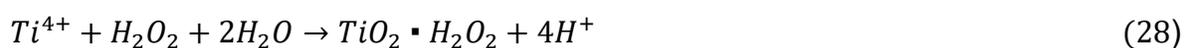


Fig. 5. Configuración de la celda electroquímica.

Para la cuantificación del H_2O_2 producido por el CDA, se tomaron alícuotas de 0.5 mL cada 30 min durante 180 min. Tras la toma de muestra se procedió a agregar 1 mL de $TiOSO_4$, el cual reacciona con el H_2O_2 generando el complejo de color amarillo. La reacción de la formación del complejo se muestra en la Ecuación 28:



Las muestras fueron colectadas aforadas en un matraz volumétrico de 10 mL, replicando el mismo factor de dilución de la curva de calibración de H_2O_2 , posteriormente se analizaron en el espectrofotómetro de UV/Vis Varian Cary 50 a 410 nm.

2.3.2.2. Evaluación de la degradación de la mezcla de OFL, NOR, y CIP

Los experimentos de degradación se llevaron a cabo en la celda descrita anteriormente (Fig. 5) bajo las condiciones establecidas de: 250 mL de 0.05 mol L^{-1} Na_2SO_4 pH 3. El tiempo de electrólisis se mantuvo fijo en 180 min; sin embargo, la densidad de corriente, la concentración de Fe^{2+} y de cada uno de los tres

compuestos variaron acorde con lo establecido en el diseño de experimentos seleccionado (para mayor referencia consultar Tabla 6). El volumen de muestra fue 1 mL (todas en un punto fijo de muestreo), y fueron depositadas en viales de 1.5 mL que contenían seis gotas de 0.22 mmol L⁻¹ de NaOH para detener la reacción de Fenton. Posteriormente las muestras fueron leídas en el HPLC a las longitudes de onda de 290 nm para OFL y 275 nm para CIP y NOR. Adicionalmente, el análisis de la determinación del COT se llevó a cabo en el analizador Shimadzu TOC-VCSH tomando alícuotas de 5 mL aforadas a 12 mL para completar el volumen requerido para el análisis.

Para determinar las condiciones óptimas de degradación, se aplicó un diseño de experimentos de superficie de repuesta Box-Behnken 2³; es decir, tres factores con dos niveles y con cuatro respuestas: constantes cinéticas de degradación individual (k_{app}) y porcentaje de abatimiento del COT (mineralización). La k_{app} se obtuvo mediante la Ecuación 29.

$$\ln \frac{C_t}{C_0} = k_{app}t \quad (29)$$

Donde C_t (mg L⁻¹) es la concentración de la FQ en cuestión en el tiempo; C_0 (mg L⁻¹) es la concentración inicial de la FQ; k_{app} es la velocidad de degradación de cada FQ (min⁻¹), y t es el tiempo de reacción (min).

La selección de los factores, así como los niveles, fueron los siguientes: densidad de corriente, concentración de Fe²⁺ y concentración de la mezcla de FQs. Dichos factores fueron previamente seleccionados con base en la literatura además de los niveles para cada factor que se muestran en la Tabla 6. El diseño de experimentos se analizó mediante el Software Desing-Expert[®] 11.

Tabla 6. Factores y niveles del diseño Box-Behnken para la degradación de la mezcla de FQs mediante EF.

Factor	Nivel		
	+1	0	-1

Densidad de corriente (mA cm ⁻²)	250	166.6	83.3
[Fe ²⁺] (mmol L ⁻¹)	0.5	0.3	0.1
[FQ's mezcla] (mg L ⁻¹)	90	55	20

+1 = nivel alto

-1= nivel bajo

0 = nivel central

2.3.2.3. Determinación y cuantificación de ácidos carboxílicos y iones inorgánicos

Para la cuantificación de los ácidos carboxílicos de cadena corta, se utilizó una columna de exclusión iónica Animex® HPX-87H (300 x 7.8 mm) con una fase móvil compuesta por 4 mmol L⁻¹ de H₂SO₄. Los ácidos detectados incluyeron ácido oxálico, oxámico, maleico, fórmico y fumárico. Las muestras fueron recolectadas a diferentes intervalos, tomando alícuotas de 1.5 mL que fueron filtradas utilizando filtros de jeringa de nylon de 0.45 µm (Phenex). Estas muestras se inyectaron en el cromatógrafo HPLC System, serie YL900, con un tiempo de análisis total de 16 minutos a un flujo de 0.8 mL min⁻¹. La detección de los ácidos se llevó a cabo a una longitud de onda de 210 nm.

La cuantificación de los iones F⁻ y NO₃⁻ se realizó utilizando el cromatógrafo de iones Thermo Scientific Dionex (Dionex ICS-110 system), que incluye un supresor de conductividad (Dionex ASRD 300 de 4 mm) y una columna de intercambio iónico Dionex IonPac AS23 (4 x 250 mm). La fase móvil consistió en una mezcla de 4.5 mmol L⁻¹ de Na₂CO₃ y 0.8 mmol L⁻¹ de NaHCO₃. El flujo se ajustó a 1 mL min⁻¹, manteniendo la temperatura en 30 °C y la corriente en 25 mA. La toma de muestras se realizó en diferentes intervalos, recolectando alícuotas de 5 mL que fueron posteriormente filtradas con filtros de jeringa de nylon de 0.45 µm.

2.3.2.4. Identificación de intermediarios de degradación por cromatografía de líquidos acoplada con espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS)

La identificación de los intermediarios de degradación se realizó con un cambio en las condiciones optimizadas; principalmente la concentración inicial de las FQs, ya que el límite de detección del LC-MS/MS fue 10-2000 ng L⁻¹. Por su parte la degradación mediante EF se realizó de manera individual para lograr la identificación pertinente correspondiente de cada compuesto. En la Tabla 7 se muestran las condiciones nuevas implementadas para este análisis.

Se realizaron alícuotas de 1.0 mL de la muestra, que luego se transfirieron a viales de 1.5 mL con 6 gotas de una solución de NaOH a 0.02 mol L⁻¹. Después de filtrar las muestras utilizando filtros de Nylon de 0.22 µm, se agregó 1 gota de una solución de H₂SO₄ a 4 mmol L⁻¹ para ajustar el pH a 3, que es el valor necesario para las condiciones cromatográficas. Cada muestra fue llevada a analizar en el equipo de cromatografía de líquidos Agilent 1920 Infinity II UHPLC acoplado con el espectrómetro con triple cuadrupolo Agilent 6470 LC/MS System. La columna utilizada fue C18 Agilent ZORBAX Eclipse (50 x 2.1 mm, 1.8 µm, tamaño de poro). La fase móvil consistió en una combinación de agua ultrapura y ACN (50:50 v/v). Finalmente, el rango de concentraciones para la calibración externa fue de 10-1500 ng L⁻¹ para cada compuesto.

Para más información acerca de la operación del equipo LC-MS/MS favor de consultar Apéndice 1.

Tabla 7. Condiciones en la degradación individual de las FQs para la identificación de intermediarios de degradación mediante LC-MS/MS.

Parámetro	OFL	NOR	CIP
Concentración inicial [FQ] (ng L ⁻¹)	1000	1000	1000
Densidad de corriente <i>j</i> (mA cm ⁻²)	83.3	83.3	83.3
Concentración de hierro [Fe ²⁺] (mmol L ⁻¹)	0.05	0.05	0.05
Concentración de electrolito soporte [Na ₂ SO ₄] (mol L ⁻¹)	0.005	0.005	0.005
Vol. de la celda (mL)	250	250	250

2.3.3 Evaluación de la toxicidad mediante los bioensayos con *Vibrio fischeri*

Los análisis de toxicidad se realizaron al finalizar el tratamiento con electrocoagulación (EF), utilizando el microorganismo *Vibrio fischeri*. Para llevar a cabo estas mediciones, se utilizó un kit de bioluminiscencia Delta Tox II de Modern Water.

Se colectaron muestras de 2 mL en diferentes intervalos de tiempo, a las que se les añadió 0.5 y 0.2 mL de una solución de NaOH 0.065 mol L^{-1} y 0.1 mol L^{-1} de Na_2SO_3 , respectivamente. A continuación, se reconstituyó la bacteria liofilizada en viales de 6 mL añadiendo 0.3 mL de NaCl (2% w/v), y se ajustó la presión osmótica con NaCl (20% w/v).

Finalmente, se incorporó la bacteria reconstituida a 0.9 mL de cada muestra. La medición de bioluminiscencia se realizó al inicio y luego de una exposición de 10 minutos utilizando el iluminómetro Delta Tox II (Modern Water). La inhibición de la bioluminiscencia se reportó como porcentaje de inhibición de bioluminiscencia (%IB).

2.4. Metodología experimental de la segunda parte: tratamiento biológico

2.4.1. Preparación y caracterización del soporte microbiano

La roca volcánica tezontle fue utilizada como empaque y como soporte microbiano. Previo al empaque de los reactores se llevó a cabo una caracterización fisicoquímica y estructural; la caracterización estructural se realizó mediante la técnica de fisorción de N_2 utilizando el equipo Micromeritic TriStarr II+. Una vez caracterizada, fue lavada hasta retirar todo tipo de impurezas y llevada a esterilización a 15 libras/pulgada² de presión durante 1 h. Los resultados de la caracterización se muestran y discuten en el Capítulo 3.

2.4.2. Instalación y operación de los reactores de lecho empacado

La Figura 6 muestra la configuración de los tres reactores de lecho empacado: constituidos por una columna de vidrio de 36.6 cm de largo; diámetro interno y externo de 5.08 y 5.35 cm respectivamente; dividido en 5 segmentos (L) con 6 puertos de muestreo incluyendo influente y efluente. La distancia de cada puerto es de 5.35 cm.

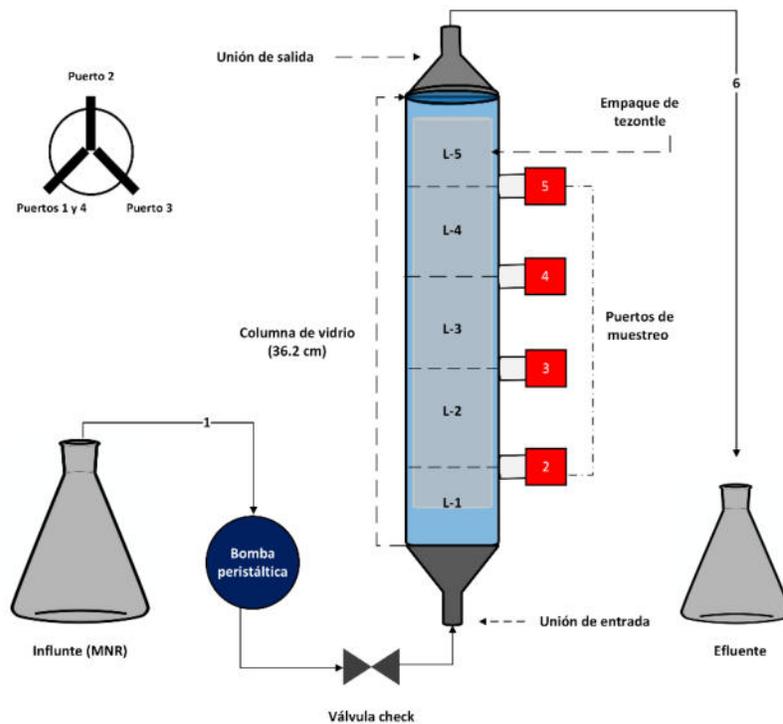


Fig. 6. Configuración esquemática de los reactores de lecho empacado.

Cada uno de los reactores fue cargado con ~ 700 g de piedra previamente esterilizada. El reactor utilizado en la degradación biológica se rotuló como RE-1; RE-2 para el reactor utilizado en el acoplamiento de los procesos, y RE-0 para el reactor de referencia.

El consorcio bacteriano utilizado como inóculo fue obtenido de una PTAR ubicada en la refinería de Cadereyta Jiménez, Nuevo León, México (2535.1333, N,09956.3428,W). El consorcio fue depositado en un reactor madre de 2 L con

aireación y posteriormente se acondicionó llevándolo a centrifugación a 2000 RPM durante 5 min. La inoculación a los reactores RE-1 y RE-2, se realizó con 200 mL del consorcio en 1 L de medio de cultivo mineral nitrato reductor (MNR) a un TRH de 6 h.

La alimentación de los reactores RE-1 y RE-2 se llevó a cabo con 1 L de MNR con una frecuencia de 2 veces a la semana durante 4 meses hasta observar la maduración de la biopelícula. La composición y la preparación del MNR se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Composición del medio de cultivo nitrato reductor.

Compuesto	Cantidad (g)	Dilución (mL)
NH ₄ NO ₃	0.5	
C ₂ H ₃ NaO ₂	1.5	
Extracto de levadura	3	800
Triptona	2	
MgCl ₂	0.5	
NaNO ₃	1	
KH ₂ PO ₄	2	100
K ₂ HPO ₄	3.5	
Glicerol	0.2	100

Para completar la preparación del MNR, se añadió 1 mL de la solución de Stock nutrientes, y se esterilizó a 150°C a 15 psi de presión durante 20 min.

El monitoreo de los parámetros ambientales como OD, POR, pH se mantuvo durante la maduración de la biopelícula y posteriormente durante la aclimatación con el CIP, el cual fue el primer compuesto añadido como sustrato limitante. Las mediciones se hicieron tomando alícuotas de 10 mL provenientes del influente y efluente depositándolas en vasos de precipitados.

2.4.3. Aclimatación de la biopelícula a los sustratos limitantes en el RE-1

2.4.3.1. Metodología de dispersión de OFL, NOR, y CIP en el MNR

Con el objetivo de lograr la homogeneización de cada compuesto en el medio de reacción nutritivo (MRN), cada fármaco fue sometido a un tratamiento previo. Este tratamiento consistió en pesar una cantidad conocida de cada fármaco y añadir 1 gota de una solución de H_3PO_4 a 8 mmol L^{-1} hasta conseguir la completa solubilidad del compuesto en agua. Para evitar la precipitación, se mantuvo el pH de la solución en 4 mediante la adición de KOH a 0.6 mol L^{-1} .

Una vez obtenida la solución homogénea, se añadió a un volumen conocido de MRN. Posteriormente, se suministraron 500 mL de MRN con la fluoroquinolona (FQ) añadida a una concentración conocida (MNR-FQs) al reactor de tratamiento (RE-1) a un flujo constante de 6 mL min^{-1} durante un periodo de 4 meses.

2.4.4. Evaluación de la biodegradación del OFL, CIP y NOR en el RE-1

Se realizaron pruebas iniciales de biodegradación para evaluar la efectividad del reactor (RE-1) en la eliminación de ciprofloxacino (CIP). Para esto, se incorporó al influente una concentración de CIP de 42 mg L^{-1} , manteniendo un tiempo de retención hidráulica (TRH) constante de 1.15 horas. Para monitorear la degradación, se tomaron alícuotas de cada uno de los puertos en secuencia ascendente al finalizar el tiempo de alimentación. Las muestras se filtraron con filtros de jeringa de polipropileno Whatman GD/X de $0.45 \mu\text{m}$ y se almacenaron en viales de 1.5 mL para su análisis posterior en el cromatógrafo HPLC System YL900. A continuación, se evaluaron seis concentraciones diferentes de cada compuesto: 5, 15, 30, 50, 70 y 90 mg L^{-1} . Para cada cinética de degradación, se aplicó la misma metodología descrita anteriormente. Además, se llevó a cabo la degradación de la mezcla de compuestos utilizando las mismas concentraciones, en una relación de 1:1:1 para cada uno. Esto significa que, para una concentración de 5 mg L^{-1} en la mezcla, la concentración total ascendería a 15 mg L^{-1} . Así, las concentraciones totales en el influente fueron de 45, 90, 150, 210 y 270 mg L^{-1} , de acuerdo con el orden de concentración establecido. Para fines prácticos, se utilizó el orden inicial

de 5, 15, 30, 50, 70 y 90 mg L⁻¹, asumiendo que la mezcla de los tres compuestos actúa como un solo sustrato.

2.4.5. Determinación de la masa celular volátil y grosor de la biopelícula por segmento

El reactor biológico RE-1 fue desmontado y dividido en 5 segmentos para determinar la masa celular volátil expresada en sólidos suspendidos volátiles (SSV g). De cada segmento se obtuvo una cantidad de soporte bacteriano de la cual fue registrada su peso húmedo y posteriormente fue llevado a peso constante. El proceso se muestra en el siguiente esquema de la Figura 7:

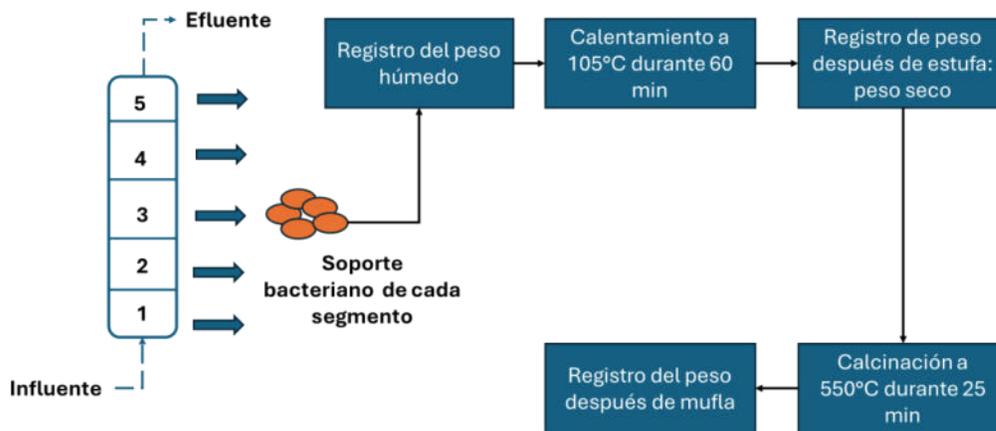


Fig. 7. Determinación del grosor de biopelícula y la masa celular volátil por segmento en el RE-1.

Para llevar a peso constante fue necesario calentar el soporte bacteriano obtenido de cada segmento del reactor a 105°C durante 60 min registrando peso posterior a ser calentado en la estufa. El proceso de calentamiento se realizó hasta que el peso resultante no cambiara a razón de 0.1 g. El peso restante corresponde a la humedad total del soporte. Posteriormente se registró el peso de la piedra seca luego de ser calcinada a 550°C en mufla. El proceso fue repetido las veces que fueron necesarias hasta llevar a peso constante. La diferencia del peso seco de la piedra con respecto

al peso de calcinación después de mufla corresponde al total de los sólidos suspendidos en SSV g.

El cálculo del grosor de la biopelícula se obtuvo con la ecuación 30:

$$L_{x1,5} = \frac{(P_{h1,5} - P_{s1,5})}{[A_{1,5}(\delta)]} \quad (30)$$

Donde $L_{x1,5}$ es el grosor de la biopelícula en cada uno de los segmentos del reactor (cm); $P_{h1,5}$ y $P_{s1,5}$ es el peso húmedo y seco del soporte por segmento (g); $A_{1,5}$ es el área superficial del soporte por segmento (cm); y δ es la densidad del agua ($1 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$).

El área superficial total de la piedra según el resultado BET es de $2.15 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$; por lo tanto, cada segmento tiene el valor correspondiente del área superficial en cm^2 considerando el número de piedras de cada segmento. Este parámetro se muestra en la Ecuación 31:

$$A = (P_{s1,5} \frac{1g}{2.15})(Np_{1,5}) \quad (31)$$

Donde $Np_{1,5}$ es el número de piedras por segmento.

2.4.6. Metodología experimental de la tercera parte: Acoplamiento de los procesos

La combinación del proceso electroquímico (EF) y el proceso biológico en los reactores se llevó a cabo de manera discontinua, utilizando dos trenes de tratamiento: electro-Fenton/reactor biológico 2 (EF/RE-2) como tren 1, y reactor biológico 1-electro-Fenton (RE-1/EF) como tren 2.

2.4.6.1 Tren 1: RE-1/EF

Este tren consistió en evaluar la cinética de degradación de 30 mg L^{-1} (en una relación 1:1:1) de la mezcla de fluoroquinolonas (FQs) en el reactor RE-1, bajo las

condiciones previamente establecidas. Para obtener una muestra representativa, se tomaron los segundos 250 mL del efluente, lo que corresponde a la mitad del volumen de trabajo del reactor (500 mL). El efluente resultante fue esterilizado a 15 psi durante 20 minutos y filtrado con una membrana S-pack Millipore de 0.22 μm de diámetro (47 mm). Posteriormente, el efluente fue acidificado con H_2SO_4 (4 mmol L^{-1}) hasta alcanzar un pH de 2.8-3.

En la segunda fase del tratamiento (EF), se mantuvieron las condiciones optimizadas de corriente de $j = 250 \text{ mA cm}^{-2}$ y $[\text{Fe}^{2+}] = 0.31 \text{ mmol L}^{-1}$ durante 360 minutos. Finalmente, se tomaron muestras para análisis por HPLC y COT, de 1 y 5 mL, respectivamente. Cabe resaltar que tanto el muestreo como la preparación de la muestra para los análisis se llevaron a cabo siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

2.4.6.2 Tren 2: EF/RE-2

Este tren consistió en utilizar el EF como primer tratamiento. Las condiciones de degradación optimizadas se implementaron para el tratamiento electroquímico, con una duración de 90 minutos. La toma de muestras se realizó al inicio y al final del tratamiento, así como cada 5, 10, 30, 60 y 90 minutos, recogiendo 5 mL y 1 mL, respectivamente, para análisis de COT y HPLC. A través del HPLC, se cuantificaron los ácidos carboxílicos de cadena corta.

Al efluente resultante se le añadió 0.1 mol L^{-1} de NaOH hasta ajustar el pH entre 6 y 8. Luego, se filtró mediante un sistema de filtración al vacío utilizando una membrana de celulosa S-pack Millipore de 0.22 μm de diámetro (47 mm) para eliminar el precipitado de hierro generado por el incremento del pH. El siguiente paso consistió en añadir 2 mL de una solución de 0.1 mol L^{-1} de Na_2SO_3 para oxidar el H_2O_2 residual.

Finalmente, la solución pretratada con EF se pasó a través del reactor RE-2, manteniendo un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 2.05 horas. Se tomaron nuevamente muestras de 1 mL para análisis por HPLC, con el objetivo de cuantificar los ácidos carboxílicos consumidos por las bacterias en el RE-1. Estas muestras

fueron filtradas dos veces: primero con filtros de nylon de 1.0 μm Phenex y luego con filtros de 0.45 μm de la misma marca. Esta doble filtración se realizó para eliminar el exceso de materia indeseada, como sólidos suspendidos y células bacterianas de menos de 1.0 μm . En esta segunda fase, también se tomaron muestras de 4 mL para el análisis de COT al inicio y al final (influyente y efluente) del postratamiento en el RE-2. Cada una de estas muestras fue filtrada dos veces, utilizando ambos filtros (1.0 y 0.45 μm), y diluidas en el siguiente orden: de 4 a 25 mL y de 1 a 15 mL. La dilución final de 15 mL fue la utilizada para el análisis.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PRIMERA PARTE: TRATAMIENTO ELECTROQUÍMICO

3.1. Implementación del método cromatográfico por HPLC

A partir del análisis mediante espectrofotometría de UV-Vis, fueron seleccionadas las longitudes de onda de 275 y 290 nm para la detección de las FQs en el equipo HPLC. En la Figura 8 se muestra el cromatograma final obtenido después de la separación de los tres analitos estudiados con tiempos de retención de 8.37, 9.45 y 10.27 min para el OFL, NOR y CIP respectivamente.

Dadas la similitud de la estructura química de las moléculas, algunas combinaciones en distinta relación fueron probadas con poco éxito (ACN: H₂O 50/50; H₂O:CH₃OH 70:30; ACN:CH₃OH 90:10 v/v, entre otras), obteniéndose picos con buena fisonomía, pero presentando co-elución al final del análisis y/o tiempos de retención muy prolongados. Un caso especial es el de CIP y NOR, quienes fueron los compuestos que presentaron mayor problema de elución debido a la gran similitud que exhiben sus respectivas moléculas (Fig. 1).

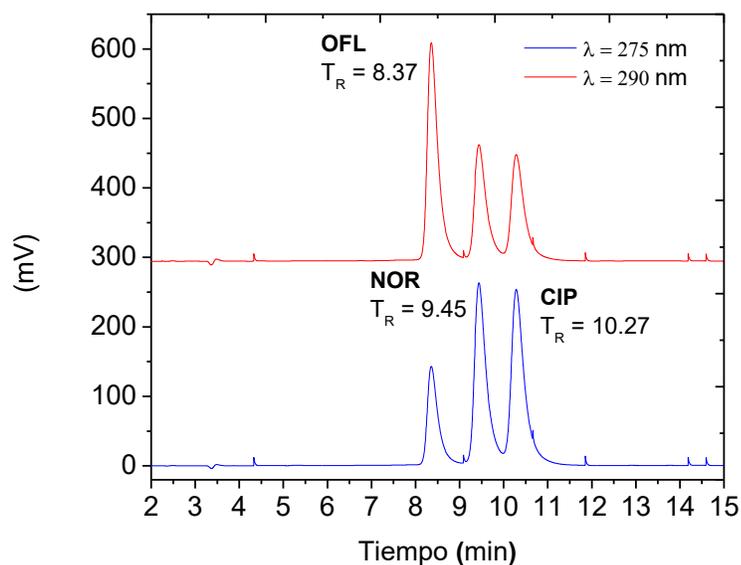


Fig. 8. Cromatograma de OFL, NOR y CIP en columna C18; fase móvil 30 mmol L⁻¹ KH₂PO₄: ACN: THF (86:10:4 v/v) a $\lambda = 275$ y 290 nm. Flujo 1 mL min⁻¹.

La elección de la fase móvil se realizó basándose en lo reportado por Espinosa-Mansilla *et al* (2005) [114]. La variación de las condiciones en la fase móvil y en el caudal evidentemente favorecieron la retención de las moléculas de CIP y NOR, obteniéndose un pico con co-elución al final de cada análisis. Sin embargo, la presencia de solventes de polaridad intermedia como el THF y ACN, permitió lograr la separación correcta de estos dos compuestos en un tiempo de análisis de 15 min con una resolución de $R_s = 2.6$. El tiempo de retención de cada compuesto y otros parámetros cromatográficos se reportan en la Tabla 9.

Tabla 9. Parámetros de separación del OFL, NOR y CIP.

Analito	T _R (min)	Eficacia (N)	Factor de capacidad (K)
OFL	8.45	178506	1.82
NOR	9.45	291600	2.15
CIP	10.27	75003	2.42

En comparación el THF posee una constante dieléctrica menor a la del ACN (7.58 y 38.38, respectivamente), favoreciendo con ello la elución del NOR en un tiempo de retención menor al CIP. La ligera diferencia en la polaridad de estos dos compuestos se le atribuye a la presencia del ciclopropano en la molécula del CIP [115]. Otro factor importante involucrado en la elución fue la utilización del buffer de fosfatos ajustado a pH 3. El ajuste del pH mantuvo a los analitos en su forma más apolar con la protonación en el átomo de nitrógeno en la posición 2 del anillo de piperazina presente en las tres moléculas. Al mantener el pH en 3 se favorece la interacción con la fase estacionaria mejorando la fisonomía de los picos y por ende la eficacia cromatográfica (N). Si, por el contrario, las moléculas se mantuvieran en su forma polar, la elución tendría lugar justo antes del frente de elución o tiempo muerto, debido a la débil interacción con la fase estacionaria. Esto conduciría a

errores en el análisis de degradación por la posible interferencia causada por la detección de subproductos de degradación [116,117].

La Tabla 10 muestra los parámetros analíticos obtenidos de la curva de calibración de las FQs obtenidas de manera simultánea. Para más información de la curva de calibración de los tres analitos revisar el Apéndice 1.

Tabla 10. Parámetros analíticos de las curvas de calibración del OFL, NOR y CIP

Parámetros	Compuesto		
	OFL	NOR	CIP
Rango lineal (mg L ⁻¹)	0.8-60	08-60	0.8-60
Tiempo de retención (min)	8.37	9.45	10.27
Límite de detección LOD (mg L ⁻¹)	0.33	0.075	0.08
Límite de cuantificación LOQ (mg L ⁻¹)	1.12	0.25	0.29
RSD punto mínimo (%)	4.11	4.17	4.15
RSD punto máximo (%)	3.33	3.08	3.47

3.2. Cuantificación de H₂O₂ electrogenerado

La cuantificación del H₂O₂ corresponde al análisis previo a los experimentos de degradación, ya que es el reactivo fundamental para el inicio de la reacción de Fenton (Ecuación 7). Por lo tanto, la producción continua de este oxidante garantiza la generación constante de los radicales •OH, que, como se estableció anteriormente, son los encargados de llevar a cabo la degradación de las moléculas.

Los cátodos de difusión de aire al estar elaborados de tela de grafito (material de naturaleza carbonácea), fueron capaces de generar H₂O₂ en concentraciones en el orden de mmol L⁻¹, mismo orden de concentración reportado por Brillas *et al.*, en numerosas publicaciones [20,46,118,119]. En la Figura 9-a) se muestra la generación del oxidante durante 180 min de electrólisis.

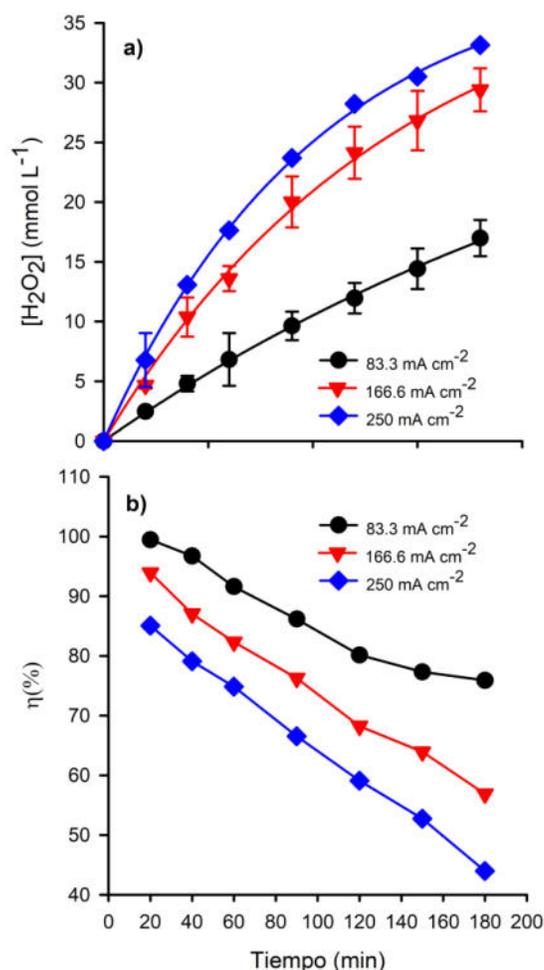
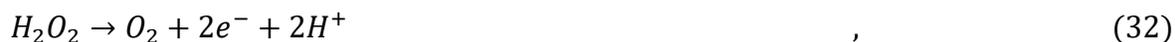


Fig. 9. a) Producción de H₂O₂ por los CDA y b) eficiencia corriente en la producción de H₂O₂; en 0.05 mol L⁻¹ Na₂SO₄, pH 3, $j = 83.3, 166.6$ y 250 mA cm^{-2} .

La electrogeneración del H₂O₂ tuvo lugar cuando el oxígeno suministrado pasó a través de los sitios activos de la tela. En general, esta producción mantiene una tendencia lineal al inicio de la reacción que está en función de la densidad de corriente aplicada (j) y por el transcurso del tiempo de la electrólisis. Cuando la densidad de corriente aumentó a 250 mA cm^{-2} la producción máxima alcanzada fue de $33.15 \text{ mmol L}^{-1}$; sin embargo, la pendiente de la curva tiende a disminuir cuando la producción rebasa los 20 mmol L^{-1} . Esta misma tendencia se presentó cuando la

producción del H₂O₂ rebasó los 17 mmol L⁻¹ a 166.6 mA cm⁻². En esa zona la concentración de H₂O₂ se vuelve independiente de la concentración de oxígeno (concentración desconocida) debido a que la rapidez de su generación alcanza la tasa de su oxidación en el ánodo [120], como lo expresa la Ecuación 32:



Debido a que la electrólisis se lleva a cabo a corriente constante, el sistema electroquímico se vuelve no selectivo y diferentes reacciones tienen lugar en paralelo con la RRO: la primera reacción corresponde a la evolución de hidrógeno con un potencial de $E^\circ = 0$ V/ EEH que compite directamente con la RRO ($E^\circ = + 0.68$ V/ EEH) (Ecuación 33). A su vez, la segunda reacción corresponde a la reducción catódica del H₂O₂ vía $2 e^-$ ($E^\circ = + 1.77$ V/ ENH) (Ecuación 34) generando H₂O como producto final, de acuerdo con lo reportado por Brillas *et al.* (2020). La acumulación de estas dos reacciones tiene un efecto en la eficiencia de corriente (η) que se muestra en la Figura 9-b), en donde se observa una tendencia de disminución con respecto al tiempo y en función de la densidad corriente.



No obstante, la producción se mantiene constante y en una concentración adecuada para la generación de radicales [•]OH según lo reportado por diversos autores [121–124]. En la Tabla 11 se muestra el resumen de la producción de H₂O₂ acumulado.

Tabla 11. Resumen de la producción de H₂O₂ por los CDA de tela de grafito.

j (mA cm ⁻²)	η (%) promedio	H ₂ O ₂ (mmol L ⁻¹)
83.3	86.76	16.99 ± 1.51
166.6	75.51	29.40 ± 4.0
250	65.92	33.15 ± 0.26

$n= 3, \pm$ SD

Por otro lado, la densidad de corriente más baja de 83.3 mA cm⁻², es la que reporta la eficiencia promedio más alta, 86.76% (considerando las eficiencias por unidad de

tiempo), y aunque se sugeriría que a densidades menores se acercara al 100% de la eficiencia; cabe destacar, que el objetivo principal es la obtención del oxidante en cantidades altas para la mayor generación de radicales $\cdot\text{OH}$. De esta manera se aplica una corriente impuesta que acelere y aumente la producción de H_2O_2 sacrificando un poco la eficiencia.

3.3. Evaluación de la degradación en mezcla de OFL, NOR y CIP mediante EF

La degradación de la mezcla de FQs se llevó a cabo una vez comprobada la viabilidad de los cátodos CDA en la generación de H_2O_2 . Previo a la ejecución del proceso EF, se realizaron las pruebas control de adsorción y oxidación anódica con H_2O_2 (OA- H_2O_2). Posteriormente se implementó un diseño de experimentos de superficie de respuesta Box-Benkhen (BB) para la optimización de las condiciones de degradación y mineralización de las FQs.

3.3.1. Pruebas control de degradación

La primer prueba control consistió en determinar el grado de adsorción de las FQs en la tela de carbón y de la celda electroquímica en general. Esta prueba se realizó con todos los elementos experimentales de EF durante 180 min, pero sin la aplicación de corriente. En la Figura 10 se muestran los resultados. Al no presentar un cambio en la concentración inicial de la mezcla, se concluye que la adsorción es despreciable, por lo que no causaría una diferencia importante en la degradación de las FQs. Adicionalmente, con esta prueba se comprobó que ninguno de los compuestos se descompone por hidrólisis. Por el contrario, la efectividad de los radicales quedó demostrada en el proceso electroquímico OA- H_2O_2 , que se muestra en la Figura 11. Dicho proceso consistió en la generación de radicales DDB($\cdot\text{OH}$) y en el aprovechamiento del H_2O_2 *in situ* generado por los CDA; el cual logró el 64.0, 52.1 y 51.2% de degradación del OFL, NOR y CIP respectivamente en 180 min de electrólisis. La cinética de degradación corresponde a una cinética

de pseudo-primer orden con constantes de velocidad (k_{app}) de 0.0054 min^{-1} ($R^2 = 0.9912$), 0.004 min^{-1} ($R^2 = 0.9902$) y 0.003 min^{-1} ($R^2 = 0.995$) para OFL, NOR y CIP. Resulta evidente que, al menos en este proceso inicial, el OFL es la FQ que presenta la degradación más rápida; mientras que el CIP y NOR se degradan lenta y prácticamente a la misma velocidad.

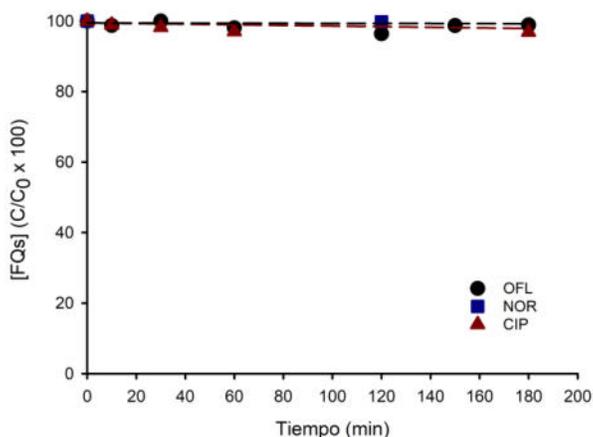


Fig. 10. Prueba de adsorción de OFL, NOR y CIP (30 mg L^{-1}) en la tela de carbón utilizando el CDA; en $0.05 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ a pH 3.

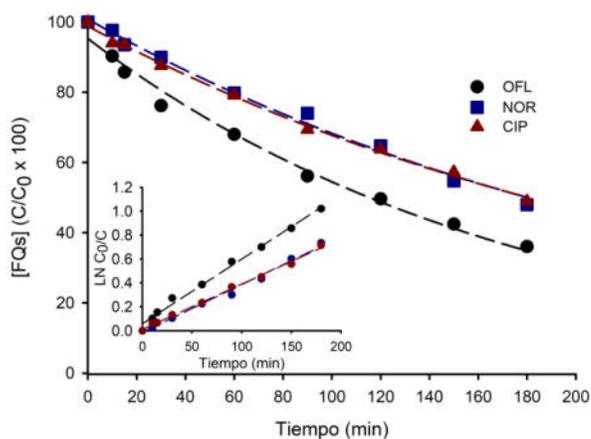


Fig. 11. Degradación de OFL, NOR y CIP ($30 \text{ mg L}^{-1} \text{ c/u}$) mediante $\text{OA-H}_2\text{O}_2$; en $0.05 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ pH 3, aplicando $j = 83.3 \text{ mA cm}^{-2}$. Inserto: cinética de pseudo primer orden del OFL, NOR y CIP, mismas condiciones.

Sin embargo, en el proceso de EF mostrado a continuación en la Figura 12, el orden de la degradación presenta un cambio, además de mostrar una notoria diferencia de velocidad con respecto al proceso anterior; completando el 100% de la degradación en prácticamente 60 min.

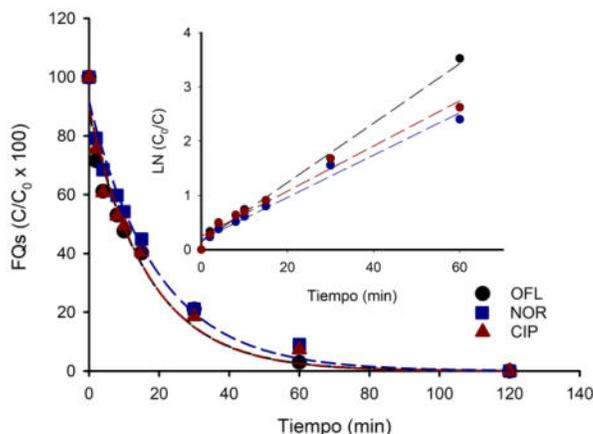


Fig. 12. Degradación de OFL, NOR y CIP ($30 \text{ mg L}^{-1} \text{ c/u}$) mediante EF; en $0.05 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ pH 3, $[\text{Fe}^{2+}] = 0.3 \text{ mmol L}^{-1}$, aplicando $j = 83.3 \text{ mA cm}^{-2}$. Inserto: cinética de pseudo primer orden del OFL, NOR y CIP, mismas condiciones.

La cinética de degradación presentó el mismo comportamiento de pseudo-primer orden con k_{app} de 0.054 min^{-1} ($R^2 = 0.9847$), 0.039 min^{-1} ($R^2 = 0.9751$) y 0.041 min^{-1} ($R^2 = 0.9707$) para OFL, NOR y CIP. La misma tendencia se mantiene, pero a mayor velocidad de degradación. Este aumento de la velocidad de degradación se da tras la adición de Fe^{2+} (0.3 mmol L^{-1}) y en consecuencia a la generación de radicales $\cdot\text{OH}$ en el seno de la disolución. Así mismo, la generación de los radicales DDB($\cdot\text{OH}$) en el ánodo también tienen contribución en la degradación, ya que $\text{OA-H}_2\text{O}_2$ se lleva en paralelo con EF.

Otro aspecto importante para considerar es que el proceso $\text{OA-H}_2\text{O}_2$ depende directamente del transporte de materia hacia el ánodo por convección forzada, debido a la inmovilidad de los radicales DDB($\cdot\text{OH}$) [125,126], por tal motivo la eficiencia de degradación EF es mayor a la del proceso $\text{OA-H}_2\text{O}_2$.

No obstante, la efectividad del proceso EF también se ve reflejada en el análisis del abatimiento del COT, al lograr 27.2% de mineralización con respecto a un 15.03% obtenido en la OA-H₂O₂. Por tal motivo, la OA-H₂O₂ es un proceso utilizado como control, aunque ha sido demostrada su efectividad para lograr el 100% de mineralización de diversos compuestos; sin embargo, para lograr dicho objetivo se requieren tiempos muy prolongados de alrededor 6-8 h de electrólisis, además de altas intensidades o densidades de corriente [127–129].

Cabe mencionar que este análisis del COT indica la cantidad de materia orgánica que ha sido transformada a CO₂, por lo que se considera la concentración de COT inicial de las FQs en mezcla, es decir 54.44 mg L⁻¹. Otros factores que influyen en el proceso son la densidad de corriente (j), la concentración del [Fe²⁺], pH y tiempo de electrólisis [130,131]. Por tal motivo se recomienda la utilización de herramientas estadísticas como lo son los diseños de superficie de respuesta, los cuales permiten determinar las mejores condiciones para una respuesta en específico.

3.4. Evaluación del diseño Box-Behnken para la optimización de la degradación de OFL, NOR, CIP en mezcla mediante EF

El objetivo de este proyecto demanda la combinación secuencial de EF con un tratamiento microbiológico, por lo que fue necesario la implementación de un diseño de experimentos que permitiera determinar las mejores condiciones de degradación y mineralización de EF previo a su acoplamiento con el tratamiento biológico. Para ello, se optó por el diseño Box-Behnken (BB) seleccionando como factores: densidad de corriente (j) (mA cm⁻²), concentración de hierro [Fe²⁺] (mmol L⁻¹) y concentración inicial de las FQs en mezcla [FQs] (mg L⁻¹). Las respuestas seleccionadas de acuerdo con lo deseado fueron: constante de velocidad de degradación individual (k_{app}) y mineralización (%). La matriz de experimentos se muestra a continuación en la Tabla 12.

Tabla 12. Matriz de experimentos del diseño Box-Behnken para la optimización de la degradación y mineralización de OFL, NOR y CIP mediante EF.

Exp.	[Fe ²⁺]	Densidad de corriente, <i>j</i>	Concentración inicial de la mezcla	Respuestas			
	(mmol L ⁻¹)	(mA cm ⁻²)	[FQs] (mg L ⁻¹)	OFL <i>k_{app}</i> (min ⁻¹)	NOR <i>k_{app}</i> (min ⁻¹)	CIP <i>k_{app}</i> (min ⁻¹)	Porcentaje de mineralización en mezcla (%COT)
1	0	1	1	0.09	0.09	0.11	41.75
2	1	1	0	0.08	0.14	0.14	38.70
3	0	-1	1	0.14	0.14	0.10	26.83
4	1	0	-1	0.02	0.03	0.03	20.61
5	-1	-1	0	0.06	0.12	0.12	16.22
6	0	0	0	0.10	0.10	0.10	37.20
7	0	1	-1	0.05	0.04	0.05	27.57
8	1	-1	0	0.12	0.11	0.12	32.98
9	-1	0	1	0.05	0.12	0.06	52.68
10	1	0	1	0.07	0.22	0.24	43.39
11	0	0	0	0.05	0.10	0.08	24.08
12	0	0	0	0.18	0.14	0.14	33.30
13	0	-1	-1	0.04	0.04	0.04	42.40
14	-1	0	-1	0.02	0.02	0.03	10.95
15	-1	1	0	0.02	0.02	0.02	29.77

Basado en los resultados mostrados de la Tabla 12 fueron construidas las gráficas de superficie de respuesta con el análisis estadístico correspondiente. El modelo cuadrático mostrado en las Ecuaciones 35-38 fue determinado para la mejor predicción de la velocidad de reacción (*k_{app}*) de las tres FQs, así como el porcentaje de mineralización en mezcla (% COT).

$$OFL k_{app} = -0.156275 + 1.26836 A - 0.0268 B + 0.0555 C - 0.0726 A^2 - 0.0486 C^2 \quad (30)$$

$$NOR k_{app} = 0.1124 + 0.0270A - 0.0157B + 0.0555C + 0.0332AB + 0.0260AC - 0.0143BC + 0.0039A^2 - 0.0185B^2 - 0.0181C^2 \quad (36)$$

$$CIP k_{app} = 0.1090 + 0.0365A - 0.0063B + 0.0458C + 0.0326AB + 0.0444AC - 0.0022BC + 0.0036A^2 - 0.0113B^2 - 0.0251C^2 \quad (37)$$

$$\%COT = 31.53 + 3.26A - 2.42B + 7.89C - 1.96AB - 4.74AC + 7.44BC - 2.42A^2 + 0.3104B^2 + 2.80C^2 \quad (38)$$

Los modelos de las Ecuaciones 35-38 fueron seleccionados en función de su significancia de acuerdo con el valor de p menor a 0.05. El Análisis de la Varianza (ANOVA) se llevó a cabo para evaluar la precisión y la significancia de los modelos propuestos; los resultados del ANOVA se presentan en las Tablas 13 a 16. Los valores de p para las tres k_{app} resultaron menor que 0.05 lo que indica que el modelo es significativo. Por otro lado, el modelo que representa el porcentaje de mineralización en mezcla (% COT) resultó no significativo con un valor de p mayor a 0.05. Adicionalmente, las cuatro respuestas obtuvieron un valor de p para *falta de ajuste* también mayor 0.05, lo que indicó que no fue necesario el ajuste a un modelo estadístico de mayor precisión. Los coeficientes de determinación (R^2) y R^2 -ajustada demostraron ser satisfactorios y consistentes entre los valores observados y los predichos. Al no ser significativo el modelo para la respuesta % COT se obtuvieron valores de R^2 y R^2 -ajustada no satisfactorios de 0.38 y 0.28 respectivamente. La proximidad de R^2 y R^2 -ajustada indican la significancia de los modelos. La gráfica 13 muestra los valores predichos vs. los actuales.

Tabla 13. ANOVA para modelo cuadrático de la respuesta 1: k_{app} OFL

Fuente	Sum. de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F-valores	p-valores	
Modelo	0.0673	5	0.0135	3.83	0.0387	Significativo
A-[Fe ²⁺]	0.0103	1	0.0103	2.94	0.1207	
B-[FQs]	0.0058	1	0.0058	1.64	0.2321	
C- <i>j</i>	0.0246	1	0.0246	7.01	0.0266	
A ²	0.0196	1	0.0196	5.58	0.0425	
C ²	0.0088	1	0.0088	2.50	0.1483	
Residual	0.0316	9	0.0035			
Falta de ajuste	0.0113	7	0.0016	3.83	0.9730	
Error puro	0.0203	2	0.0102			

Cor. Total 0.0989 14

Tabla 14. ANOVA para modelo cuadrático de la respuesta 2: k_{app} NOR

Fuente	Sum. de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F-valores	p-valores	
Modelo	0.0427909	6	0.0047545	6.9973464	0.0226533	significativo
A-[Fe ²⁺]	0.0058158	1	0.0058158	8.5592236	0.0327992	
B-[FQs]	0.0019751	1	0.0019751	2.9067296	0.1489305	
C-j	0.0246	1	0.024642	36.26603	0.001816	
AB	0.0044	1	0.0044	8.19	0.0211	
AC	0.0027	1	0.0027	5.03	0.0552	
BC	0.0008	1	0.0008	1.52	0.2528	
Residual	0.0033974	5	0.0006795			
Falta de ajuste	0.0025715	3	0.0008572	2.07562213	0.34150474	No significativo
Error puro	0.0008259	2	0.00041296			
Cor Total	0.0461883	14				

Tabla 15. ANOVA para modelo cuadrático de la respuesta 3: k_{app} CIP

Fuente	Sum. de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F-valores	p-valores	
Modelo	0.0427	9	0.0047	4.85	0.0484	significativo
A-[Fe ²⁺]	0.0107	1	0.0107	10.92	0.0214	
B-[FQs]	0.0003	1	0.0003	0.3257	0.5929	
C-j	0.0168	1	0.0168	17.14	0.0090	
AC	0.0079	1	0.0079	11.19	0.0362	
C ²	0.0023	1	0.0023	2.37	0.1840	
Residual	0.0049	5	0.0010			
Falta de ajuste	0.0033	3	0.0011	1.36	0.4508	
Error puro	0.0016	2	0.0008			
Cor Total	0.0476	14				

Tabla 16. ANOVA para modelo cuadrático de la respuesta 4: %COT

Fuente	Sum de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F-valores	p-valores	
Modelo	1011.1718	9	112.35242	0.7393967	0.6736489	No significativo
A-Hierro	84.89045	1	84.89045	0.5586682	0.4884367	
B-FQs	46.8512	1	46.8512	0.30833	0.6026327	
C-j	498.0168	1	498.0168	3.2774727	0.1300089	
AB	15.327225	1	15.327225	0.1008692	0.7636239	
AC	89.775625	1	89.775625	0.5908177	0.4768202	
BC	221.26563	1	221.26563	1.4561598	0.2815142	
A ²	21.616185	1	21.616185	0.1422571	0.7215256	
				6	4	
B ²	0.3557853	1	0.3557853	0.0023414	0.9632800	
				4	5	
C ²	28.956308	1	28.956308	0.1905628	0.6806555	
				7	3	
Residual	759.75737	5	151.95147			
			3			
Falta de ajuste	668.9731	3	222.99103	4.9125479	0.1737706	No significativo
	90.784266		3	9	8	
Error puro		7	45.392133			
	1770.9291	2	3			
		1				
Cor Total		7	4			

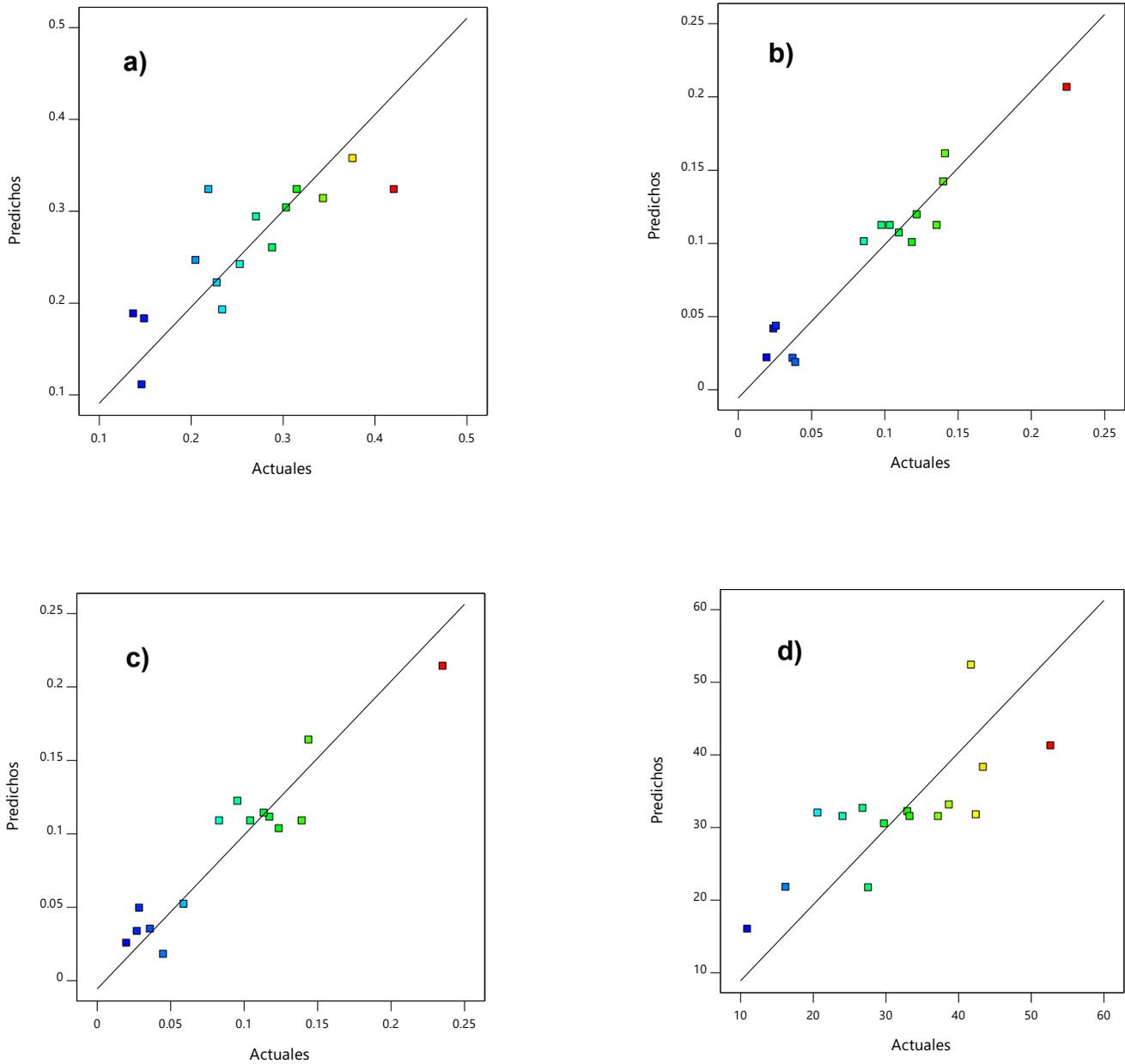


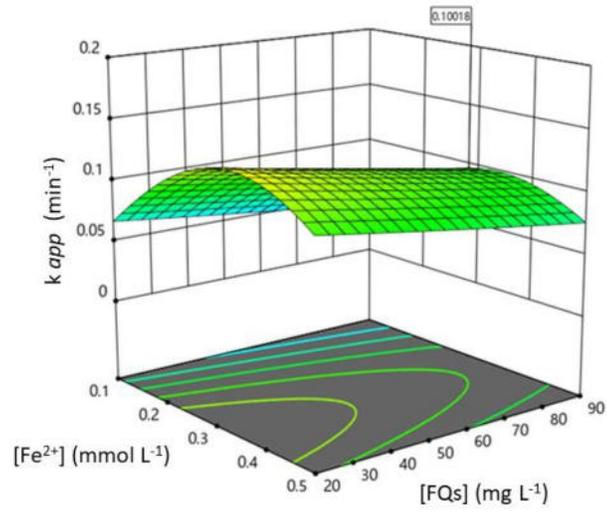
Fig. 13. Valores predichos vs actuales de las respuestas a) k_{app} OFL, b) k_{app} NOR, c) k_{app} CIP y d) %COT de la mezcla FQs.

En la Figura 14 se muestra el gráfico de superficie de respuesta con las mejores condiciones para las cuatro respuestas. La velocidad de degradación para NOR y CIP presentan valores maximizados similares de $k_{app} = 0.21$ y 0.26 min^{-1} respectivamente (Fig. 14-a y b); mientras que el OFL presenta una velocidad de degradación $k_{app} = 0.03 \text{ min}^{-1}$ (Fig. 14-c) cuando la densidad de corriente, la

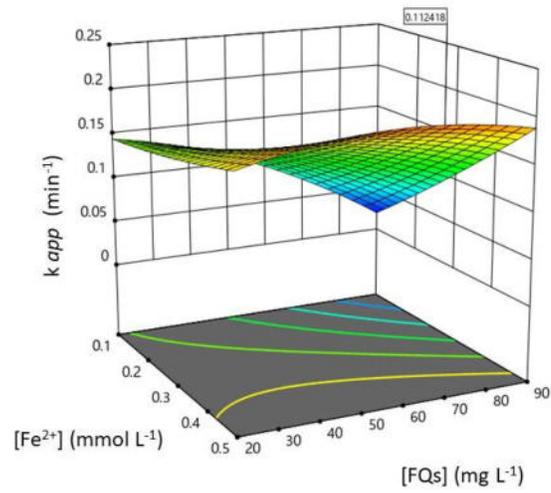
concentración de Fe^{2+} y la concentración inicial de las FQs en mezcla permanecen en los valores de 244.7 mA cm^{-2} , 0.31 mmol L^{-1} y 87.0 mg L^{-1} , respectivamente. Así mismo, bajo las mismas condiciones, se predice un %COT de 50.0% con una deseabilidad de 0.1 (Fig 14-d).

El OFL aparentemente es la molécula más recalcitrante en comparación del NOR y CIP, lo cual puede atribuirse a la complejidad de la molécula que, a pesar de presentar similitudes en su estructura química, es la que posee un grupo adicional de oxazina (Fig.1-a), lo que confiere mayor estabilidad [132]. Por otro lado, la degradación del NOR y CIP prácticamente se lleva a la misma velocidad en todas las condiciones evaluadas, atribuido principalmente a la similitud de ambas moléculas (Fig. 1-b y c). Sin embargo, esto es sólo una posible explicación que requiere un análisis más detallado. Para esto, este tema será tratado más adelante mediante la elucidación del mecanismo de degradación de las tres moléculas en la *sección 3.6.1*.

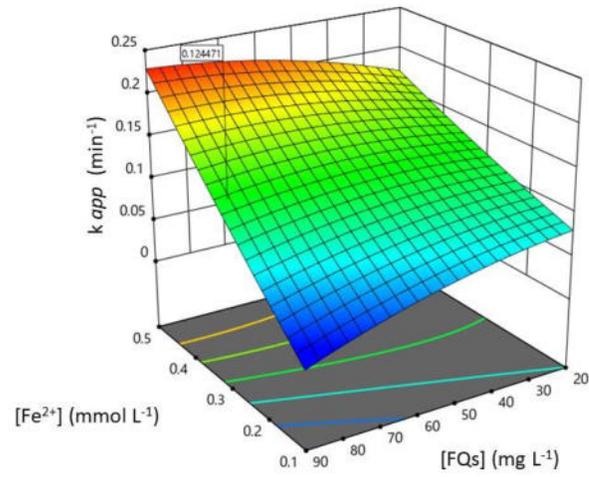
Cabe destacar que el objetivo principal de este diseño de experimentos fue encontrar las condiciones ideales para obtener un porcentaje de mineralización satisfactorio (50-60%) y una rápida degradación de los compuestos dentro del tiempo de los 180 min. Este tiempo se consideró en función del consumo energético que conlleva implementar un tiempo más prolongado [24,108,133].



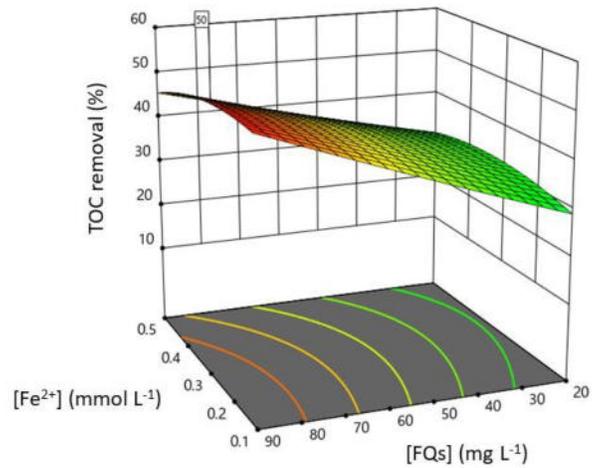
a)



b)



c)



d)

Fig. 14. Superficie de respuesta para a) k_{app} OFL, b) k_{app} NOR, c) k_{app} CIP y d) %COT de la mezcla FQs.

3.5. Evaluación del grado de mineralización de la mezcla de FQs

Las mejores condiciones de operación fueron evaluadas por cuadruplicado para evaluar la eficiencia de mineralización del sistema electroquímico. Dicha eficiencia se expresó como porcentaje de remoción de carbón orgánico total (%COT) y se obtuvo mediante la Ecuación 39:

$$\frac{COT_0}{COT_f} \times 100 \quad (31)$$

Donde COT_0 y COT_f corresponde al carbón orgánico inicial y final respectivamente en mg L^{-1} .

La Figura 15-a muestra el cambio del COT con respecto al tiempo luego de 180 min de electrólisis. El poder oxidativo del proceso EF logró remover el $60.74 \pm 2.17\%$ del COT proveniente de la mezcla de FQs. Por su parte en la Figura 15-b, se muestra el cálculo de la eficiencia de corriente de mineralización (%ECM), que se obtuvo mediante la Ecuación 40.

$$ECM = \frac{nFVs\Delta COT}{4.32 \times 10^7 mIt} \times 100 \quad (40)$$

Donde, ΔCOT corresponde al cambio del COT (mg L^{-1}) con respecto al tiempo (t) en h; n es el número de electrones promedio intercambiados por las tres moléculas en cuestión (95); m es el número de átomos promedio por cada molécula (17); F es la constante de Faraday (96500 C mol^{-1}); I es la intensidad de corriente aplicada y Vs es volumen de la solución en L. Tanto el número de electrones (n), así como el número de átomos de carbono (m), se obtienen de las tres reacciones de mineralización representadas en las Ecuaciones 41 a 43.



En los primeros minutos de electrólisis la transformación de las moléculas a CO₂ se presenta de manera acelerada alcanzado 13.95% en 60 min, como su valor máximo. Con respecto en los minutos finales, a partir de 120 min la velocidad de mineralización presenta una disminución, para culminaren 10.43% a los 180 min. Este comportamiento refleja la estabilidad de los subproductos de degradación, haciendo más lenta la mineralización. Este comportamiento se relaciona con la formación de complejos Fe-carboxilato.

La formación de complejos tiene lugar luego de las rupturas de las moléculas, generando ácidos carboxílicos de cadena corta. Estos ácidos forman complejos con los iones de Fe³⁺ presentes en la solución, y son muy estables a la oxidación por parte de los radicales *OH [20,118]. La formación de estos complejos es muy común en los procesos electro-Fenton en los cuales se reporta una mineralización parcial entre el 40-60% dependiendo de las moléculas degradadas.

En contraparte, la Figura 15-c muestra el costo energético por kg de COT (ECOT). ECOT representa el gasto energético efectuado en la mineralización de la mezcla de FQs y se expresa en kWh. Este cálculo se obtuvo mediante la Ecuación 44.

$$E_{COT} = \frac{VIt}{\Delta COTV_s} \quad (44)$$

Donde V es el voltaje promedio de la celda (V).

En el gráfico se muestra una tendencia que es inversamente proporcional a ECM; por lo tanto, a medida que la ECM alcanza su valor máximo (13.95%) ECOT alcanza su valor mínimo acumulado de ~0.096 kWh en 60 min de electrólisis. Así mismo, el cálculo ECOT indicó que el consumo total acumulado por mineralización de las tres moléculas es de ~0.14 kWh en 180 min. Al ser este último valor acumulado, existe una gran diferencia considerando el consumo logrado en la primera hora de tratamiento.

Por otro lado, es importante conocer si el remanente pretratado con EF presenta un grado de toxicidad que permita dar paso al postratamiento microbiológico. Al considerar el grado de mineralización como parcial (60.74%), se realizó el análisis

de toxicidad mediante ensayos biológicos con *V. fischeri*. La Figura 15-d muestra los resultados obtenidos en función del tiempo de electrólisis, los cuales se expresan como porcentaje de inhibición de bioluminiscencia (%IB). El tiempo inicial ($t = 0$) presenta una IB cercana al 100% debido a la naturaleza antibiótica de los contaminantes; sin embargo, durante los 20 a 60 min hay un aumento estable de 140% de IB. Interesantemente, a los 90 min de electrólisis se presenta una disminución drástica del $14.0 \pm 9.8\%$ manteniéndose prácticamente estable hasta alcanzar $16.0 \pm 4.24\%$ de IB en 180 min. Este comportamiento inicial se le atribuyó a la presencia de compuestos altamente tóxicos que evidentemente son más tóxicos que las moléculas iniciales; sin embargo, fueron rápidamente oxidados por los radicales $\cdot\text{OH}$ apenas a los 90 min.

Shi *et al.* (2015) y López-Velázquez *et al.* (2021), reportaron que efluentes con valores de IB < 10% son considerados de toxicidad baja. Con base en estos estudios se concluye que a partir de los 90 min de tratamiento con EF el remanente de la mezcla de FQs se considera de toxicidad baja. Adicionalmente, estos resultados también son consistentes con lo establecido por la norma mexicana NMX-AA-112-SCFI-2017, la cual establece que una muestra es tóxica cuando rebasa el 10% de IB respecto al blanco.

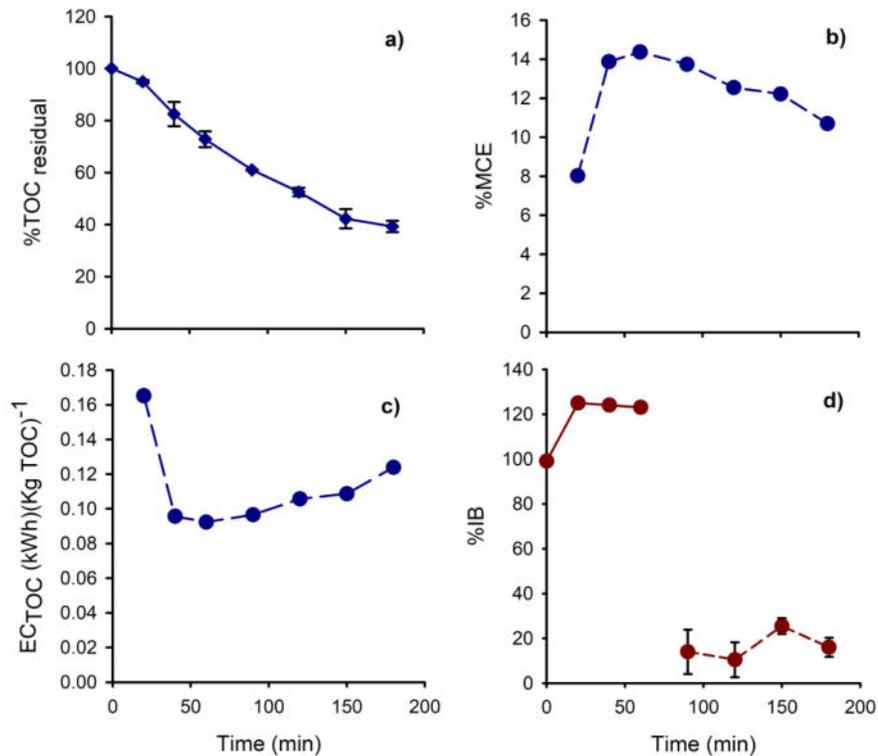


Fig. 15. a) Mineralización de la mezcla de FQs mediante EF, b) eficiencia de corriente de mineralización (%ECM), c) costo energético por kg de COT (ECOT) y d) ensayos de toxicidad con *V. fischeri* expresado como inhibición de la bioluminiscencia (%IB).

Tomando en cuenta lo anterior, es posible llevar el efluente pretratado al postratamiento microbiológico con el objetivo de terminar el proceso de mineralización. Sin embargo, es importante considerar otro aspecto significativo: debido a que la menor inhibición se logra a los 90 min (14%), es posible dar por terminado el experimento justo a la mitad, teniendo en cuenta que en esta etapa de tratamiento la ECM y la ECOT fueron 13.23% y ~0.1 kWh respectivamente, evitando prolongar el tiempo de tratamiento, que a su vez conlleva una baja tasa de mineralización con un incremento del consumo energético acumulado.

El siguiente paso es identificar los compuestos intermedios de degradación durante los primeros minutos de electrólisis, como se explicará a continuación.

3.6. Determinación y cuantificación de intermediarios de degradación

3.6.1. Elucidación del mecanismo de degradación

La elucidación del mecanismo de degradación de cada FQ se realizó el siguiente orden: NOR → CIP → OFL. A cada intermediario se le asignó la letra inicial correspondiente de cada compuesto, por ejemplo: N para norfloxacin, C para ciprofloxacino y O para ofloxacino. La numeración de los intermediarios sigue el orden en que fueron detectados. Así mismo los intermediarios detectados en este trabajo aparecen resaltados en el texto para facilitar la lectura.

Para el NOR, se identificaron 9 intermediarios. La Figura 16 ilustra el mecanismo de degradación del NOR. La defluorinación vía (A) implicó la sustitución de un átomo de flúor con un grupo hidroxilo en la posición C-6, resultando en el producto **N1** (m/z 318) [134–137]. Después del ataque continuo por $\cdot\text{OH}$, **N1** puede originar **N4** (m/z 332) [135] y **N6** (m/z 292.3) [134]. La hidroxilación de **N6** conduce a la formación de **N7** (m/z 308) [134]. Después de la desmetilación en la posición C-3', la vía (B) experimenta la apertura del grupo piperazina, resultando en la formación de **N2** (m/z 294) y **N5** (m/z 236) [136]. En un estudio realizado por Wang *et al.* (2021), se sugirió que **N2** podría formarse mediante la desoxidación de un subproducto no detectado en este trabajo. Además, los autores propusieron dos nuevos intermediarios después de la formación de **N5** a través de reacciones de desmetilación y desaminación, que tampoco fueron detectados. En la vía (C), ocurre una transformación del anillo de quinolona resultando en la formación del subproducto **N3** (m/z 278) en los dobles enlaces de carbono-carbono de la posición C-6 debido al rápido ataque del radical $\cdot\text{OH}$. Los autores citados anteriormente informaron sobre la formación del subproducto m/z 352. Además, Yu *et al.* (2021) han informado sobre la formación del subproducto m/z 336 por esta vía. Ninguno de estos subproductos fue detectado en este trabajo. Finalmente, todos estos compuestos se oxidan aún más para producir iones inorgánicos (NO_3^- , NO_2^- , F^- , NH_4^+), agua, ácidos carboxílicos de cadena corta y CO_2 .

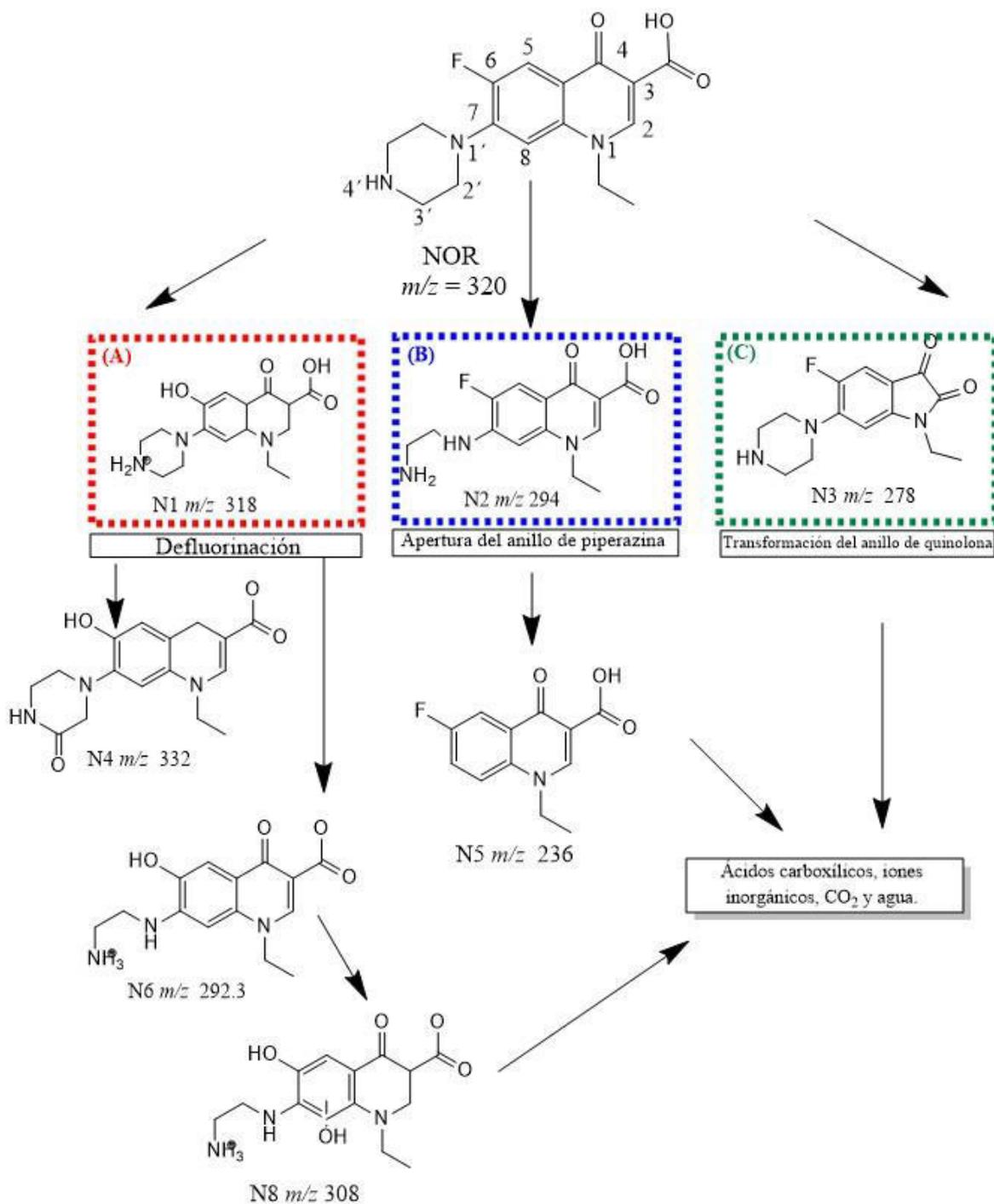


Fig. 16. Mecanismo de degradación del NOR (1000 ng L^{-1}) mediante EF, seguido por LC-MS/MS. $[\text{Fe}^{2+}] = 0.05 \text{ mmol L}^{-1}$, $j = 83.3 \text{ mA cm}^{-2}$; en 0.005 mol L^{-1} de Na_2SO_4 pH 3.

Las tres vías propuestas para la degradación del CIP resultaron en la detección de 11 intermediarios. La Figura 17 ilustra la vía de degradación propuesta. El subproducto **C1** [133,138,139] (m/z 330) se forma cuando OH sustituye a F en la defluorinación vía (A). **C1** luego experimentaría otra reacción de hidroxilación en las posiciones C-2 y C-3, dando lugar a **C5** [139,140] (m/z 262) y **C8** (m/z 362) (Huang et al., 2020). El proceso de la vía (B) comenzaría con la apertura de un anillo de piperazina en la posición C-4' por el ataque del radical de $\cdot\text{OH}$ en el enlace C-N, lo cual generaría el subproducto **C2** (m/z 306). Las reacciones de hidroxilación posteriores conducirían a la oxidación del grupo amino, lo que resultó en la formación de **C6** (m/z 263) [133,138], **C7** (m/z 264) y **C9** (m/z 296) [139]. De manera similar, Huang *et al.* (2020) informaron que las reacciones de hidroxilación del subproducto **C9** en las posiciones C-2 y C-3 podrían producir m/z 294; sin embargo, ninguno de estos compuestos fue detectado en el presente estudio. La transformación de la porción de quinolona a través de la vía (C) es más lenta en el CIP que en el NOR. Esto se debe, probablemente, a que la apertura del anillo ocurre después de la hidroxilación en la posición C-2, lo que llevaría a la liberación de los subproductos **C3** (m/z 348.9) y **C4** (m/z 364) A través del ataque de $\cdot\text{OH}$ en la posición C-6, **C4** forma **C8** (m/z 362). De manera similar, **C9** (m/z 296) puede formarse mediante el ataque de $\cdot\text{OH}$ en la posición C-7. Según un informe de Huang *et al.* (2020), un intermediario no detectado inicia la transición de **C9** a **C10** (m/z 310). Sugerimos una vía en la que **C10** se forma como subproducto a través de la oxidación de **C9**. Esto podría ocurrir mediante la ruptura en el enlace C-2 y C-3, lo que conduciría a una apertura del anillo. En las posiciones C-1 y C-4, **C10** podrían romperse los enlaces C-N y C-O para oxidarse y formar **C11** (m/z 143) [139]. Finalmente, este intermediario podría oxidarse en iones inorgánicos, CO_2 , agua y ácidos carboxílicos de cadena corta.

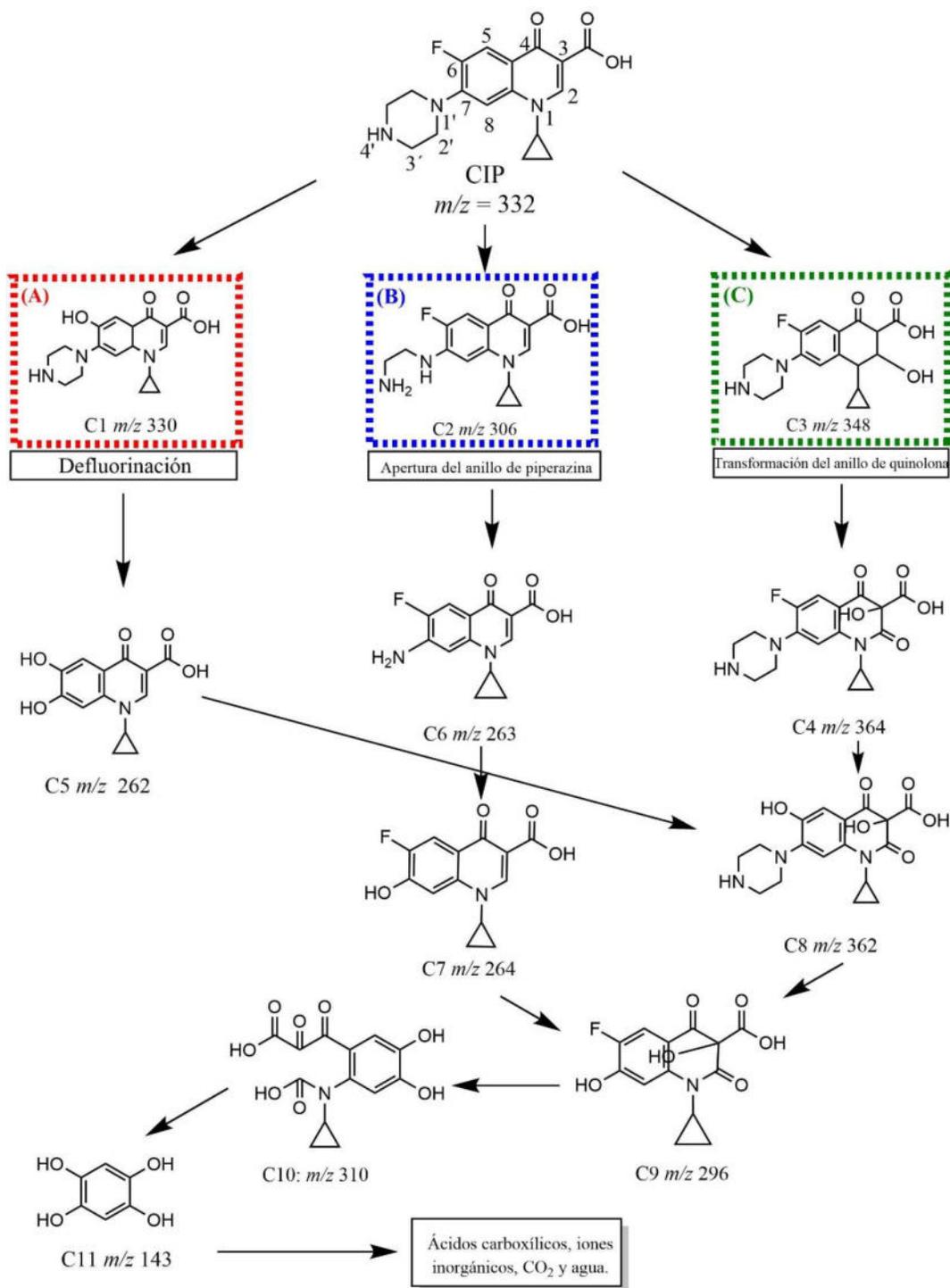


Fig. 17. Mecanismo de degradación del CIP ($1000\ ng\ L^{-1}$) mediante EF, seguido por LC-MS/MS. $[Fe^{2+}] = 0.05\ mmol\ L^{-1}$, $j = 83.3\ mA\ cm^{-2}$; en $0.005\ mol\ L^{-1}$ de Na_2SO_4 pH 3.

El mecanismo de degradación de OFL se ilustra en la Figura 18, que comienza con la ruptura del anillo de piperazina vía (A). El OFL podría transformarse en **O1** (m/z 278) [141,142] mediante la eliminación completa del anillo de piperazina en la posición C-1'. **O1** sería generado por el subproducto no detectado m/z 304 reportado por Liu *et al.* (2019) y Aseman-Bashiz y Sayyaf *et al.* (2021), que resultaría de la oxidación del grupo amino en la posición C-6'. A través de reacciones adicionales de oxidación, **O1** experimenta la ruptura del anillo de oxazina y produciría **O3** (m/z 262). Por otro lado, OFL puede transformarse en **O2** (m/z 317) mediante la descarboxilación, vía (B) en la posición C-3. Durante el estudio, se observó que **O2** experimentó una transformación en **O4** (m/z 315) [141,142] debido al ataque radical de $\cdot\text{OH}$. Sin embargo, se formó un intermediario m/z 333 debido a la adición de OH en la posición C-3' en el grupo de piperazina en **O3**, que no fue detectado en este trabajo. Este intermediario también fue sugerido por Liu *et al.* (2019). En la posición C-4', ocurrió una reacción de desmetilación, dando lugar a la formación de **O5** (m/z 274) y **O6** (m/z 260). La adición de un enlace etileno a **O6** formó **O7** (m/z 232) [141,142]. Este estudio detectó un subproducto **O8** (m/z 247), reportado previamente por Weng *et al.* (2020) [143]. **O8** se habría formado debido a reacciones adicionales de oxidación por radicales $\cdot\text{OH}$, lo que habría llevado a la ruptura de la porción de ciclopropano en **O3**. Como resultado, se propone la oxidación completa en iones inorgánicos, CO_2 , agua y ácido carboxílico de cadena corta.

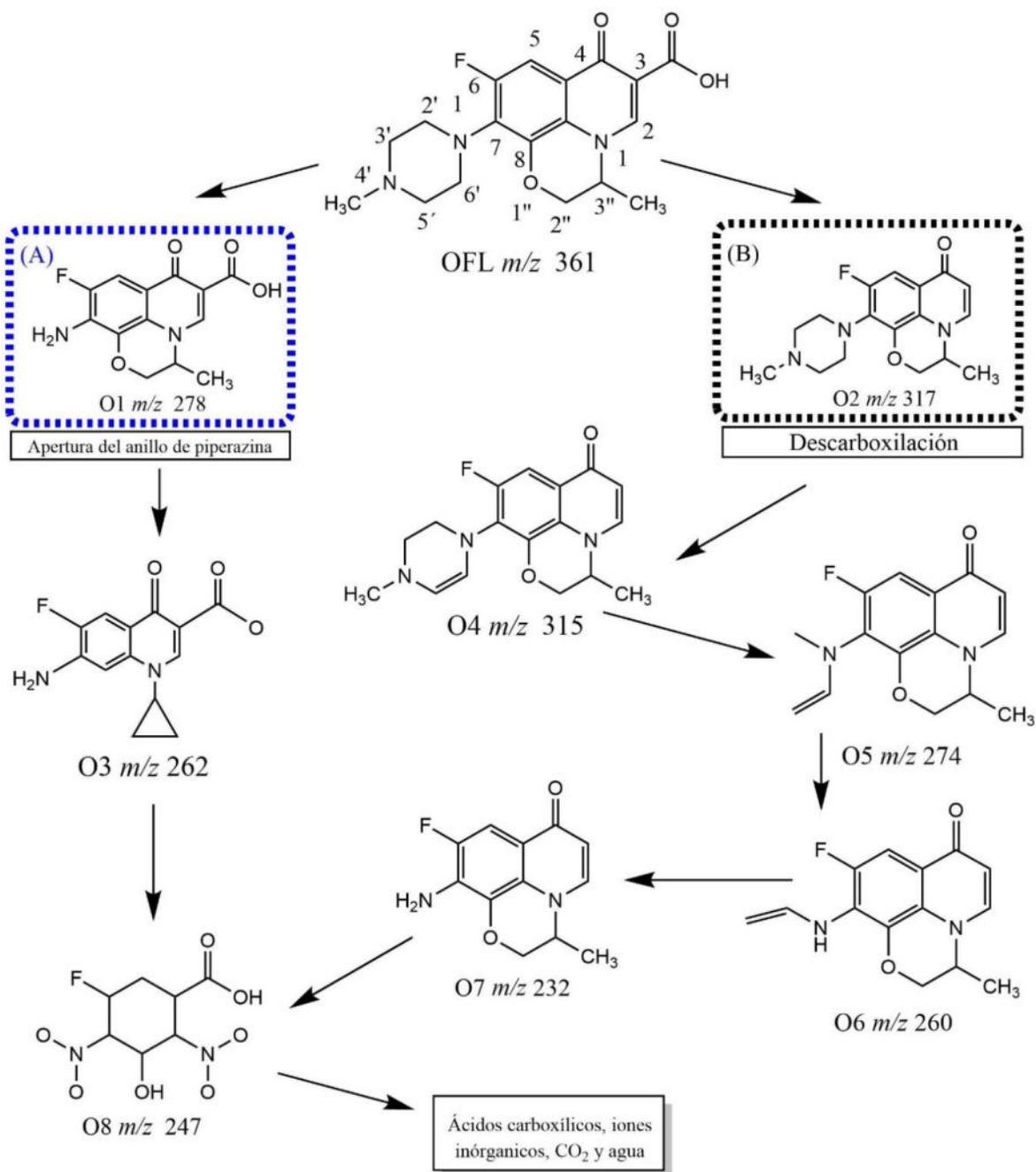


Fig. 18. Mecanismo de degradación del OFL (1000 ng L⁻¹) mediante EF, seguido por LC-MS/MS. [Fe²⁺] = 0.05 mmol L⁻¹, $j = 83.3 \text{ mA cm}^{-2}$; en 0.005 mol L⁻¹ de Na₂SO₄ pH 3.

Tanto NOR y CIP comparten las tres rutas de degradación reportadas por los autores previamente citados en el texto. En las rutas (A) y (B) existen grupos funcionales altamente susceptibles a la oxidación por parte de los radicales $\cdot\text{OH}$ como el átomo de F en la posición C-6 y en anillo de piperazina, posición C-1' en las tres moléculas. Esta susceptibilidad se establece según el cálculo de la densidad de electrones frontera (DEF). Dado que el valor resultante de $\text{DEF}_{\text{HOMO}}^2 + 2\text{DEF}_{\text{LUMO}}^2$ es alto para estos dos sitios, se establece que son fácilmente atacados por los radicales $\cdot\text{OH}$. Sin embargo, la velocidad de degradación del CIP es menor a la del NOR, que puede atribuirse a la presencia del grupo de ciclopropano presente en la posición C-1 del anillo de quinolona. A diferencia, el NOR posee sólo un grupo etilo que eventualmente se oxida con mayor facilidad. Por otro lado, la ruta de (A) en OFL corresponde a la descarboxilación. A pesar de que esta molécula también posee una estructura química similar, la degradación inicia con el desprendimiento del grupo carboxilo en la posición C-3 del anillo de quinolona. El OFL se diferencia del NOR y CIP por la presencia del anillo de oxazina en la posición C-1. Este grupo adicional le puede atribuir cierta estabilidad al F, posiblemente debido a la resonancia o al efecto electro atractor que proporciona el anillo de oxazina, por lo que su degradación se vuelve más lenta. Esta podría ser una explicación aproximada de la recalcitrancia del OFL.

Otro aspecto importante es la formación de ácidos carboxílicos de cadena corta como precursor de la mineralización completa. Estos ácidos fueron detectados mediante exclusión iónica, lo cual se abordará en la siguiente sección.

Cabe resaltar que estos resultados fueron obtenidos llevándose a cabo los experimentos en concentraciones a nivel real (1000 ng L^{-1}); sin embargo, el orden de degradación como sigue: $\text{NOR} \rightarrow \text{CIP} \rightarrow \text{OFL}$, había sido reportado anteriormente en los experimentos con concentraciones en mg L^{-1} , bajo las mejores condiciones de degradación [144].

3.6.2. Ácidos carboxílicos y iones inorgánicos

Como se mencionó anteriormente, los complejos Fe(III)-carboxilato, expresados como $Fe(OOCR)^{2+}$, son los principales responsables de la inhibición de la mineralización completa de la mezcla de las FQs, como ha sido reportado en diversos estudios [20,37,62,145]. Dichos complejos son ácidos carboxílicos de cadena corta (ACC) y dan paso a la conversión de la materia orgánica a CO_2 , agua y iones inorgánicos. Dentro de los diversos intermediarios de degradación, los ACC son fácilmente detectables mediante cromatografía de exclusión iónica y brindan información importante que complementa el mecanismo de degradación propuesto. En este proyecto de investigación se detectaron 5 ACC: OXL ($C_2H_2O_4$), OXM ($C_2H_3NO_3$), MAL (C_4H_4O), FOR (CH_2O_2) y FUM ($C_4H_4O_4$), en concentraciones en el orden $mg\ L^{-1}$. La elección de los ácidos se realizó de acuerdo con lo reportado en literatura reciente [108,126,133,146]. Las estructuras correspondientes a cada ácido se muestran en la Figura 19.

La Figura 19-a muestra la evolución de los 5 ácidos en función del tiempo de electrólisis. Tanto el ácido FOR como el FUM se liberan lentamente en todo el proceso y eventualmente son eliminados por la acción de los radicales $\cdot OH$. No obstante, se presentó mayor liberación de los ácidos MAL y OXL, alcanzando una concentración máxima de 11.93 y 60.13 $mg\ L^{-1}$ en 90 y 120 min respectivamente, con un remanente final de 20.55 y 21.91 $mg\ L^{-1}$. Por su parte el ácido OXM presentó una lenta evolución en los primeros minutos de tratamiento hasta mantenerse constante iniciando los 90 min de electrólisis, y con un remanente final de 4.69 $mg\ L^{-1}$ en 180 min.

En este trabajo, la presencia de los complejos Fe (III)-oxalato, oxamato, y malato en la solución limitaron el proceso de mineralización de la mezcla de FQs debido a su resistencia a la oxidación de los radicales $\cdot OH$. Para solucionar este inconveniente es habitual recurrir al uso de la UV-Vis, en un proceso ampliamente conocido denominado foto electro-Fenton (FEF) [24,46,147]. La acción de la radiación mejora el proceso oxidativo al ejercer una fotólisis de los $Fe(OOCR)^{2+}$, y promover la liberación de los iones Fe^{2+} como se describe en la Ecuación 45:



Sin embargo, en este proyecto no se optó por el proceso foto asistido, ya que se espera que la presencia de estos ácidos en forma de complejos, sean potencialmente biodegradados por los microorganismos.

El balance general de contribución del COT se muestra en la Tabla 17. En ella se expresa la contribución total de estos ácidos al COT, con un total de 37.06% que, sumado al 61.12% de mineralización, se obtiene un total de 98.18% del COT. El 1.82% del COT restante posiblemente esté presente en diversos intermediarios que no lograron ser detectados mediante la cromatografía de fase reversa, o bien, como ACC no detectados por la cromatografía de exclusión iónica.

Por otro lado, en la Figura 19-b se muestra la evolución de los iones F^- y NO_3^- . Ambos iones se encuentran como heteroátomos en las moléculas de las tres FQs. La liberación de estos iones respalda el proceso de mineralización efectiva, ya que confirman el rompimiento de las moléculas. La gráfica muestra la rápida evolución del F^- que se vuelve prácticamente constante a los 60 min, hasta alcanzar una concentración máxima de 8.07 mg L^{-1} en 180 min. Esta concentración final representa el 100% de flúor estequiométrico (5.08 mg L^{-1}) presente en las tres moléculas. Este resultado evidencia el rápido y efectivo rompimiento del enlace C-F del anillo de quinolona (defluorinación). Así mismo, el rompimiento de los enlaces C-N de manera simultánea, promovió la liberación de los iones NO_3^- , cuya evolución se da más rápido, y tiende a mantenerse en incremento durante los 180 min. La máxima concentración acumulada del NO_3^- fue de 13.51 mg L^{-1} que representa tan solo el 27.16% del N total en las tres moléculas. Adicionalmente el ácido OXM contribuye con 6.56% del N total; considerando ambas contribuciones, se obtiene un total de 33.72% del N total (Tabla 17). Posiblemente el 66.28% esté en forma principalmente de NH_4^+ , N_2 , óxidos u otras especies volátiles de N. Cabe mencionar que se descartó la formación de los iones NO_2^- , debido a las altas condiciones oxidantes del sistema.

Tabla 17. Balance total por molécula mineralizada

Especie	Total, residual (mg L ⁻¹)	Aportación al COT (mg L ⁻¹)	Aportación al N total (mg L ⁻¹)	(%)	
				COT	N
MAL	20.55	8.50	NA	16.72	NA
OXM	4.69	1.26	0.73	2.49	6.56
OXL	34.02	5.84	NA	17.85	NA
NO ₃ ⁻	13.51	NA	3.05	NA	27.16
Totales				37.06	33.72

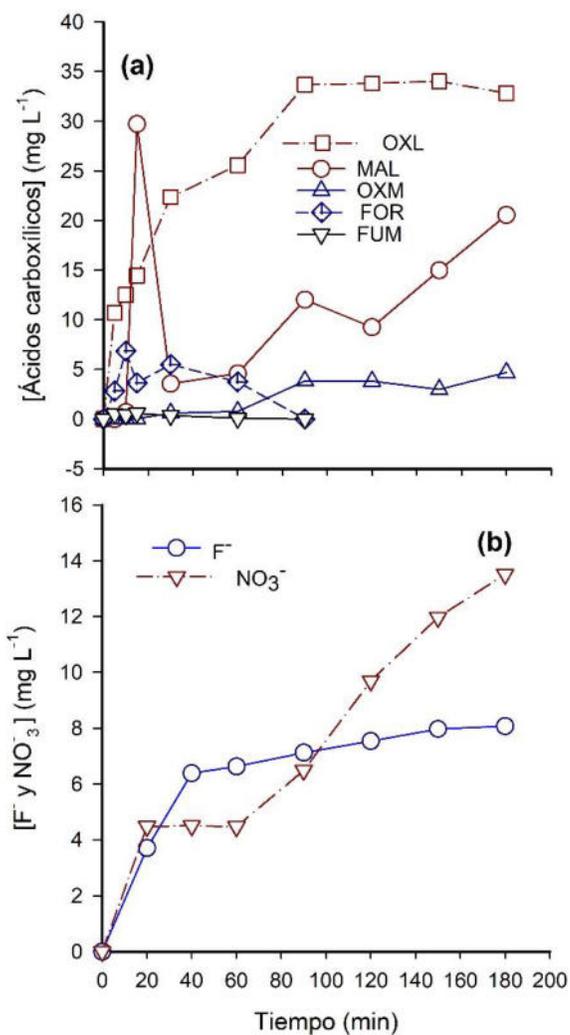


Fig. 19. Evolución en el tiempo de a) ácido oxálico, maleico, oxámico, fórmico y fumárico, y b) iones F⁻ y NO₃⁻; provenientes de las moléculas de OFL, NOR y CIP en el proceso de mineralización mediante EF, bajo condiciones óptimas: [FQs] = 87.0 mg L⁻¹, [Fe²⁺] = 0.31 mmol L⁻¹, $j = 244.7 \text{ mA cm}^{-2}$; en 0.05 mol L⁻¹ de Na₂SO₄ pH 3.

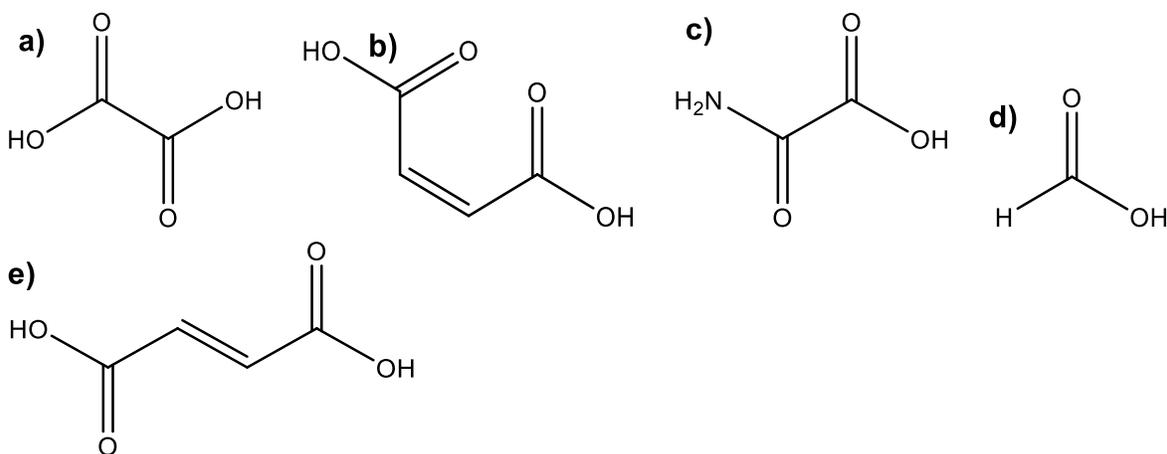


Fig. 20. Estructura química de los ácidos a) OXL ($C_2H_2O_4$), b) MAL ($C_4H_4O_4$) c) OXM ($C_2H_3NO_3$), d) FOR (CH_2O_2) y e) FUM ($C_4H_4O_4$).

3.7. Inhibición de las especies reactivas de oxígeno (prueba de *scavenger*)

Las pruebas de *scavenger* se realizaron después de conocer las condiciones óptimas de operación del pretratamiento EF. La Figura 21, muestra el efecto de los secuestradores con 0.2 mmol L^{-1} de 1,4-benzoquinona (BQ). Cuando BQ está presente, la velocidad de degradación de las tres moléculas se ve afectada, provocando un decremento en la velocidad de degradación (k_{app}) individual de las FQs en el siguiente orden: 0.0367 , 0.0406 , 0.0409 min^{-1} para OFL, NOR y CIP. No obstante, a pesar de este efecto negativo, la degradación de las FQs se completa en 180 min; tiempo mayor comparado con EF sin inhibición (inserto, Fig. 21). Resultados similares a los reportados por Teymori *et al.* (2020) en la degradación del verde de malaquita (1000 mg L^{-1}) mediante EP; obteniendo una ligera inhibición del 94.0% contra el 100% logrado con EF sin inhibición. Este comportamiento se debe a que BQ reacciona directamente con el radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), dejando actuar a los radicales $\bullet OH$ que terminan completando la degradación.

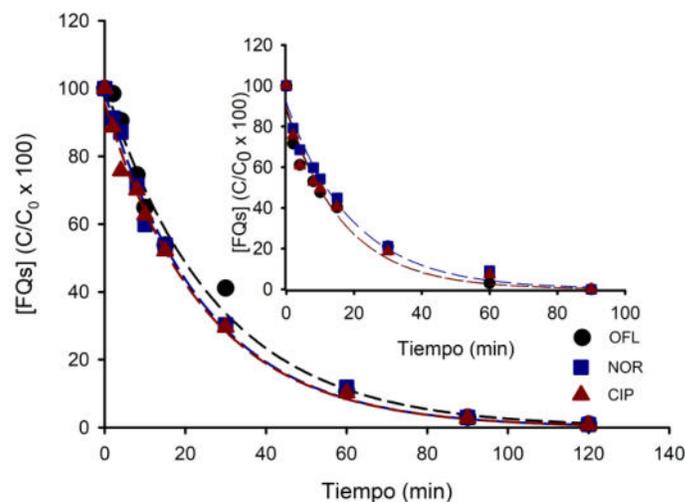


Fig. 21. Prueba de inhibición con 1,4-benzoquinona para el radical $O_2^{\bullet-}$ en la degradación de OFL, NOR y CIP en mezcla (87.0 mg L^{-1}) mediante EF, bajo condiciones óptimas: $[\text{Fe}^{2+}] = 0.31 \text{ mmol L}^{-1}$, $j = 244.7 \text{ mA cm}^{-2}$; en 0.05 mol L^{-1} a pH 3. Inserto: degradación de OFL, NOR, y CIP mediante EF sin inhibición, mismas condiciones.

El radical $O_2^{\bullet-}$ está presente en la solución en equilibrio con la especie hidroperoxil (HO_2^{\bullet}), el cual es producto de una reacción de menos predominancia conocida como Fenton-like. Las Ecuaciones 46 y 47 describen el proceso de formación del radical $O_2^{\bullet-}$:



Asu vez la BQ reacciona con el radical $O_2^{\bullet-}$ ejerciendo un ciclo de óxido-reducción. Dicha interacción induce la formación de la especie radical semiquinona, mostrada en la Ecuación 48 [148–150]:



Otros estudios, como los reportados por Fónagy *et al.* (2021) [148], mencionan que BQ puede interaccionar con los radicales $\cdot OH$ en una serie de reacciones que desencadena la generación del aducto BQ – HO^{\bullet} debido al ataque directo del anillo de benzol (Ecuación 48). Subsecuentemente, después de una serie de reacciones intermedias, la especie radical semiquinona es producida BQ $^{\bullet-}$, como sigue en la

Ecuación 49. Sin embargo, está última reacción se considera despreciable en medio ácido, siendo la reacción de Fenton mucho más predominante.



No obstante, la adición de *ter*-butanol (5%) retrasa aún más la degradación de la mezcla de FQs, como se muestra en la Figura 22. Las velocidades de degradación siguen el orden siguiente: 0.0029, 0.0029 y 0.0032 min⁻¹ para NOR, CIP y OFL respectivamente. Comparado con el proceso OA bajo condiciones óptimas (inserto, Fig. 22), la degradación en presencia del inhibidor sigue siendo más lenta; confirmándose que la mayor contribución en la oxidación de los antibióticos se da por la oxidación de los radicales [•]OH. El TBT inhibe directamente al radical [•]OH, como sigue en la Ecuación 51:

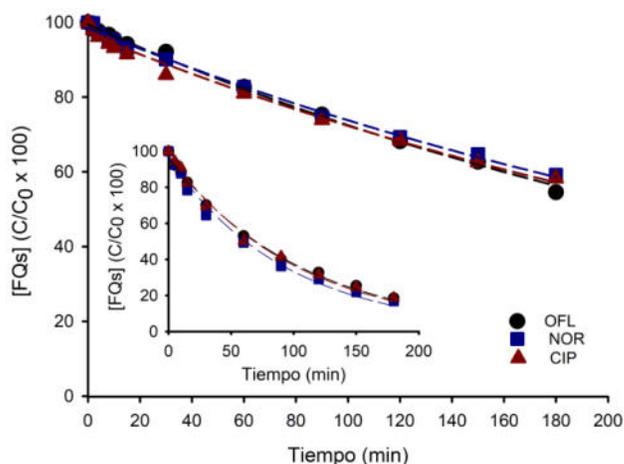


Fig. 22. Prueba de inhibición con *ter*-butanol (5%) para la inhibición del radical [•]OH en la degradación de OFL, NOR y CIP en mezcla (87.0 mg L⁻¹) mediante EF, bajo condiciones óptimas: [Fe²⁺] = 0.31 mmol L⁻¹, *j* = 244.7 mA cm⁻²; en 0.05 mol L⁻¹ a pH 3. Inserto: degradación de OFL, NOR, y CIP mediante OA-H₂O₂ sin inhibición, mismas condiciones.

Cabe resaltar, que la presencia de TBT como inhibidor, no inhibe completamente la degradación, ya que se obtuvo una degradación parcial de 45.5, 40.79 y 41.76% para OFL, NOR y CIP. Esta degradación parcial es atribuida a dos eventos: 1) la

presencia del H_2O_2 residual producto de la RRO (ver *Ecuación 1*), y 2) la oxidación directa de las moléculas en el ánodo.

SEGUNDA PARTE: TRATAMIENTO MICROBIOLÓGICO

En esta segunda parte se describen y discuten los resultados que engloban la parte microbiológica, como postratamiento, en los reactores de lecho empacado descritos anteriormente en el Capítulo 2 de la metodología. Se incluyen los resultados obtenidos de la degradación biológica en el reactor 1 (RE-1), así como también los obtenidos en el acoplamiento de los procesos utilizando el reactor 2 (RE-2). Adicionalmente, se discuten los resultados correspondientes a la remoción abiótica en el reactor de referencia (RE-0).

3.8. Caracterización del soporte microbiano

El soporte microbiano es una parte fundamental para el crecimiento de la biopelícula bacteriana. En este caso, se seleccionó la piedra volcánica tezontle debido a su porosidad, que permitió la correcta difusión del líquido a través del reactor, además de su bajo costo de adquisición. La Tabla 18 muestra las propiedades generales.

Tabla 18. Caracterización física de la piedra volcánica tezontle.

Propiedad	Valor
Diámetro (cm)	0.44 ± 0.48
Masa unitaria (g)	~ 0.0349
Densidad (g mL^{-1})	2.22 ± 1.10
Radio (cm)	0.216
Volumen unitario (cm^3)	0.0423
Retención de agua	(g) 0.34 ± 0.37
	% peso seco 37%
Sólidos suspendidos volátiles (g SSV)	0.022

$n = 5 \pm SD$

El tamaño de partícula del soporte utilizado es un parámetro involucrado en el transporte de materia, que es una de las principales desventajas en este tipo de reactores. Para solventar este inconveniente es necesario contar con un tamaño de partícula lo suficientemente pequeño para facilitar el transporte de materia hacia la biopelícula. La teoría propuesta por Thiele (1939), menciona que el tamaño ideal

para un transporte cercano a la unidad debe ser infinitamente pequeño; es decir, el tamaño ideal para tener un transporte de materia efectivo del 100% deberá ser infinitamente pequeño, lo cual es imposible en condiciones reales. Sin embargo, algunos autores como Sonwani *et al.* (2018) [151], Acuna-Askar *et al.* (2015), Campos-Pineda *et al.* (2012) y Zilouei *et al.* (2006) [152], reportan buenas eficiencias de degradación utilizando tamaños de partícula del soporte de 0.5, 0.45, 0.42, 0.5 y 0.7 cm de diámetro respectivamente. Por lo que se puede anticipar que el diámetro de las piedras (0.44) elegido en este proyecto tendrá buen desempeño en la degradación de los compuestos.

Otro aspecto importante para considerar son los sólidos suspendidos volátiles (SSV), que corresponde a presencia de materia orgánica dentro de los poros de la piedra. En este caso 0.022 g corresponden solamente al ~0.63% del peso seco unitario de la piedra. El bajo contenido de SSV confirma la baja cantidad de materia orgánica suspendida. Por otro lado, el 37% de la piedra está ocupado por agua, que eventualmente será desplazada por la presencia de la biopelícula. Ambas propiedades fueron consideradas en los cálculos de la biomasa, los cuales se discutirán más adelante.

En la Figura 23 se muestra la isoterma de adsorción y desorción de N₂ sobre la piedra considerando el diámetro promedio de la misma. Dicha isoterma presentó un comportamiento acelerado a presiones relativas bajas, con una desorción típica por condensación capilar, regularmente reportado en materiales mesoporosos (2-50 nm). Este tipo de isotermas entran en la categoría tipo IV (IUAPAC). Adicionalmente, mediante la distribución del tamaño de poro promedio se confirma la mesoporosidad de la piedra tezontle (Inserto, Fig.23).

Los métodos de BET y BJH se emplearon para el cálculo de las propiedades texturales, obteniendo un área superficial de 2.15 m² g⁻¹, un tamaño promedio de poro de 9.79 nm, y volumen de poro promedio de 0.0085 cm³ g⁻¹; característico de materiales de naturaleza ígnea de acuerdo con lo reportado Ponce-Lira *et al.*(2013)

[153], quienes analizaron el mismo material, pero con diferente tamaño de partícula (297 y 495 μm).

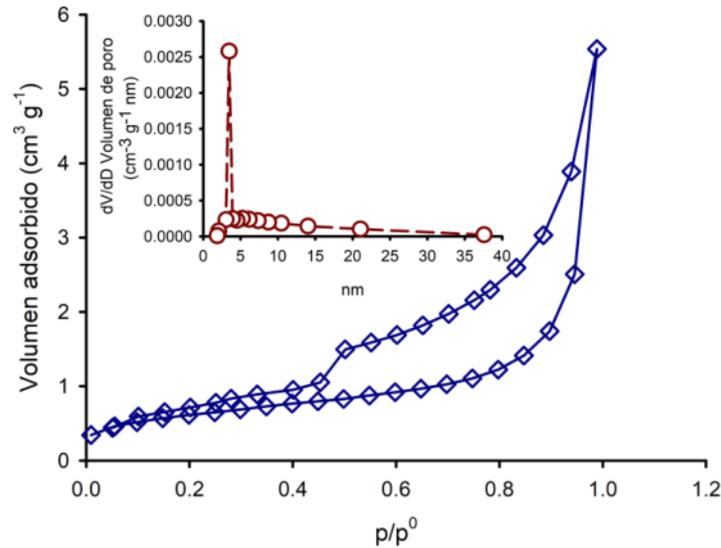


Fig. 23. Isotherma de adsorción y desorción con N_2 a 77K para la caracterización textural de la piedra tezontle. Inserto: distribución del tamaño de poro.

Hasta el momento no se ha reportado el tamaño y/o el área superficial óptima para el desarrollo de la biopelícula; sin embargo, las superficies porosas, como es el caso, le permiten a la bacteria desplazarse mediante la liberación de los exopolisacáridos [154].

3.9. Instalación y operación de los reactores de lecho empacado

Paralelamente a la caracterización del tezontle, se procedió a la instalación y al empaquetamiento de los tres reactores de lecho empacado (REM). La Figura 24 muestra las fotografías de los tres reactores biológicos, cuya caracterización se presentan en la Tabla 19.

Tabla 19. Caracterización de los reactores de lecho empacado.

	RE-0	RE -1	RE-2
Altura (cm)	36.8	36.8	36.8
Distancia entre puertos (cm)	7.62	7.62	7.62
Diámetro interno (cm)	5.06	5.06	5.06
Diámetro externo (cm)	8.02	8.02	8.02
Vol. de alimentación (mL)	500	500	500
Vol. muerto (mL)	400	400	400
Número de piedras	~22031	~22229	~22289

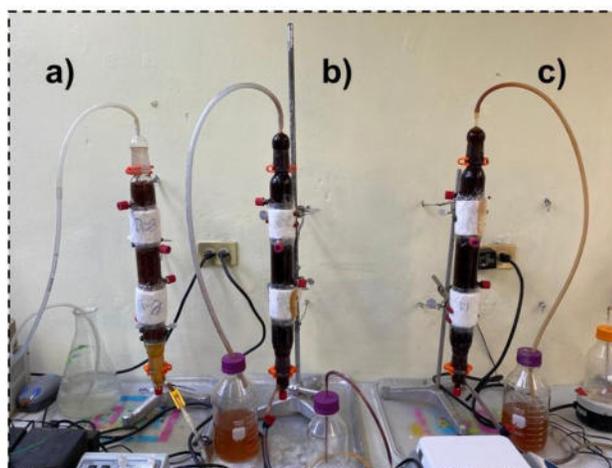


Fig. 24. Reactores biológicos de lecho empacado: a) Reactor de referencia (RE-0), b) reactor de acoplamiento de procesos (RE-2), y c) reactor de degradación biológica (RE-1).

3.10. Aclimatación de la biopelícula con OFL, NOR, y CIP y medición de los parámetros ambientales

El CIP fue el primer sustrato limitante utilizado para la aclimatación de la biopelícula en el RE-1. La aclimatación se llevó a cabo después de los primeros cuatro meses de alimentación constante con medio de cultivo nitrato reductor (MNR). El MNR contiene fuente de carbono fácilmente asimilable (extracto de levadura, acetato de sodio, triptona y glicerol) que estimulan el crecimiento del consorcio bacteriano previamente inoculado. El CIP y las demás FQs en cuestión formaron parte de la fuente de carbono, pero al estar presentes en una concentración menor se convierten en un sustrato limitante (*ver sección 1.1.3.3, Capítulo 1.1*). Para lograr esto es necesario una previa aclimatación, que consiste en la adición en aumento del contaminante objetivo. Con el tiempo, se da paso a la expresión génica que deriva en la producción de enzimas capaces de utilizar a estos compuestos como fuente de carbono y energía. La actividad bacteriana en un principio puede verse afectada debido a la inherente propiedad antimicrobiana de los antibióticos; para esto, el monitoreo de los parámetros ambientales como oxígeno disuelto (OD), potencial óxido reducción (POR) y pH, brindan la evidencia necesaria del estado actual de la comunidad bacteriana que desarrolló la biopelícula. En La Tabla 20 se resumen los resultados los parámetros ambientales.

Tabla 20 Monitoreo de los parámetros ambientales antes y después de la aclimatación con CIP.

Reactor	Parámetro	Después de 4 meses de alimentación con MNR sin CIP		Después de aclimatación con CIP	
		Influente	Efluente	Influente	Efluente
RE-1	pH	7 ± 0.005	7 ± 0.05	8.2 ± 0.002	8.1 ± 0.03
	OD (ppm)	6.4 ± 0.38	0.12 ± 0.23	3.6 ± 0.1	0
	POR (mV)	174.5 ± 5.6	-85.1 ± 2.4	176.6 ± 2.8	-205.1 ± 4.3
RE-2	pH	7 ± 0.005	7 ± 0.02		
	OD (mg L ⁻¹)	6.4 ± 0.38	0.17 ± 0.02		NA
	POR (mV)	174.5 ± 5.6	-101.4 ± 3.3		

n = 3 ± SD

TRH= 2.5

h

La presencia del CIP en el influente provocó un cambio en el OD, al disminuir de 6.4 a 3.6 mg L⁻¹, y eventualmente su concentración disminuyó a 0 mg L⁻¹ en el efluente, debido a la toma de oxígeno por parte de las bacterias presentes.

El POR presentó una disminución de +174.5 a -85.1 mV. Esta disminución a valores negativos en el efluente se considera propia de la desnitrificación [106]. La misma tendencia se presentó después de la aclimatación, pero ahora de +176 a -208 mV; lo que confirma que la nitrato-reducción no fue afectada ante la presencia del antibiótico.

Como análisis general, partiendo del análisis del pH, permitió elucidar que la actividad bacteriana dentro del RE-1 se mantiene constante aun con la presencia del CIP. El pH del influente sufre ligeramente un cambio de 7 a 8.2 debido a la liberación de iones OH⁻ producto de la reacción de la desnitrificación. No obstante, se mantiene sin cambio en el efluente respaldando la información de los otros parámetros.

El RE-2 presentó el mismo comportamiento que el RE-1, pero únicamente se reporta hasta el momento el análisis de los parámetros después de la maduración de la biopelícula. La aclimatación del RE-2 se realizará con los subproductos de la degradación de la mezcla de FQs en el tratamiento electroquímico.

Cabe destacar que tanto NOR y OFL fueron añadidos a la misma concentración (10, 30, 60, 100 mg L⁻¹) para la correspondiente aclimatación de la biopelícula previo a la evaluación de la cinética de degradación biológica, cuyos resultados se discuten a continuación.

3.11. Evaluación de la degradación biológica del ciprofloxacino, ofloxacino y norfloxacino

3.11.1. Cinética bifásica de primer orden: degradación individual

La cinética bifásica de primer orden (CBPO) fue evaluada a seis concentraciones conocidas en el influente: 5, 15, 30, 50, 70, 90 mg L⁻¹. La Ecuación 52 describe el modelo utilizado:

$$S_t = S_1 \exp(K_0 t) + S_2 \exp(K_{02} t) \quad (40)$$

Donde S_t , es la concentración de sustrato final por puerto del reactor (mg L^{-1}), S_1 es la concentración del sustrato a $t = 0$ (mg L^{-1}), S_2 es la concentración del sustrato de la fase lenta de degradación (mg L^{-1}), K_0 y K_{02} , es la constante cinética en las dos fases, lenta y rápida respectivamente (h^{-1}); y t corresponde a cualquier tiempo de monitoreo. En este proyecto al ser un tiempo de retención hidráulico (TRH) constante (1.15 h), t fue reemplazado por la altura del reactor (cm) dividido en 6 segmentos.

La Figura 25 muestra la aplicación del modelo en la degradación biológica del CIP. En el gráfico se muestra una aparente remoción biológica en función del aumento de la concentración; sin embargo, este cambio no se muestra hasta aumentar la concentración de 5 a 15 mg L^{-1} . Posteriormente, cuando la concentración aumenta de 30 a 90 mg L^{-1} , se muestra un ligero cambio en la velocidad de remoción, obteniendo constantes de ($K_1 = 0.0622$), ($K_1 = 0.0548$), ($K_1 = 0.0539$) y ($K_1 = 0.0604$) para 30, 50, 70 y 90 mg L^{-1} respectivamente. Interesantemente, cuando la concentración del CIP se encuentra en su valor más bajo, menor es el intercambio, así como el porcentaje de remoción (48.12%); y al presentarse en su concentración más alta, el intercambio tiene el mismo efecto, con el mayor porcentaje de remoción (90.75%) a 90 mg L^{-1} . Este comportamiento es atribuido a la transferencia de masa, la cual se ve afectada a bajas concentraciones de sustrato, de acuerdo con lo reportado por Bergen et al. (2021) quienes obtuvieron resultados similares en la evaluación de la degradación biológica de una mezcla de compuestos farmacéuticos.

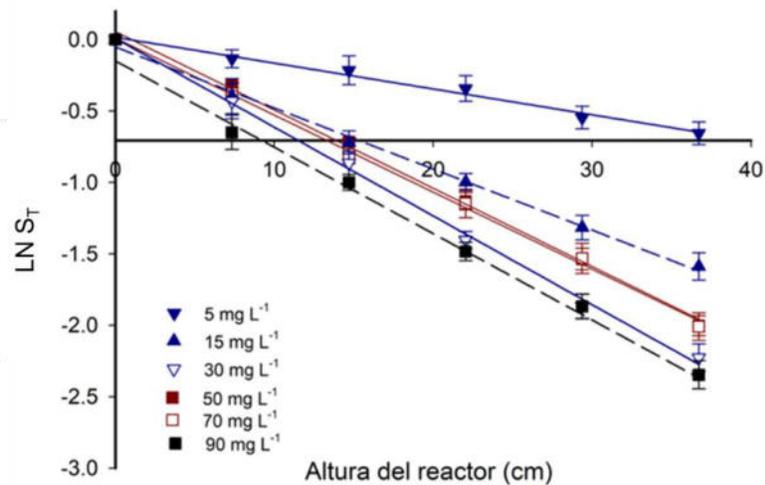


Fig. 25. Cinética bifásica de primer orden de la degradación biológica del ciprofloxacino en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.

Por otro lado, los parámetros ambientales fueron evaluados en función de la concentración del CIP. Dichos resultados se muestran en la Tabla 21. La misma tendencia se mantiene en todas las concentraciones evaluadas. El pH no presenta un cambio aparente tanto en el influente como el efluente; no obstante, el POR es el parámetro que tiende a cambiar significativamente de influente a efluente, debido a la remoción de la materia orgánica fácilmente oxidable, que incluye al CIP. Adicionalmente, el OD tiende a disminuirse a 0 mg L⁻¹ debido a las condiciones microaerofílicas en el RE-1. En conclusión, los parámetros ambientales confirmaron condiciones microbianas estables en presencia del CIP como sustrato limitante. La gráfica de la Figura 26 muestra el comportamiento del OD y POR en función de la concentración del CIP.

Tabla 21. Condiciones del reactor de lecho empacado RE-1 en la biodegradación del CIP.

Parámetro	Concentraciones utilizadas (mg L ⁻¹)					
	5	15	30	50	70	90
OD (mg L ⁻¹)						
Influente	3.3	3.2	3.6	3.2	4.31	3.86

Efluente	0.5	0.5	0	0.4	0.55	0
POR (mV)						
Influente	126.3	135.2	176.6	135.1	152.1	120.3
Efluente	-52	-70.6	-75.1	-60.8	-61.2	-80.6
pH						
Influente	7.2	8.2	7.0	7.41	7.39	6.86
Efluente	6.86	7.2	7.0	7.78	7.78	6.98
Biodegradación (%)	48.12	79.59	88.84	86.6	86.51	90.75
CIBPO k_0 (h^{-1}) *	0.0180	0.0427	0.0622	0.0542	0.0539	0.0604
R^2	(0.9933)	(0.9976)	(0.9976)	(0.9997)	(0.9983)	(0.9991)

*cinética de degradación biológica de primer orden, TRH = 1.15 h

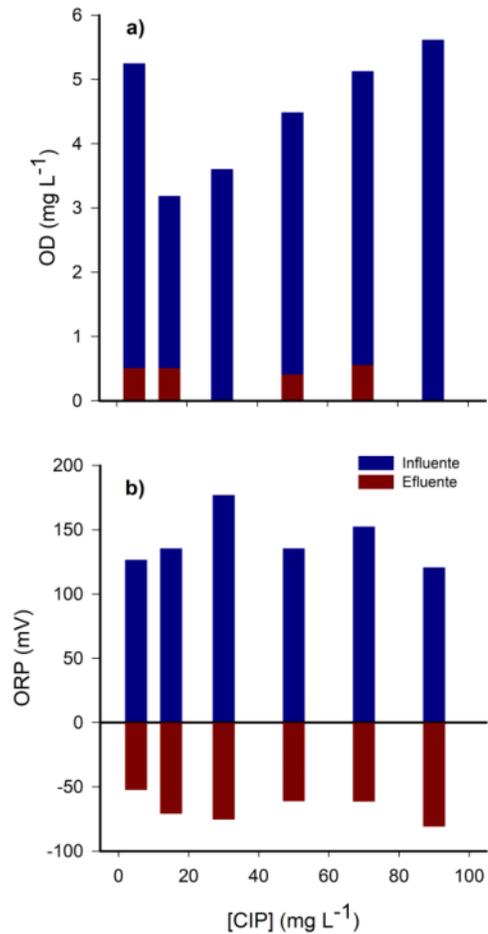


Fig. 26. Monitoreo de a) OD y b) POR, en función de la concentración del CIP en el RE-1. TRH = 1.15 h.

El OFL fue el segundo sustrato evaluado para la degradación biológica agregado a las mismas concentraciones que el CIP. Los resultados del modelo bifásico para OFL se muestran en la Figura 27. El mismo comportamiento se muestra a la concentración de 5 mg L⁻¹, obteniéndose la menor tasa de remoción ($K_1 = 0.0622$) con la menor eficiencia de remoción (61%). Sin embargo, el sistema microbiológico mostró un aumento en la remoción al elevar la concentración del OFL de 15 a 50 mg L⁻¹, con las siguientes tasas de remoción ($K_1 = 0.0435$), ($K_1 = 0.0412$), ($K_1 = -0.0662$), para 15, 30, y 50 mg L⁻¹. Se puede notar un cambio lento en la degradación de 5 a 30 mg L⁻¹, y al aumentar la concentración a 50 mg L⁻¹ un incremento acelerado en la tasa de remoción se produce, logrando la mayor eficiencia del 91.20%. Posteriormente una disminución en la remoción se presenta cuando la concentración de OFL en el influente es de 70 mg L⁻¹ y, aún más, a 90 mg L⁻¹. Esto se le atribuye a una posible inhibición por saturación, provocado por la aparente recalcitrancia del OFL a altas concentraciones.

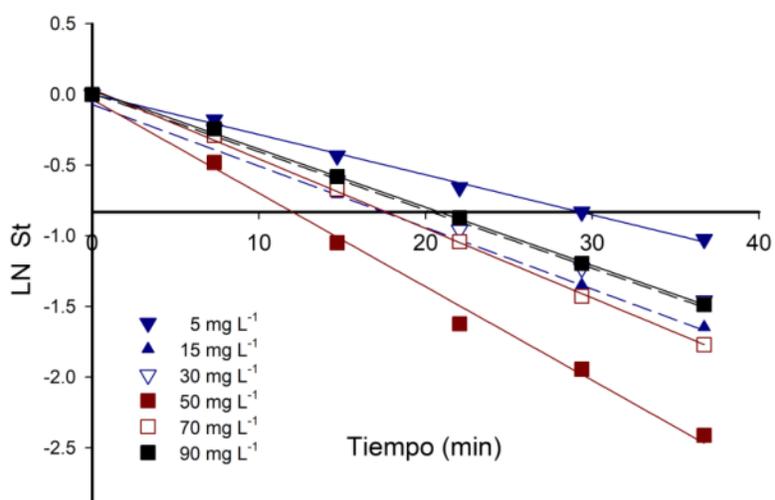


Fig. 27. Cinética bifásica de primer orden de la degradación biológica del ofloxacino en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.

Aunque en apariencia las velocidades de remoción son más altas que las del CIP, el sistema es capaz de remover al CIP incluso a la más alta concentración evaluada en esta investigación. Por tal motivo, este comportamiento es atribuido a una aclimatación más efectiva al CIP con respecto al OFL.

Los mismos parámetros ambientales fueron evaluados en función de las cinéticas de degradación biológica. Tales resultados se muestran a continuación en la Tabla 22.

Tabla 22. Condiciones del reactor de lecho empacado RE-1 en la biodegradación del OFL.

Parámetro	Concentraciones utilizadas (mg L^{-1})					
	5	15	30	50	70	90
OD (mg L^{-1})						
Influente	5.24	3.18	3.6	4.48	5.12	5.61
Efluente	0.18	0	0	0.32	0.78	0.88
POR (mV)						
Influente	126.6	121.2	125.5	126.7	151.7	138.1
Efluente	-47.5	-31.9	-60.4	-65.1	-50.5	-71.1
pH						
Influente	5.81	6.0	7.44	7.19	6.22	6.29
Efluente	7.21	6.19	7.15	7.21	6.15	7.0
Biodegradación (%)	64.11	80.73	76.76	91.04	77.41	80.0
CIBPO k_0 (h^{-1}) *	0.0284	0.0435	0.0412	0.0662	0.0539	0.0412
R^2	(0.9983)	(0.9962)	(0.9973)	(0.9970)	(0.9993)	(0.9994)

Existe un cambio aparente en el caso del POR, ya que este parámetro se mantuvo con un promedio de 54.51 ± 14.13 mV en el efluente, el cual es diferente a lo reportado en las cinéticas con el CIP, cuyo promedio es de 66.71 ± 10.58 mV. Cabe destacar que lo reportado con OFL como sustrato es lo más cercano a una respiración por desnitrificación (50 a -50 mV). Posiblemente la comunidad bacteriana haya presentado mayor estabilidad en presencia del OFL a diferencia

del CIP, aunque esta quizá no dependa del tipo de sustrato, sino más bien del tiempo de aclimatación a los dos sustratos. No se puede saber, hasta el momento, los detalles de este comportamiento, por lo que se requiere mayor investigación. Por su parte, la toma de oxígeno se mantiene en la misma tendencia al reducirse prácticamente a 0 mg L⁻¹ en todas las concentraciones evaluadas. De la misma manera, en la Figura 28 se muestra el comportamiento de estos dos parámetros en función de la concentración del OFL. Adicionalmente, el pH no presenta cambio significativo tanto en el influente como en el efluente, manteniéndose siempre las condiciones de neutralidad en el RE-1.

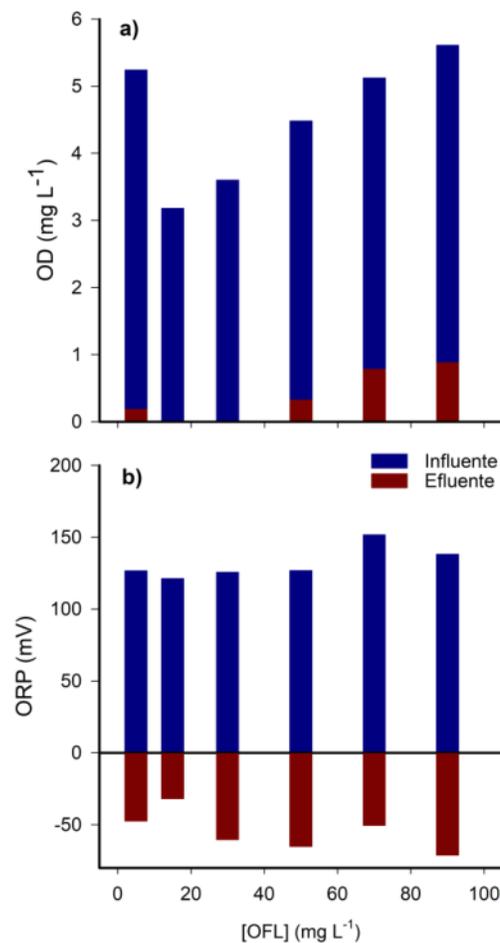


Fig. 28. Monitoreo de a) OD y b) POR, en función de la concentración del OFL el RE-1.

TRH = 1.15 h.

La siguiente cinética de remoción biológica corresponde al NOR, cuyos resultados se muestran en la Figura 29. En este tercer caso, se presenta la misma tendencia al aumentar la concentración a 30 mg L⁻¹; sin embargo, la degradación es ligeramente más lenta en promedio que en los dos casos anteriores, sin alcanzar una eficiencia de remoción cercana al 90%. Posiblemente, esto puede ser atribuido a una mayor recalcitrancia que limita el intercambio sustrato-biopelícula.

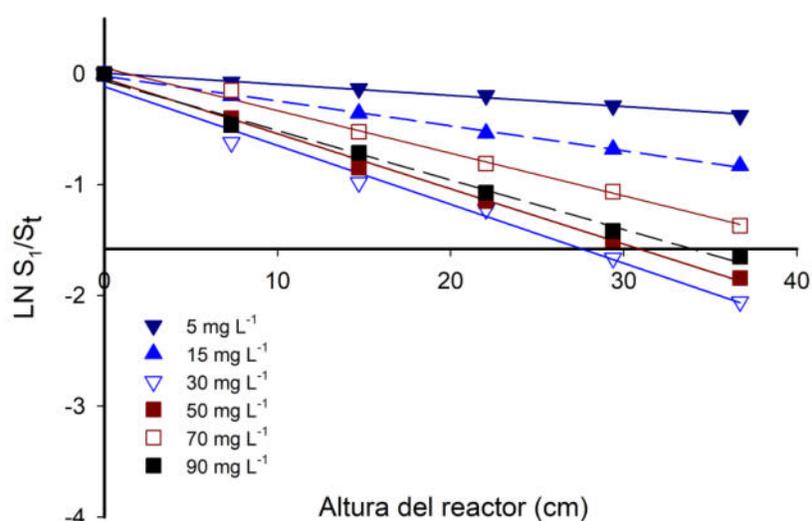


Fig. 29. Cinética bifásica de primer orden de la degradación biológica del norfloxacino en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.

Un efecto interesante ocurrió justo al incrementar la concentración de 50 a 90 mg L⁻¹, en donde se presenta una caída en la remoción desde 87.06% a 80.03% con las siguientes tasas de remoción de ($K_1 = 0.0498$), ($K_1 = 0.0385$), ($K_1 = 0.0447$). A partir de este rango de concentraciones (50-90 mg L⁻¹) las velocidades de remoción tienden a disminuirse aún más. En comparación con OFL, el NOR presenta mayor recalcitrancia. Es complicado determinar la razón principal de este efecto, ya que puede deberse a diversos factores tales como mayor tiempo de aclimatación,

efectos físicos en el reactor (turbulencia), metabolitos tóxicos, entre otros. La Tabla 23 muestra el resumen de los datos cinéticos.

Tabla 23. Condiciones del reactor de lecho empacado RE-1 en la biodegradación del NOR.

Parámetro	Concentraciones utilizadas (mg L^{-1})					
	5	15	30	50	70	90
OD (mg L^{-1})						
Influente	0.28	1.57	3.6	1.68	1.80	0.48
Efluente	0	0	0	0	0	0
POR (mV)						
Influente	128.0	166.1	176.6	112	124.2	114.6
Efluente	-73	-72.2	-75.1	-85.5	-82.7	-81.4
pH						
Influente	6.90	7.1	7.0	6.55	6.70	6.59
Efluente	6.49	6.9	7.0	8.85	7.27	7.22
Biodegradación (%)	31.33	56.38	87.21	84.17	74.61	80.81
CIBPO k_0 (h^{-1})*	0.0101	0.0225	0.0531	0.0498	0.0385	0.0447
R^2	(0.9962)	(0.9987)	(0.9930)	(0.9982)	(0.9965)	(0.9963)

La muy estrecha similitud de los tres antibióticos refleja la baja variación en los parámetros ambientales, en donde se presentó el mismo comportamiento anteriormente discutido, para las seis cinéticas evaluadas. En la Figura 30 se muestran nuevamente los parámetros ambientales evaluados en la degradación biológica del NOR. Una disminución del OD en el influente se presentó con un promedio de 1.82 mg L^{-1} a diferencia de lo observado en las cinéticas con los dos antibióticos anteriores. Con base en esto, se puede inferir que, otra de las posibles razones por las cuales la degradación del NOR es más lenta que los antibióticos anteriores sean por causa de esta disminución en el OD. Aunque se desconozca con certeza el porqué de esta disminución, no se descarta que la degradación biológica de las FQs puede estarse llevando a cabo no sólo por una comunidad

bacteriana anaerobia, sino con una contribución por parte de otra comunidad aerobia.

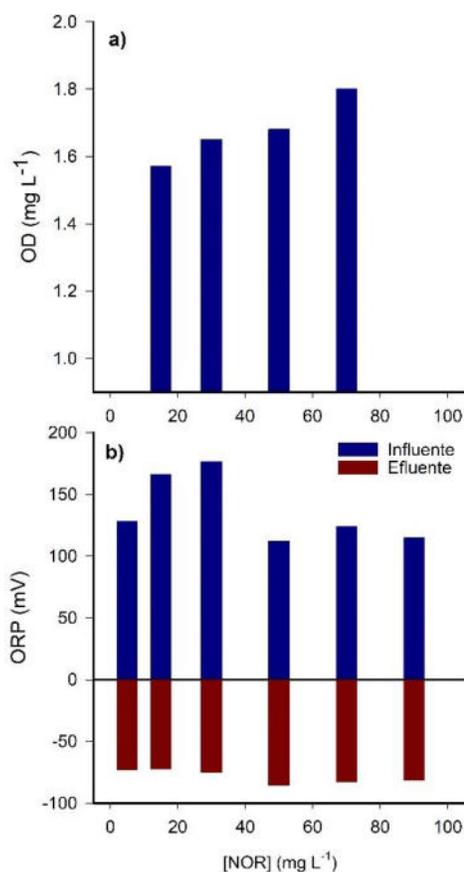


Fig. 30. Monitoreo de a) OD y b) POR, en función de la concentración del OFL el RE-1. TRH = 1.15 h.

3.11.2. Cinética bifásica de primer orden: degradación en mezcla

Como parte de las pruebas control, la evaluación de la degradación biológica en mezcla se realizó con las mismas condiciones que los experimentos anteriores. La concentración inicial en el influente mantuvo en la proporción 1:1:1 para cada

compuesto. La Figura 31 muestra los resultados obtenidos en la CBPO para la mezcla de FQs. La degradación más lenta le corresponde al NOR cuando la concentración se mantiene en el rango de 5 a 30 mg L⁻¹; sin embargo, la tasa de degradación de este compuesto tiende a aumentar cuando la concentración inicial de la mezcla alcanza los 50 mg L⁻¹ hasta llegar a los 90 mg L⁻¹. Hasta este punto la tasa de degradación de las tres FQs no presenta un cambio significativo, logrando eficiencias de 83.49, 85.66, 84.88% para NOR, OFL y CIP, respectivamente. Esta capacidad del tratamiento biológico para adaptarse rápidamente a estos tres compuestos se le atribuye principalmente a la estrecha similitud de las moléculas (Shu et al., 2021).

El CIP fue el compuesto con la mayor tasa de degradación promedio de $k_0 = 0.0455$ h⁻¹; mientras que para el OFL y NOR se obtuvo $k_0 = 0.0385$ y 0.034 h⁻¹ respectivamente. En esta etapa los resultados son consistentes con los obtenidos en la degradación individual.

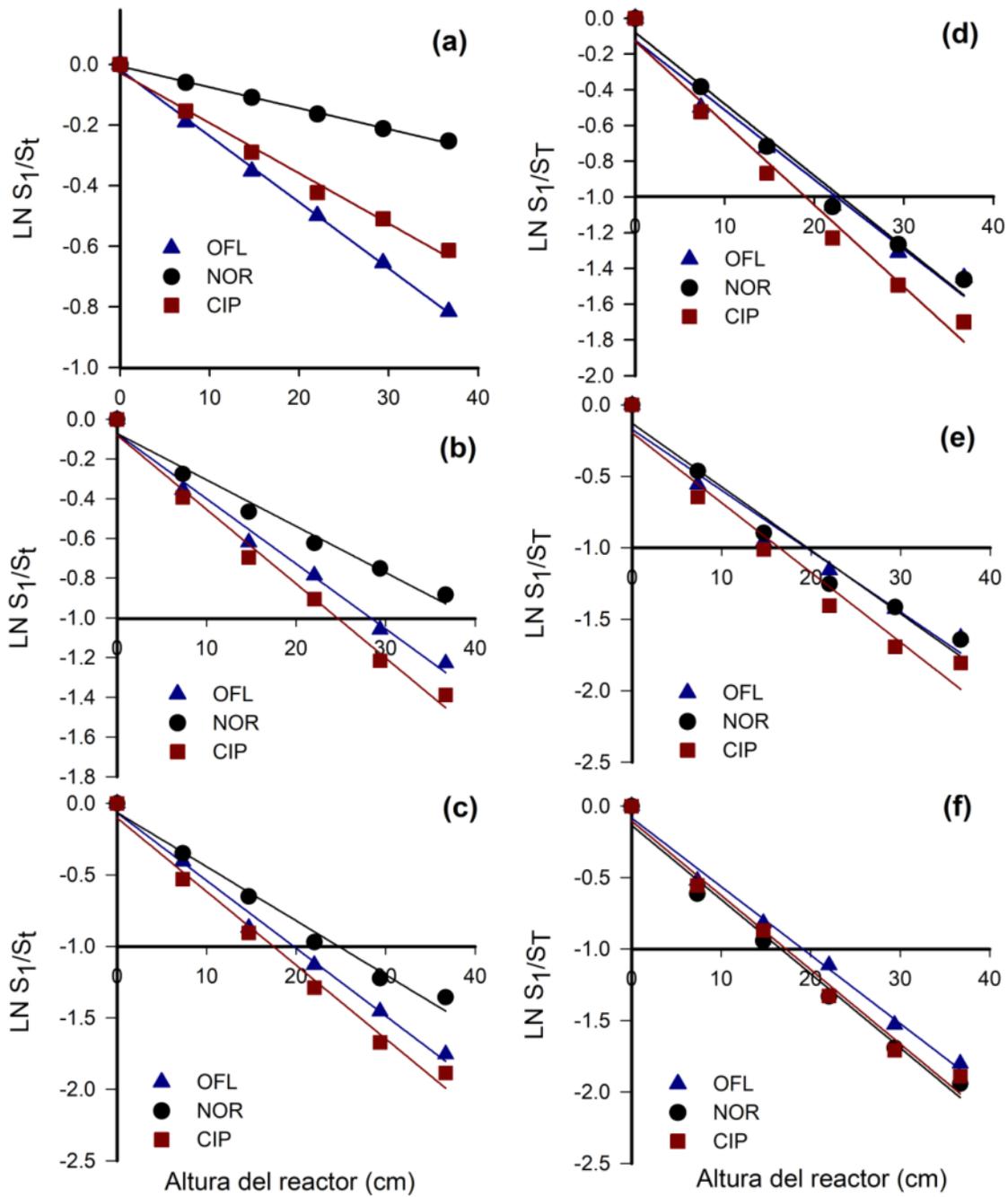


Fig. 31. Cinética bifásica de primer orden de la degradación biológica de norfloxacino, ofloxacino y ciprofloxacino en mezcla (1:1:1) a diferentes concentraciones en el influente de a) 5 mg L⁻¹; b) 15 mg L⁻¹; c) 30 mg L⁻¹; d) 50 mg L⁻¹; e) 70 mg L⁻¹; y f) 90 mg L⁻¹ en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.

Por otro lado, los parámetros ambientales no mostraron cambios significativos con la adición de los compuestos en mezcla, lo que indica que la comunidad bacteriana presente en el RE-1 no se vio afectada por la presencia de las tres FQs como sustrato limitante. Los resultados de la evaluación de los parámetros ambientales, así como los resultados de la biodegradación de las FQs en mezcla, se resumen en más adelante en la Tabla 25.

Los resultados experimentales indicaron que el NOR tuvo la tasa de degradación más baja tanto cuando se degradó de manera individual como en mezcla con otros compuestos. Sin embargo, su eficiencia de degradación fue mayor cuando la concentración en el influente alcanzó los 90 mg L⁻¹. Es decir, la supuesta resistencia a la degradación solo se observó a concentraciones inferiores a 90 mg L⁻¹. Estudios anteriores, como el de de Souza Santos *et al.* (2014) [156] también han informado una alta resistencia del NOR (15 mg L⁻¹) en tratamientos biológicos aeróbicos, con solo un 13% de biodegradación. Dado que el NOR es un antibiótico de amplio espectro contra bacterias aeróbicas, puede resultar difícil para la comunidad bacteriana adaptarse rápidamente. Aunque no se conoce con certeza la proporción de bacterias aeróbicas en el reactor biológico, no se descarta la posibilidad de que estas bacterias se vean más afectadas por la presencia del NOR en comparación con los otros dos antibióticos. Los autores Shu *et al.* (2021) también observaron la resistencia del NOR (10 mg L⁻¹), con una degradación del 29.7%, en comparación con el 56.7% de biodegradación del CIP (10 mg L⁻¹). Es importante señalar que estos autores también informaron sobre la biodegradación del levofloxacino (LEV, 10 mg L⁻¹) y del OFL (10 mg L⁻¹), observando la mayor eficiencia de remoción en el siguiente orden: CIP > LEV > OFL > NOR, resultados que concuerdan con los obtenidos en este proyecto.

Los resultados obtenidos en este estudio superan los informados por Hou *et al.* (2021), quienes reportaron una biodegradación del 36.5% del gatifloxacino (GAT, 10 mg L⁻¹) después de 10 días de incubación en un cultivo en lote. Asimismo, los resultados son más altos que los reportados por Shu *et al.* (2021), quienes lograron

una biodegradación del 63.9%, 59.1%, 56.7% del OFL, NOR y CIP (10 mg L^{-1}), respectivamente. Es relevante destacar que estos trabajos se llevaron a cabo con cultivos en lote y las concentraciones de contaminantes utilizadas fueron menores en comparación con este proyecto. La implementación del reactor biológico en este estudio ha demostrado una mayor eficiencia de degradación biológica, incluso a una concentración máxima de 90 mg L^{-1} . No obstante, en comparación con los tratamientos en reactores biológicos, los resultados también son favorables. Carneiro *et al.* (2021) observaron que el 86% de la degradación del CIP se logró partiendo de una concentración inicial bastante alta de 500 mg L^{-1} en el influente, con un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 12 h. Es importante destacar que la concentración utilizada por estos autores es más del doble de la empleada en este proyecto. Sin embargo, con un TRH más corto de 1.15 h, el sistema demostró ser capaz de eliminar más del 80% de los compuestos. Esta diferencia significativa puede atribuirse a las dimensiones de los reactores biológicos; el volumen de trabajo del RE-1 es de 430 mL, mientras que en el estudio mencionado anteriormente es de 2.7 L. En un reactor de menor volumen como el RE-1, el TRH se reduce y, por lo tanto, el tiempo de eliminación de los contaminantes también puede ser más corto, especialmente teniendo en cuenta la concentración del contaminante. Sin embargo, esto dependerá de otros factores, como el tipo de cultivo y la aclimatación bacteriana, además de la especie y la cantidad de microorganismo, lo que dificulta una comparación precisa entre ambos estudios.

En otra comparativa general entre ambos tratamientos; es evidente que el tratamiento electroquímico mostró la mayor eficiencia en la degradación en menor tiempo. No obstante, EF fue llevado a cabo en agua pura, es decir, sin la presencia de otras especies en la matriz. Por otro lado, en el tratamiento biológico la muestra inicial (influyente) es una mezcla de fuentes orgánica fácilmente asimilables, además varias especies inorgánicas. En este caso, el sistema suele ser no selectivo ante la presencia de más fuentes orgánicas, lo cual se le atribuye al cometabolismo. Entonces, la tasa de descomposición es mayor en el proceso electroquímico (*k_{app}*). El término "*app*" en EF se utiliza porque, aunque la reacción de descomposición es de primer orden, en realidad es una reacción de segundo orden que se ve obligada

a adoptar un orden de 1 debido al exceso de concentración del reactivo limitante en este tratamiento. Este reactivo desempeña un papel crucial en la descomposición de las FQs. En contraste, en el proceso biológico, la descomposición es más lenta ya que principalmente se lleva a cabo mediante enzimas, que actúan como catalizadores biológicos. Estas enzimas realizan la descomposición a través de un conjunto de reacciones de óxido-reducción. La descomposición ocurre debido a la presencia de un reactivo limitante, que en este caso es la mezcla de FQs. Esto resulta en que la reacción biológica tenga un orden de reacción de 1.

Por otro lado, las enzimas encargadas de la descomposición biológica, como se indica en la Figura 4, son nitrato reductasas. Estas enzimas realizan la desnitrificación mediante múltiples reacciones, lo que implica la reducción del NO_3^- . Al mismo tiempo, ocurre la oxidación de las FQs. Esta oxidación puede ocurrir de tres maneras: 1) mediante la adición de moléculas de oxígeno a la estructura de la FQ en cuestión; 2) a través de la eliminación de átomos de hidrógeno; 3) mediante la adición de dobles o triples enlaces. Además, Shaker *et al.* (2022) [157] han observado la participación de enzimas como la 6'-N-acetiltransferasa y el citocromo P450 (CYP450) en el proceso de biodegradación del CIP y LEV en condiciones aeróbicas. Dado que el reactor RE-1 presenta condiciones facultativas anaerobias, no se puede descartar la posible presencia de estas enzimas.

3.11.3. Evaluación del modelo cinético de Arvin (1991)

En la ecuación 53 se describe el modelo cinético de Arvin:

$$Se = \frac{Si}{1+k\left(\frac{Q}{A}\right)} \quad (53)$$

Donde Se , representa la concentración en influente (mg L^{-1}) para cada FQ; Si , corresponde a la concentración en cada punto de muestreo de cada FQ (mg L^{-1}); A , es el área superficial por puerto de reactor (cm^2); y Q corresponde al flujo volumétrico o caudal ($\text{cm}^3 \text{h}^{-1}$)

La constante de velocidad global de biodegradación de primer orden K , se relaciona con las constantes cinéticas intrínsecas dentro de la biopelícula. Expresado de la siguiente manera en la Ecuación 54:

$$K = [k_x/K_s] X_f L \varepsilon \quad (41)$$

Donde:

K_x , representa la tasa de utilización máxima de la mezcla de antibióticos (g de sustrato/g de células); K_s , es la constante de Monod (g cm⁻³); X_f , es la biomasa activa en la biopelícula (g cm⁻³); L , es el grosor de la biopelícula (cm); y ε , es igual al factor de eficiencia.

El factor de eficiencia representa la relación entre la tasa de reacción por difusión y la tasa de reacción en el caudal del flujo. Lo anterior se representa de la siguiente manera en la Ecuación 55.

$$\varepsilon = \frac{\tan \alpha}{\alpha} \quad y \quad \alpha = \sqrt{\frac{(K)(L)}{(\varepsilon)(D)}} \quad (42)$$

Donde:

D , corresponde al coeficiente de difusión de la mezcla de FQs en la biopelícula. Finalmente, el valor de ε fue establecido como 0.8 de acuerdo con lo reportado por Willamson y McCarty, (1971) [95], considerando al soporte unitario bacteriano como una esfera perfecta.

Los valores de A , X_f y L por segmento del reactor se reportan a continuación en la Tabla 24.

Tabla 24. Masa celular por segmento del reactor y su relación con el área superficial.

Segmento del reactor	Altura del reactor (cm)	Área superficial por segmento, A (cm ²)	Masa celular acumulada X_f (g SSV)	Masa celular por área superficial (g SSV cm ⁻²)	Grosor de biopelícula, L (µm)
S1	7.34	4730000.00	8.00	0.0062	188.70

S2	14.70	2580000.00	28.00	0.0142	345.95
S3	22.04	3053000.00	40.00	0.0044	292.35
S4	29.37	2236000.00	49.80	0.0039	399.17
S5	36.71	2085500.00	53.84	0.0040	427.98

Graficando $(SI/Se)-1$ versus (A/Q) se obtienen los siguientes gráficos con una tendencia al crecimiento exponencial. El incremento de las pendientes se presentó en función del aumento de la concentración. El gráfico correspondiente se muestra en la Figura 32. Para fines prácticos, el modelo sólo fue evaluado en la degradación biológica de la mezcla de antibióticos.

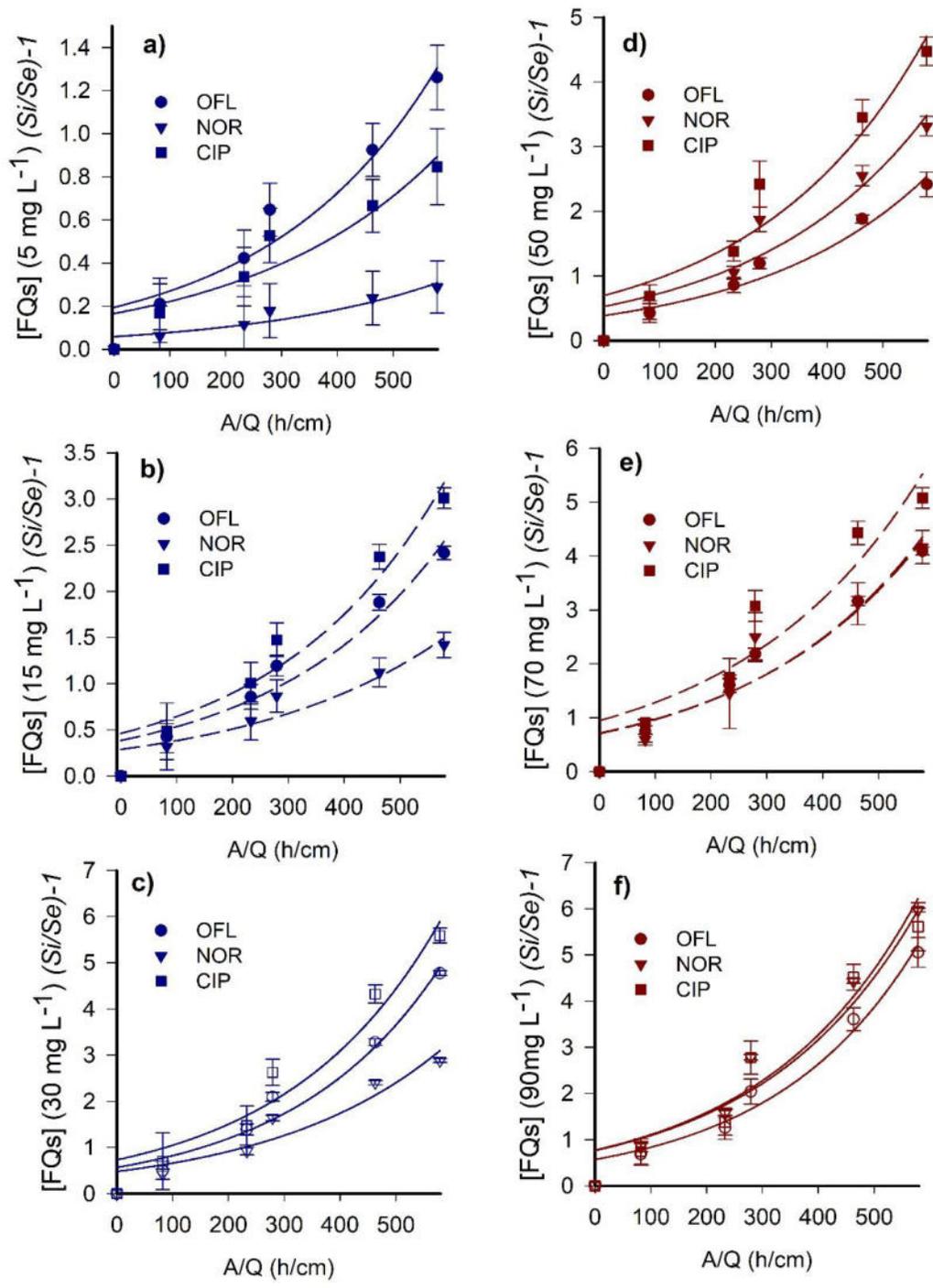


Fig. 32. Modelo cinético de Arvin para las seis concentraciones en el influente de la degradación biológica de norfloxacin, ofloxacin y ciprofloxacin en mezcla (1:1:1) a diferentes concentraciones en el influente de a) 5 mg L⁻¹; b) 15 mg L⁻¹; c) 30 mg L⁻¹; d) 50 mg L⁻¹; e) 70 mg L⁻¹; y f) 90 mg L⁻¹ en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.

El aumento en la concentración provoca que la pendiente que, está en función del aumento de la relación (A/Q), vaya en aumento hasta alcanzar velocidades de biodegradación similares. La máxima tasa de remoción biológica se obtuvo cuando la concentración alcanzó la máxima concentración en influente de 90 mg L^{-1} , obteniendo los siguientes valores cinéticos de $K = 0.56$ (0.990), 0.72 (0.994), y 0.76 (0.929) h^{-1} para NOR, OFL y CIP. En este caso particular se establece que no existe una diferencia en las velocidades de degradación. Misma tendencia que se presentó con el modelo cinético pasado.

Es importante considerar que los altos valores en el eje abscisas se debe al alto valor en el área de contacto, producto de la amplia área superficial de la piedra volcánica (2.15 g m^{-2}); sin embargo, no refleja un comportamiento en relación con la biomasa soportada en dicha zona de contacto. Para esto fue evaluado el modelo de la máxima utilización del sustrato por la biopelícula (TMU). Para este modelo se graficó el intercambio (S_i/S_e) versus los X_f , que como bien se observa en la Tabla 24 corresponde a la biomasa acumulada por segmento del reactor, representada como sólidos suspendidos volátiles (SSV g). En este gráfico las pendientes son más pronunciadas que en el modelo de Arvin inicial, debido a que el intercambio del sustrato está en función de la biomasa, y en este caso, se presenta una inhibición aparente cuando las pendientes individuales alcanzan una pendiente máxima. Este modelo se observa en la Figura 33.

Al trazar una recta secante en la pendiente máxima de cada cinética se obtiene el valor de la constante, K_{max} ya que representa la máxima utilización de los sustratos por la biopelícula. Estos valores van incrementados de igual manera en función del aumento de la concentración; sin embargo, cuando la concentración rebasa los 50 mg L^{-1} el valor de K_{max} ya no presenta cambio. Para una mejor apreciación de estos valores, se sugiere consultar la Tabla 25 en donde se resumen los datos cinéticos, de estos dos modelos.

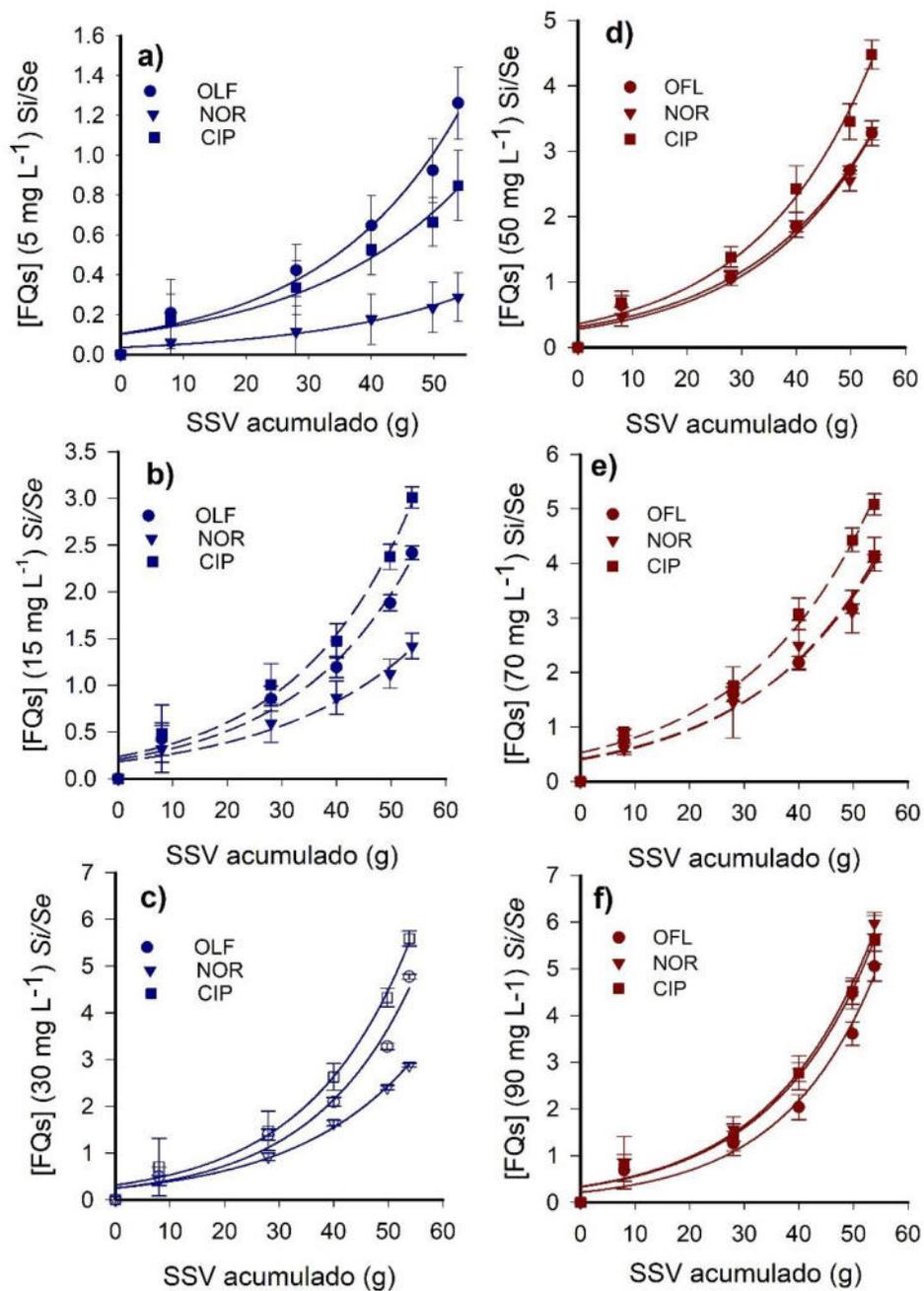


Fig. 33. Modelo cinético de máxima utilización del sustrato por la biopelícula (TMU) de la degradación biológica de norfloxacino, ofloxacino y ciprofloxacino en mezcla (1:1:1) a diferentes concentraciones en el influente de a) 5 mg L⁻¹; b) 15 mg L⁻¹; c) 30 mg L⁻¹; d) 50 mg L⁻¹; e) 70 mg L⁻¹; y f) 90 mg L⁻¹ en reactor biológico de lecho empacado RE-1, TRH = 1.15 h.

Tabla 25. Condiciones de la remoción biológica de la mezcla de FQs en reactor biológico RE-1 a un TRH = 1.5 h.

Concentración en el influente		Parámetro*						Datos cinéticos			
		OD, (mg L ⁻¹)		pH		POR (mV)		Biodegradación	Tasa de primer orden	Tasa global de Arvin	Tasa de máxima utilización de sustrato (TMU)
(mg L ⁻¹)	FQs	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente	(%)	(h ⁻¹) (R ²)	K (h ⁻¹) (R ²)	K _{MAX} (g SSV h ⁻¹) (R ²)
5	OFL	3.06 ± 0.05	0	6.6 ± 0.13	7 ± 0.39	76.5 ± 2.10	100 ± 3.05	55.7	0.032 (0.993)	0.13 (0.934)	0.02 (0.976)
	NOR							22.5	0.023 (0.993)	0.057 (0.889)	0.04 (0.971)
	CIP							45.6	0.037 (0.992)	0.16 (0.883)	0.03 (0.968)
15	OFL	2.46 ± 0.15	0	6.4 ± 0.31	6.9 ± 0.05	56.3 ± 1.18	125 ± 12.5	70.7	0.03 (0.926)	0.38 (0.934)	0.85 (0.978)
	NOR							58.6	0.02 (0.905)	0.28 (0.893)	0.06 (0.963)
	CIP							75.5	0.07 (0.979)	0.46 (0.939)	0.076 (0.984)
30	OFL	2.97 ± 0.32	0	6.8 ± 0.02	6.6 ± 0.27	70.6 ± 3.31	103.3 ± 2.0	82.6	0.04 (0.915)	0.56 (0.956)	0.15 (0.979)
	NOR							74.2	0.03 (0.985)	0.47 (0.914)	0.09 (0.986)
	CIP							84.3	0.04 (0.941)	0.72 (0.943)	0.15 (0.993)
50	OFL	2.33 ± 0.25	0	6.6 ± 0.27	7 ± 0.10	50.3 ± 5.15	106 ± 5.0	76.5	0.03 (0.904)	0.57 (0.910)	0.19 (0.982)
	NOR							76.2	0.04 (0.934)	0.52 (0.916)	0.12 (0.986)
	CIP							81.7	0.04 (0.895)	0.64 (0.823)	0.25 (0.985)
70	OFL	2.52 ± 0.53	0	6.8 ± 0.34	6.7 ± 0.13	65.5 ± 4.12	75.6 ± 3.78	80.3	0.04 (0.901)	0.71 (0.925)	0.15 (0.972)
	NOR							80.6	0.04 (0.961)	0.7 (0.90)	0.28 (0.973)
	CIP							83.6	0.048 (0.932)	0.94 (0.888)	0.28 (0.982)
90	OFL	2.89 ± 0.34	0	7.0 ± 0.10	6.8 ± 0.05	64.3 ± 4.30	89.5 ± 6.6	83.4	0.047 (0.995)	0.56 (0.990)	0.25 (0.983)
	NOR							85.6	0.051 (0.994)	0.72 (0.994)	0.15 (0.987)
	CIP							84.8	0.052 (0.992)	0.76 (0.929)	0.28 (0.993)

En comparativa los tres modelos describen el comportamiento del sistema en la degradación de la mezcla de antibióticos; no obstante, el modelo bifásico de primer orden presenta ligeramente un mayor ajuste de acuerdo con los valores de R^2 ajustada reportadas en la tabla anterior para las seis cinéticas evaluadas. El modelo TMU, por su parte, presenta ligeramente un mayor ajuste que el modelo de Arvin, considerando que estos dos modelos son más específicos al incluir la biomasa y el grosor de la biopelícula en las ecuaciones. Este aspecto es importante, ya que en el modelo bifásico sólo se toma en cuenta el cambio en la concentración inicial de cada FQ con respecto a la altura del reactor, dejando menos información del fenómeno intrínseco en el RE-1. Por lo tanto, el modelo que mejor describe el proceso de biodegradación es el modelo TMU.

La aparente saturación del sistema se presenta a partir de la concentración inicial de 70 mg L^{-1} hasta alcanzar la máxima de 90 mg L^{-1} , con los siguientes valores: $K_{MAX} = 0.25$ y $0.25 \text{ g SSV h}^{-1}$, respectivamente para OFL; 0.15 y $0.15 \text{ g SSV h}^{-1}$ para NOR; 0.28 y $0.28 \text{ g SSV h}^{-1}$ para CIP. Es decir, que en este rango de concentraciones en el influente la tasa de conversión de sustrato por la biopelícula ya no presenta un cambio. Nótese que las constantes más bajas, corresponden al NOR, reflejando nuevamente la recalcitrancia, respecto al OFL y CIP. Adicionalmente las tasas de conversión máxima corresponden al CIP, de acuerdo con lo observado en los otros modelos. La saturación del sistema se aprecia de mejor manera en el siguiente modelo cinético.

3.11.4. Evaluación del modelo cinético de Monod (1949)

El modelo cinético de Monod se expresa en la ecuación 56:

$$\mu = \mu_{max} \frac{C_s}{K_s + C_s} \quad (43)$$

Donde μ es el crecimiento específico, μ_{max} es la tasa de crecimiento máximo específica, C_s corresponde a la concentración de las FQs, y K_s es la constante de saturación de Monod que es numéricamente igual a la concentración de las FQs cuando $\mu = \mu_{max}$.

En este caso μ_{max} se graficaría tomando los valores de K_{max} que se obtuvieron del modelo cinético TMU, graficados contra las concentraciones iniciales de la mezcla en el influente. El modelo de Monod tiene un comportamiento hiperbólico, como se muestra a continuación en la Figura 34.

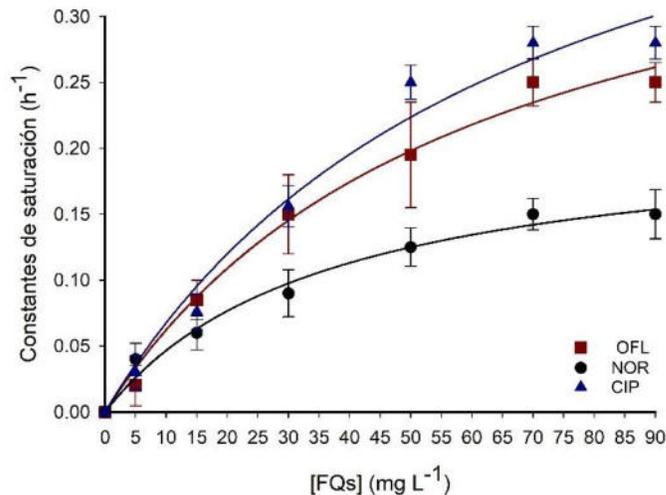


Fig. 34. Modelo cinético de Monod aplicado a la degradación biológica de la mezcla de FQs en RE-1, TRH = 1.15 h.

La constante de saturación media K_s se obtiene mediante extrapolación a la mitad de la tasa de saturación máxima μ_{max} para las tres FQs. Los valores de K_s se muestran en la Tabla 26. La menor tasa de saturación corresponde al NOR con 36.20 mg L⁻¹, mientras que el CIP y OFL se presentan con un valor similar: 68.0 y 60.0 mg L⁻¹, respectivamente. Este valor es el indicador de la inhibición del sistema a una concentración dada; en otras palabras, es una predicción teórica en donde el sistema biológico comienza un proceso de saturación donde la reacción cambia de orden 1 a orden 0. El orden 0 de la reacción en este sistema, representa la zona (punto asintótico de la gráfica) en donde la reacción ya no depende de la concentración del sustrato (en este caso la concentración inicial de la mezcla de FQs); por lo tanto, la velocidad de degradación ya no cambia respecto a los parámetros intrínsecos en el RE-1 expresados en los modelos cinéticos anterior: altura del reactor, área superficial y cantidad de biomasa.

Tabla 26. Constantes de saturación de Monod para la mezcla de FQs.

Sustrato	Tasa de máxima saturación (μ_{\max}) (h^{-1})	Constante de saturación media K_{hs} (mg L^{-1})
OFL	0.43	59.9
NOR	0.25	36.2
CIP	0.52	68.06

Es interesante notar que, debido a su K_s , el sistema biológico alcanza más rápido un estado estacionario con la presencia del NOR. Es evidente que la recalcitrancia de este compuesto promueve una degradación más efectiva con OFL y CIP. Sin embargo, el sistema no es selectivo.

Otro aspecto importante para considerar en esta fase es que los K_s del OFL y CIP sugieren que la degradación biológica de estos compuestos podría llevarse a cabo a concentraciones más altas que 90 mg L^{-1} . Teóricamente es posible observarlo en el gráfico, ya que la zona asintótica de la gráfica para estos dos compuestos tiene un incremento aparente.

La suma de los tres K_s equivale a un total de 164.16 mg L^{-1} que en promedio es. A partir del aumento de este nivel de concentración las tasas de biodegradación ya no presentaron cambio, tal como se observó en el modelo TMU.

3.12. Cinética abiótica en reactor de referencia (RE-0)

El reactor RE-0 fue utilizado como reactor blanco para determinar el grado de adsorción que puedan presentar las moléculas en contacto con el lecho poroso utilizado como soporte bacteriano. Considerando la porosidad de la piedra tezontle (Tabla 7), no es descartable un fenómeno de adsorción.

Los resultados mostrados en la Figura 35-a confirmaron la adsorción del CIP en la piedra al observarse una caída abrupta justo en el puerto 2 del RE-0. Esta caída se

ve más evidente en función del aumento de concentración manteniéndose estable por cada puerto y hasta su salida en el efluente. Así mismo un experimento a flujo continuo fue realizado durante 250 h a la concentración más alta de CIP (90 mg L^{-1}). Los resultados se muestran en la Figura 35-b. La gráfica muestra que la concentración del CIP en el efluente no cambió durante el tiempo; lo que confirma la distribución del CIP en la piedra tezontle. Por último, la Figura 35-c confirmó que la pérdida del CIP se debe únicamente a un fenómeno de adsorción y no a una hidrólisis por parte del $\text{HCl } 4 \text{ mmol L}^{-1}$ utilizado para prevenir el desarrollo de bacterias en el RE-0.

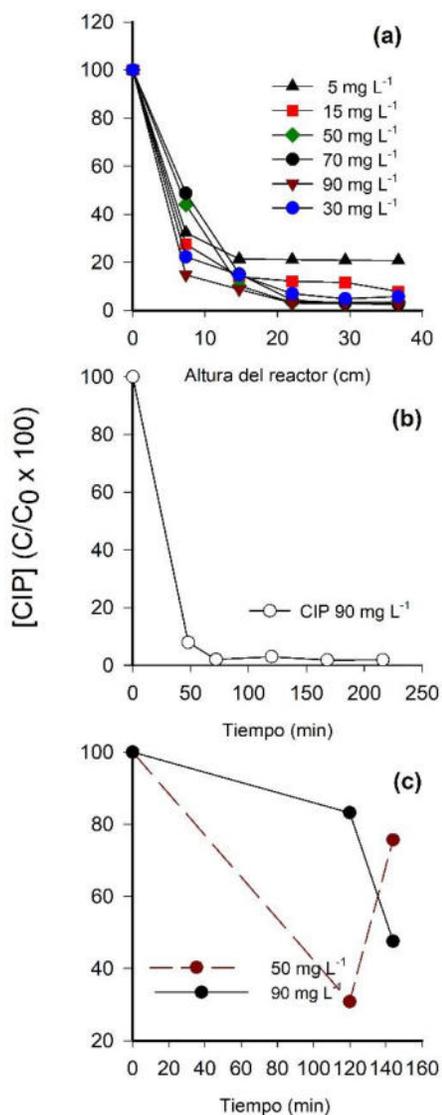


Fig. 35. Cinética abiótica en RE-0: a) TRH 1.15 h a diferentes concentraciones de CIP en el influente; b) TRH 250 h, flujo continuo; c) hidrólisis en batch con 4 mmol L⁻¹ de HCl en 140 h.

Para describir mejor la adsorción ejercida por la piedra fueron evaluados 4 modelos de adsorción: Thomas (Thomas, 1944), Adams-Bohart y Yoon-Nelson (Yoon y Nelson, 1984). El modelo de Thomas se describe en la Ecuación 57:

$$\ln\left(\frac{C_0}{C_i} - 1\right) = \frac{K_{Th} q_0 W}{Q} - K_{Th} C_0 t \quad (44)$$

donde, K_{Th} es la constante de Thomas (mL min⁻¹ mg⁻¹); q_0 es la concentración del soluto (mg g⁻¹), W es la masa del adsorbente en la columna (g); Q es el flujo aplicado (mL min⁻¹); C_i es la concentración del CIP en el efluente; C_0 es la concentración del CIP en el influente; y t es el tiempo (min).

Este modelo describe que la adsorción está influenciada por una distribución longitudinal; es decir, sin dispersión axial en la columna. Los resultados se muestran a continuación en la Figura 36.

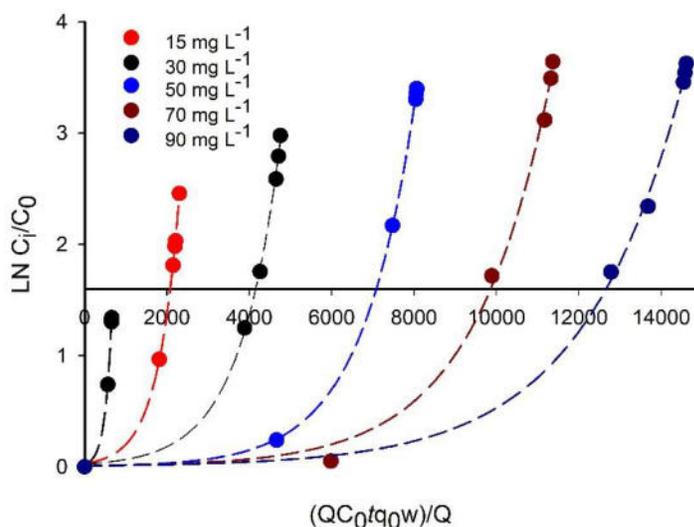


Fig. 36. Modelo de adsorción de Thomas (1944), en RE-0, a TRH = 1.15 h.

En el gráfico se expresa que cuando mayor es la cantidad del CIP mayor es su adsorción por la piedra, como sigue: 0.0293 (5 mg L⁻¹), 0.0216 (15 mg L⁻¹), 0.0239 (30 mg L⁻¹), 0.0070 (50 mg L⁻¹), 0.0005 (70 mg L⁻¹) y 0.0004 (50 mg L⁻¹) mL min⁻¹ mg⁻¹.

El modelo de Adam-Bohart se describe como sigue en la ecuación 58:

$$\ln\left(\frac{C_0}{C_i} - 1\right) = K_{AB} N_0 \frac{z}{u} - K_{AB} C_t t \quad (45)$$

Donde, C_0 y C_i es la concentración del CIP en el influente y efluente respectivamente (mg L⁻¹); K_{AB} es la constante cinética de adsorción (L mg⁻¹ min⁻¹); N_0 es la capacidad de adsorción (mg L⁻¹); z es la profundidad del lecho; u la velocidad lineal (mmh⁻¹); y t es el tiempo (min).

La tendencia de la adsorción es muy similar a los mostrado con el modelo de Thomas; sin embargo, en el modelo de Adam-Bohart las gráficas adquirieron una forma de sigmoide, tal como se muestra en la Figura 37. En este modelo se sugiere que la adsorción está gobernada por la capacidad residual de la piedra, y además por la concentración de las especies adsorbidas, en este caso el CIP.

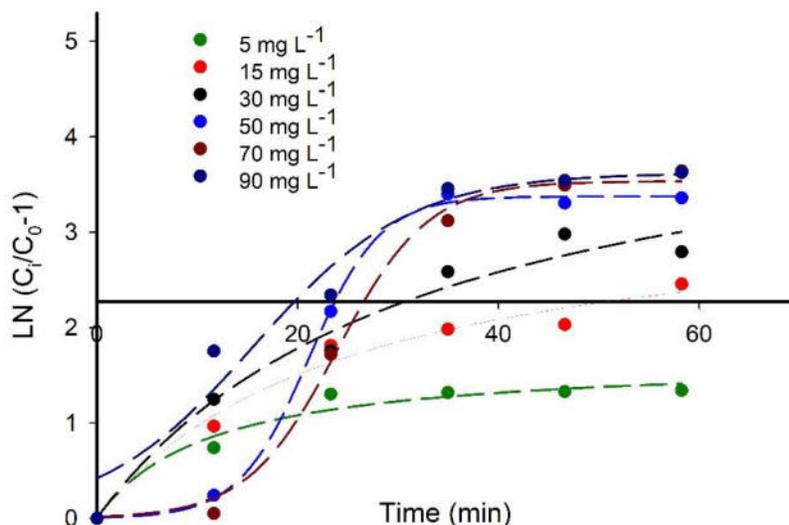


Fig. 37. Modelo de adsorción de Adam y Bohart en RE-0, a TRH = 1.15 h.

Cuando la concentración del CIP rebasa los 30 mg L⁻¹ las curvas comienzan a tomar forma de sigmoide, debido a la lenta adsorción producto de la concentración del CIP. Dicho análisis puede expresarse mejor mediante el parámetro de la capacidad de adsorción N_0 , que en este caso fue de 11.16 (5 mg L⁻¹), 25.0 (15 mg L⁻¹) 32.5 (30 mg L⁻¹), 3.51 (50 mg L⁻¹), 4.5 (70 mg L⁻¹) y 7.71 (90 mg L⁻¹) mg L⁻¹. En este escenario, el parámetro N_0 refleja que la tasa de adsorción es más lenta en función del aumento de la concentración.

Por último, se evaluó el modelo de Yoon-Nelson (1984), que se describe con la Ecuación 59:

$$\ln\left(\frac{C_t}{C_0 - C_t}\right) = K_{YN}t - \tau K_{YN} \quad (46)$$

Donde, K_{YN} es la constante de cambio (min⁻¹); τ es el tiempo requerido para adsorber el 50% del adsorbato inicial (min); t es el tiempo (min).

El modelo de Yoon-Nelson tiene en cuenta tanto la difusión en la fase fluida como en la fase sólida, así como la interacción entre la fase fluida y la fase sólida. Se utiliza para predecir cómo cambian las concentraciones del CIP en la piedra durante el proceso de adsorción y cómo influyen factores como la temperatura y la presión en este proceso. Los resultados se muestran en la Figura 38. En este caso, los factores como temperatura y la presión no fueron controlados en el proceso.

El gráfico muestra líneas con una caída exponencial con la misma tendencia observada en los modelos anteriores. Los valores de K_{YN} fueron los siguientes: 1.40 (5 mg L⁻¹), 2.50 (15 mg L⁻¹), 3.45 (30 mg L⁻¹), 3.91 (50 mg L⁻¹), 3.98 (70 mg L⁻¹), 4.51 (90 mg L⁻¹) min⁻¹. Adicionalmente, τ fue obtenido mediante el intercepto de cada

gráfica individual con los siguientes valores: 0.08 (5 mg L⁻¹), 0.04 (15 mg L⁻¹), 0.03 (30 mg L⁻¹), 0.04 (50 mg L⁻¹), 0.02 (70 mg L⁻¹), 0.04 (90 mg L⁻¹) min.

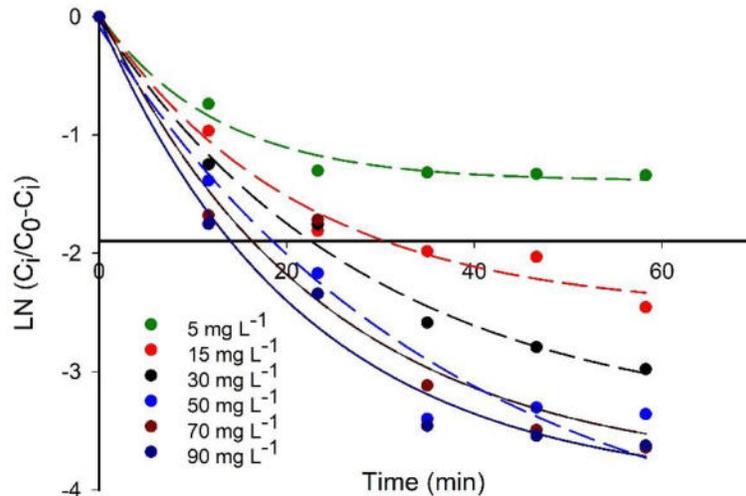


Fig. 38. Modelo de adsorción de Yoon-Nelson (1984) en RE-0, a TRH = 1.15 h.

A pesar de que τ no presentó diferencias notorias entre cada concentración de CIP en el influente, proporcionó el tiempo en el cual ocurrió la saturación del adsorbato, que en este caso corresponde al soporte de tezontle, con un promedio de 0.042 min. En otras palabras, 0.042 min es el tiempo en el cual el soporte de tezontle alcanza el 50% de la saturación. No obstante, se necesita mayor investigación para poder establecer una conclusión concreta acerca de este parámetro.

Considerando este grado de adsorción, se podría asumir que la remoción de las FQs se debe prácticamente a un fenómeno de adsorción; sin embargo, las cinéticas de degradación biológica adquieren una forma común en procesos de degradación biológica, es decir una cinética de primer orden. No obstante, para poder determinar si la remoción de compuesto en el RE-1 está gobernada por una biodegradación y no por el proceso de adsorción, es necesario medir subproductos de degradación. Uno de estos subproductos el ion fluoruro, ya que está presente como heteroátomo en las moléculas de las FQs.

3.13. Determinación de F⁻ residual en RE-1

La cuantificación del F⁻ se realizó siguiendo la metodología para la cuantificación de iones inorgánicos descrita en la *sección 2.3.2.3*. Los resultados de la detección de ion F⁻, así como otros iones presentes en el RE-1 se presentan en la Figura 39. Además del F⁻, fueron detectados iones como ClO₂⁻, Cl⁻, PO₄³⁻. La presencia de los iones clorados son producto de la sal MgCl₂, mientras que el ion PO₄³⁻ se debe a las sales fosfatadas utilizadas como buffer en el MNR. Así mismo, iones como NO₂⁻, NO₃⁻ no fueron detectados, a pesar de las cantidades nitrogenadas añadidas en el MNR. La ausencia de estos últimos iones confirma que la respiración bacteriana en el RE-1 está mediada por una nitrato reducción.

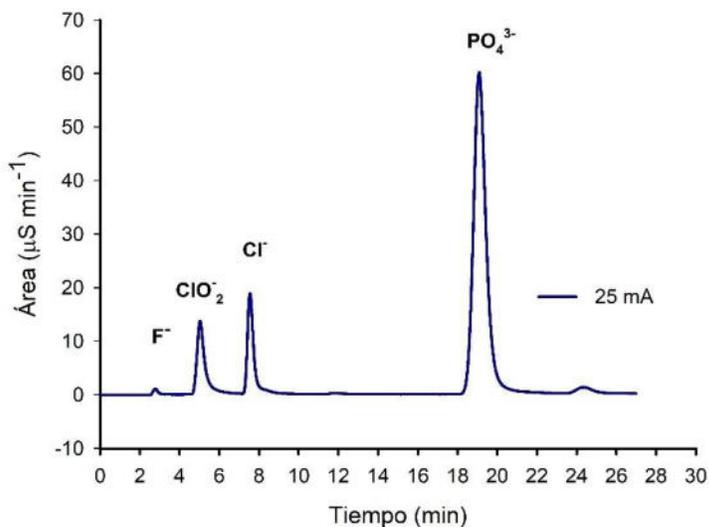


Fig. 39. Cromatograma de iones inorgánicos presentes en RE-1 posterior a cinética con 30 mg L⁻¹ de la mezcla de FQs (1:1:1) en influente a TRH = 1.15 h. En columna de intercambio iónico; fase móvil de 4.5 mmol L⁻¹ Na₂CO₃/0.8 mmol L⁻¹ NaHCO₂, 1 mL min⁻¹, 25 mA, 35°C.

A continuación, se muestran los resultados de la cuantificación del F⁻ en la Figura 40. Ninguna fuente de este ion fue añadida al MNR, lo que confirma que su liberación en el efluente del reactor se debe únicamente a la fragmentación de las moléculas de las FQs, producto de una defluorinación [157]. Por lo tanto, se asume que la remoción de las FQs en el RE-1 se debe a una biodegradación bacteriana.

La cantidad de F^- acumulado fue de $0.30 \pm 0.05 \text{ mg L}^{-1}$ en el efluente, lo que representa aproximadamente el 6.0% del F^- estequiométrico total por molécula. Por otro lado, el análisis del carbono orgánico total (COT) podría ofrecer información sobre la mineralización de la mezcla de FQs; no obstante, en la eliminación del COT está involucrada la materia orgánica proveniente del contenido microbiológico, además del contenido de las FQs; por lo tanto, en este caso, medir la remoción de TOC atribuible únicamente a la mineralización de las FQs no es factible. El COT fue analizado en este proyecto y se discutirá más adelante en la sección del acoplamiento de los procesos.

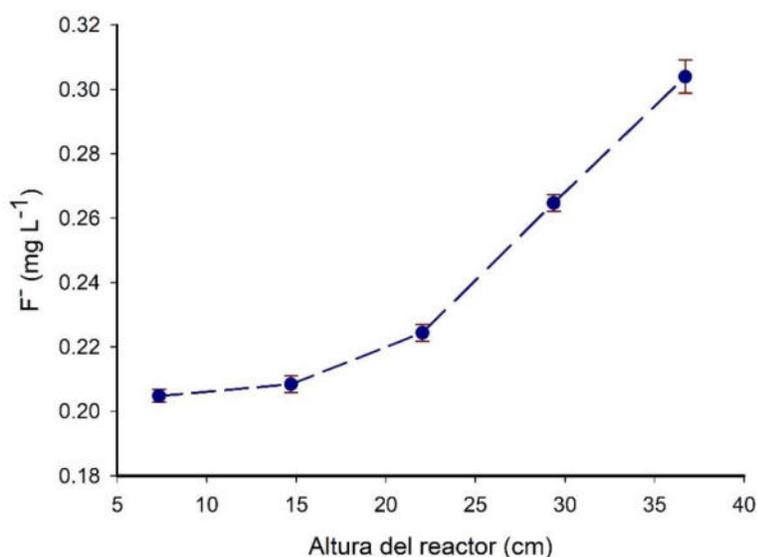


Fig. 40. Liberación de F^- residual en RE-1 posterior a cinética de degradación con 30 mg L^{-1} de la mezcla FQs (1:1:1) a un TRH= 1.15 h.

TERCERA PARTE: ACOPLAMIENTO DE LOS PROCESOS

3.14. Acoplamiento de los procesos

En las fases anteriores se determinaron las mejores condiciones de degradación para cada proceso de manera individual y se evaluó la degradación de los fármacos con cada uno de estos procesos. Por lo tanto, en esta tercera etapa, se centró en la combinación de ambos procesos. Para ello, se estudió la degradación de los fármacos en dos secuencias diferentes:

1. Tren de tratamientos: reactor biológico RE-1/EF
2. Tren de tratamientos: electro-Fenton/reactor biológico 2 (EF/RE-2)

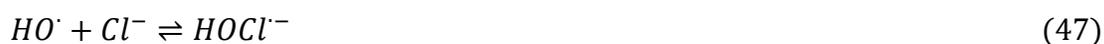
Ambos enfoques resultaron viables y con resultados prometedores, como se explica y discute a continuación.

3.14.1. Tren de tratamientos reactor biológico RE-1/EF

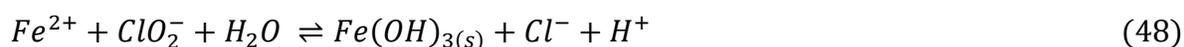
Como se describió anteriormente en la *sección 2.4.6*, el tren RE-1/EF se llevó a cabo implementando el tratamiento biológico en el reactor RE-1, seguido del tratamiento EF. Los resultados de la degradación combinada aparecen en la gráfica de la Fig. 41. La barra paralela indica la separación de los tratamientos. El descenso de la concentración inicial de la mezcla de los compuestos adquirió un comportamiento típico de primer orden; resultados consistentes con los observados previamente en la cinética de 30 mg L^{-1} (Fig. 31-c). Sin embargo, la degradación en el postratamiento (EF) se vuelve atípica, mostrándose significativamente lenta. Para aumentar la eficiencia de degradación se decidió extender el tiempo del tratamiento por 360 min; sin embargo, el proceso EF no fue capaz de degradar el 100% del remanente de 9.39 ± 0.70 , 8.30 ± 1.23 , $7.20 \pm 0.80 \text{ mg L}^{-1}$ del OFL, NOR y CIP, respectivamente, proveniente del RE-1. Considerando la eficiencia el proceso EF a altas concentraciones, se esperaría que el nivel de concentraciones iniciales fuera fácilmente degradado por el sistema. El remanente final después de 420 min de

tiempo acumulado fue de 1.37 ± 0.46 , 1.66 ± 0.26 , $1.70 \pm 0.40\%$ para OFL, NOR, y CIP, respectivamente. Por su parte las velocidades de degradación con EF para cada compuesto fueron $k_{app} = 0.006$, 0.004 , 0.004 min^{-1} para OFL, NOR, y CIP, respectivamente, teniendo nuevamente el OFL la mayor recalcitrancia. Esto se puede ver de mejor manera con el comportamiento de las pendientes (inserto, Fig. 41). De esta misma manera, la cinética de la degradación electroquímica adquiere un comportamiento de pseudo primer orden, ya que la velocidad de degradación sigue estando en función de la concentración de un reactivo limitante, quedándose en exceso el segundo reactivo que tiene participación, que en este caso corresponde en mayor proporción al radical $\cdot\text{OH}$.

Este drástico descenso en la velocidad de degradación es atribuido a la gran cantidad de materia orgánica presente en el medio de cultivo MNR ($2800 \pm 13.7 \text{ mg L}^{-1}$), además a la cantidad de iones inorgánicos, principalmente Cl^- , ClO_2^- presentes en el MNR. Esta materia orgánica también se va degradando en el proceso debido a la no selectividad de los radicales $\cdot\text{OH}$. Por su parte, se ha reportado que la presencia de los iones Cl^- y ClO_2^- en solución pueden actuar como secuestradores de radicales libres, disminuyendo la eficiencia de la degradación del sistema [158,159]. Puntualmente los iones Cl^- actúan reaccionando con el radical $\cdot\text{OH}$ produciendo la especie HOCl^- , como sigue en la reacción 60. Por su parte la especie HOCl^- puede disociarse nuevamente en Cl^- y H_2O como sigue en la reacción 61 [160]



En el caso del ion ClO_2^- , éste actúa reaccionando directamente con los iones Fe^{2+} . En la reacción, descrita en la ecuación 62, el ion ClO_2^- es reducido a Cl^- y $\text{Fe}(\text{OH})_{3(s)}$ [161]. Esta reacción indeseada afecta tanto a la disponibilidad de los iones Fe^{2+} en solución para la producción de radicales $\cdot\text{OH}$, además de promover la formación de iones Cl^- que actúan como secuestradores de los radicales $\cdot\text{OH}$.



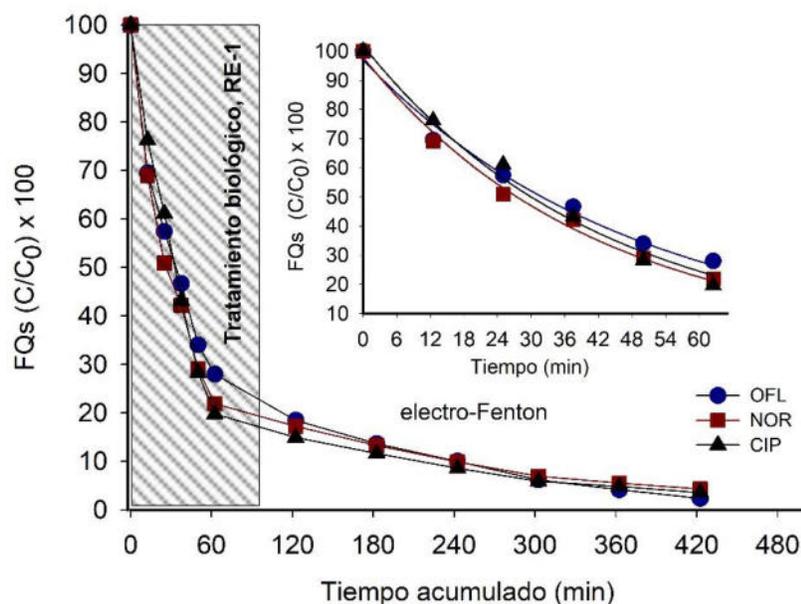


Fig. 41. Degradación combinada de 30 mg L^{-1} (1:1:1) de mezcla de FQs, en reactor biológico RE-1 (primer tratamiento) y EF (segundo tratamiento). TRH = 1.5 h; $[\text{Fe}^{2+}] = 0.31 \text{ mmol L}^{-1}$; $j = 250 \text{ mA cm}^{-2}$ en 0.05 mol L^{-1} de Na_2SO_4 a pH 3. Inserto: cinética de degradación en reactor biológico RE-1 de la mezcla de FQs (30 mg L^{-1}) (1:1:1).

3.14.1.1. Análisis del carbón orgánico total

La eficiencia de EF con segundo tratamiento fue evaluada mediante el análisis del carbón orgánico total. Los resultados se muestran en la Figura 42-a. En el gráfico se muestra cómo el proceso biológico removió aproximadamente el $17.5 \pm 12 \%$ del COT en el TRH establecido de 1.15 h (69 min). Parte de esta materia orgánica pertenece a las fuentes orgánicas presentes en MNR, así como también a otras posibles fuentes orgánicas provenientes de las bacterias como proteínas, lípidos, células muertas, entre otros. Al inicio del proceso EF, el descenso del COT se vuelve más lento a través del transcurso del tiempo hasta alcanzar el $63.15 \pm 2.0\%$ de la remoción del COT en 420 min de tiempo acumulado, lo que equivale a un descenso de 2800 ± 13.7 a $1768 \pm 22.3 \text{ mg L}^{-1}$. Es difícil atribuir cuánta de esta materia orgánica le corresponde a las FQs, ya que el sistema electroquímico, al ser no selectivo, oxida toda la materia orgánica proveniente del reactor RE-1. Por otro lado, es importante considerar que, a pesar del lento abatimiento de la materia orgánica,

se mantiene relativamente constante durante el tiempo. Posiblemente al aumentar el tiempo de electrólisis es posible lograr la remoción con mayor eficiencia; sin embargo, no se debe prescindir de análisis de biodegradabilidad y/o toxicidad pertinente para determinar si el efluente tratado por ambos procesos es inocuo para el medio ambiente.

Al tratarse de un proceso electroquímico, la baja eficiencia de remoción del COT, aunado al tiempo prolongado de electrólisis, provocan un gasto energético importante. Para esbozar una idea de gasto energético, se realizó el cálculo de la eficiencia corriente de mineralización (%ECM) y el costo energético por molécula mineralizada (E_{COT}), asumiendo que la remoción del COT en proceso combinado sea sólo de las FQs. Los resultados se muestran en la Figura 42-b y c. Es evidente que la lenta disminución del COT provocó consecuentemente una disminución en la ECM (Fig. 42-b). Adicionalmente, se observa que la ECM continúa disminuyendo en función del tiempo alcanzando un valor final de $\sim 2.64\%$, significativamente menor a lo reportado anteriormente en el proceso de EF como tratamiento único ($\sim 12.50\%$) (Fig. 15-c) [144]. Por lo tanto, el gasto energético acumulado asciende a ~ 2.25 kWh, que equivale a ~ 0.021 MXN. No obstante, al ser este parámetro sólo una aproximación, no se debe descartar que fuese aún mayor, si se consideran todas las especies que fueron oxidadas en el proceso EF.

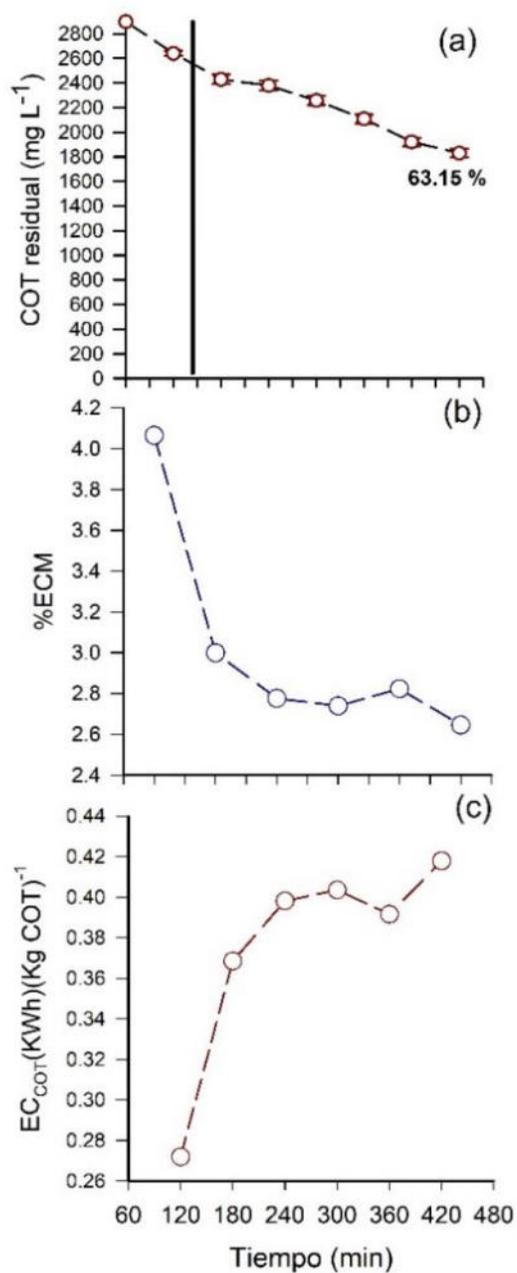


Fig. 42. a) Mineralización de 30 mg L⁻¹ (1:1:1) de la mezcla de FQs en RE-1 (primer tratamiento) y EF (segundo tratamiento); b) Eficiencia corriente de mineralización (%MCE); y c) costo energético por kg de COT (ECOT). TRH = 1.5 h; [Fe²⁺] = 0.31 mmol L⁻¹; $j = 250 \text{ mA cm}^{-2}$ en 0.05 mol L⁻¹ de Na₂SO₄ a pH 3.

3.14.2. Tren de tratamientos electro-Fenton/reactor biológico 2 (EF/RE-2)

Los ácidos carboxílicos de cadena corta (ACC) son los subproductos que dan paso a la conversión de la materia orgánica a CO_2 ; y en este proyecto fueron cuantificados previamente mediante cromatografía de exclusión iónica en EF como tratamiento único. En el caso particular de este experimento combinado fueron cuantificados al inicio y al final del tratamiento combinado. En la Figura 43 se muestra la evolución de los ácidos OXL ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$), OXM ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NO}_3$) MAL ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}$), FOR (CH_2O_2) y FUM ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$) (Fig. 20). La zona sombreada del gráfico marca el inicio y el final del primer tratamiento. La mayor producción corresponde al ácido OXL, alcanzando una concentración máxima acumulada de $71.4 \pm 7.3 \text{ mg L}^{-1}$ en 90 min del pretratamiento con EF (Fig. 43-a). Interesantemente se presenta una disminución significativa al caer a una concentración acumulada de 17.1 mg L^{-1} , equivalente a una disminución del 76.0% apenas el inicio del tratamiento biológico en el RE-2 (correspondiente a puerto 2 del reactor). De acuerdo con lo esperado, en esta zona la actividad biológica es mucho mayor debido al contacto inicial de la biopelícula con el medio de cultivo, en consecuencia, de la dirección del flujo ascendente. No obstante, la concentración del ácido OXL se mantiene relativamente en función de los puertos posteriores hasta llegar al efluente del RE-2. La caída en la concentración del ácido OXL se le atribuye principalmente a la toma por parte de las bacterias presentes en el RE-2.

Por otro lado, se sabe con anterioridad que el ácido OXL puede ser usado como fuente de carbono en condiciones anaerobias [162–164], generalmente produciendo fumarato y CO_2 en la vía metabólica establecida por los autores Karamad *et al.* (2022). Sin embargo, no se descarta que la producción del 16.0% del ácido OXM en el primer segmento del reactor (en este caso en forma de oxamato), se de a través de una ruta alternativa inducida por la expresión del gen *fdra* ligado a la degradación del ácido OXL. En otras palabras, es posible que se esté dando la conversión de oxalato a oxamato y CO_2 , como una ruta alternativa. Esta ruta ha sido reportada por los autores Yeun *et al.* (2021). Esto solo se aprecia en la parte inicial del tratamiento biológico, ya que se presentó una remoción del

ácido OXM del 53.0% al final del tratamiento biológico, dejando un remanente de $1.22 \pm 0.4 \text{ mg L}^{-1}$ en 190 min de tiempo acumulado.

Otros ácidos como FOR, MAL, y FUM, fueron liberados en el primer tratamiento con una concentración máxima de 1.9 ± 2.6 , 14.1 ± 4.36 , y $1.2 \pm 0.2 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente (Fig. 43-c, d, y e). Eventualmente, no se detectó más la presencia de estos ácidos a partir del puerto 4 del reactor, siendo rápidamente eliminados por parte del tratamiento biológico en el RE-2.

En resumen, el RE-2 logró remover 75.55% del total de los ácidos, con un remanente total final de $\sim 19.87 \text{ mg L}^{-1}$ de ácidos OXL y OXM. Es evidente que estos dos compuestos presentan cierto grado de recalcitrancia, atribuida principalmente al estar presentes en forma de quelatos con el Fe(III). A diferencia, de los otros compuestos (ácidos MAL, FOR y FUM), el oxalato y el oxamato-Fe(III), son más estables incluso en la oxidación electroquímica [118,166]. En este caso en particular, es posible que el complejo de coordinación con el Fe(III) sea más estable en la degradación biológica, producto de una aparente toxicidad; sin embargo, se necesita más información al respecto. Otras posibles explicaciones pueden ser la saturación del sistema por la carga orgánica, o bien el TRH no es lo suficientemente prolongado para mejorar el intercambio sustrato-biopelícula.

No obstante, el uso del software ECOSAR application 2.2 (Ecological Structure Activity Relationship), por sus siglas en inglés, desarrollado por la US EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos), fue utilizado para consultar la posible toxicidad de los ácidos OXL y OXM. Se ha informado los ácidos OXL y OXM presentan baja toxicidad en especies de importancia ecológica, tales como *Leuciscus icus* (orfe dorado) y *Daphnia magna*. La toxicidad se reportó según el valor de CL50, que se refiere a la concentración letal que causa el 50% de la muerte de la especie en cuestión. Para *Leuciscus icus*, la CL50 de ácido OXL es de 168 mg L^{-1} a una exposición de 48 h (168 mg/L-48 h); mientras que para *Daphnia magna* es de 137.0 mg/L-48 h . En el caso del ácido OXM se reportó una CL50 de 563.0 mg/L-96 h para peces de agua dulce en general, y 247.0 mg/L-96 h para *Daphnia magna*.

Para otras especies como algas verdes se reportaron CL50 de 343.0 mg/L-96 h y 121.0 mg/L-96 h de ácido OXM y OXL respectivamente.

Las concentraciones máximas generadas y las concentraciones remanentes son de uno a dos órdenes de magnitud inferiores a los niveles que podrían tener un efecto adverso. Por lo tanto, la concentración final liberada como remanente no presenta un riesgo aparente para la biota acuática y, además, es biodegradable.

Otros compuestos fueron detectados en tiempos de retención de $T_R = 9.2$ y 11.8 min, posiblemente correspondientes a los ácidos propiónico y levulínico, respectivamente [167]. Estos ácidos no lograron ser cuantificados; sin embargo, no se descarta que sean producto del consumo del ácido OXL en mayor medida.

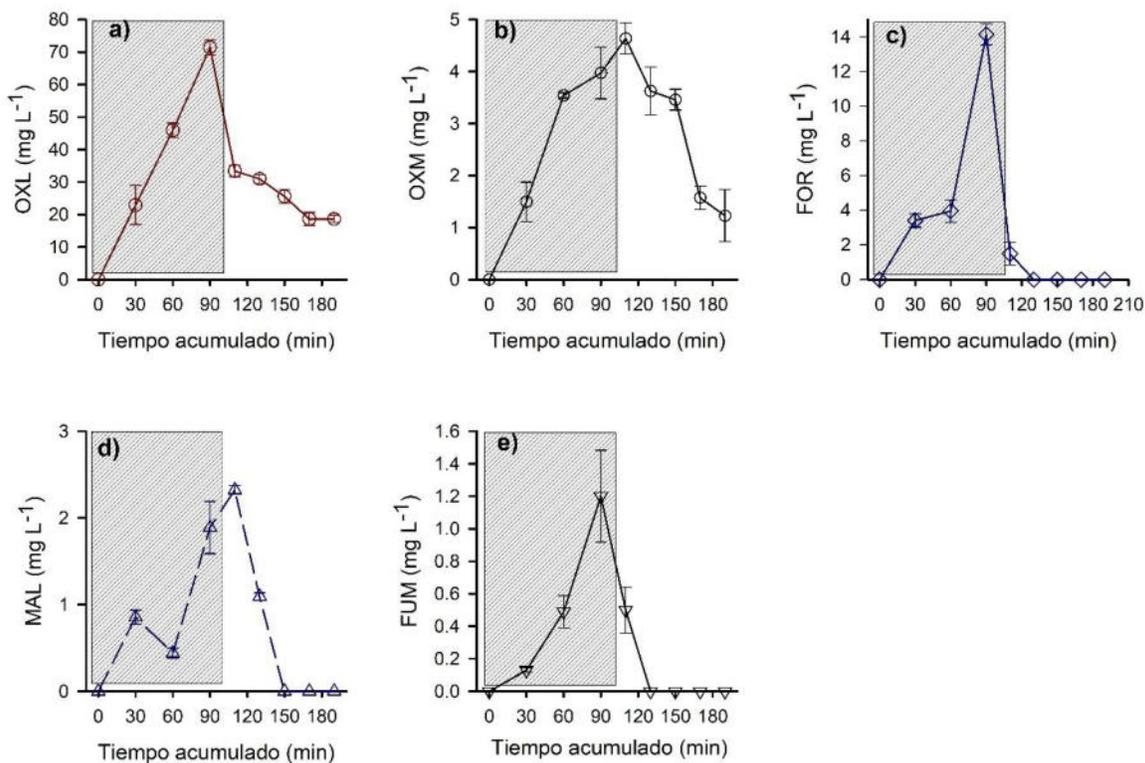


Fig. 43. Liberación de los ácidos, a) OXL, b) OXM, c) FOR, d) MAL e) FUM en la degradación de 30 mg L^{-1} (1:1:1) de la mezcla de FQs mediante el proceso combinado de EF (primer tratamiento) y tratamiento biológico en RE-2 (segundo tratamiento). $[\text{Fe}^{2+}] = 0.31 \text{ mmol L}^{-1}$; $j = 250 \text{ mA cm}^{-2}$ en 0.05 mol L^{-1} de Na_2SO_4 a pH 3. $T_{RH} = 2.15 \text{ h}$.

La actividad bacteriana se midió de acuerdo con los valores de los parámetros ambientales reportados en la Tabla 27. Dichos parámetros fueron evaluados al final del tratamiento EF, que corresponde al influente del RE-2. El valor de POR presentó un cambio habitual en el efluente al disminuir de 148 a -50 mV, lo cual evidenció la gran cantidad de reacciones bioquímicas que se llevaron a cabo. Por su parte el OD en el influente presentó un valor elevado, debido a la saturación de oxígeno disuelto en la solución. El OD de la solución en EF se debe a la aireación constante en el sistema a través del electrodo de difusión. Al final del tratamiento se presentó una disminución del OD en su concentración de 9 a 1 mg L⁻¹. Adicionalmente, el pH se mantuvo constante en toda la secuencia.

Tabla 27. Parámetros ambientales reportados en el tren de tratamiento EF/RE-2

Parámetro	Influente*	Efluente
pH	6.96 ± 0.06	7.14 ± 0.76
OD (mg L ⁻¹)	9.43 ± 0.11	1.49 ± 0.15
POR (mV)	148.65 ± 0.23	-50.34 ± 0.64

*Final del tratamiento EF a 90 min

3.14.2.1. Análisis del carbón orgánico total

Los resultados del análisis del COT para el tren de tratamientos EF-RE-2 se muestran en el gráfico de barras de la Figura 44. En este caso, para fines prácticos, sólo se tomó la lectura al inicio y al final del primero y segundo tratamiento. En el primer tratamiento, mostrado en la Figura 44-a, se presentó una remoción en el COT de 50.81 ± 0.81 a 31.71 ± 1.24 mg L⁻¹ justo a los 90 min de tratamiento, equivalente al 37.60% de la remoción del COT. Esta remoción equivale al total de la mezcla de las FQs; es decir que esta mineralización parcial se debe principalmente a la oxidación de los antibióticos.

Posteriormente, al inicio del segundo tratamiento se presentó un aumento considerable en el COT de 37.71 ± 1.24 a 1500 ± 35.56 mg L⁻¹ (Fig. 44-b). Dicho aumento fue producto de la adición del medio de cultivo MNR al efluente pretratado con EF. Adicionalmente, el RE-2 fue capaz de remover de 1500 a 1194.65 ± 31.71 mg L⁻¹, equivalente a 29.36% del COT total residual en efluente. Como se mencionó anteriormente, debido a las grandes cantidades de materia orgánica es difícil atribuir cuánta cantidad de COT les corresponde únicamente a los ácidos carboxílicos.

Es importante aclarar, que las mediciones del COT fueron cuantificadas considerando el influente del RE-2 con el medio de cultivo MNR, enriquecido con el remanente pretratado con EF. En tanto que las mediciones de los ácidos carboxílicos se realizaron únicamente partiendo del influente pretratado; es decir sin la adición del medio de cultivo. Este procedimiento fue realizado para evitar las interferencias debido a la producción de ácidos orgánicos provenientes de las fuentes orgánicas del MNR.

Los resultados hasta el momento no pueden ser comparados con los reportados por Mansour *et al.* (2015) y Martínez-Pachón *et al.* (2019), ya que en ambos caso el COT fue medido sin interferencia; sin embargo, no se reportó la metodología para evaluar este parámetro sin considerar la interferencia de la materia orgánica proveniente de los microorganismo y el medio de cultivo utilizado. Por su parte, estos autores siguieron la misma secuencia EF/tratamiento biológico; y en este caso se reportó la mineralización del 79.6% de la sulfametazina (0.2 mol L⁻¹) y 90% del valsartán (20 mg L⁻¹), respectivamente en el proceso combinado.

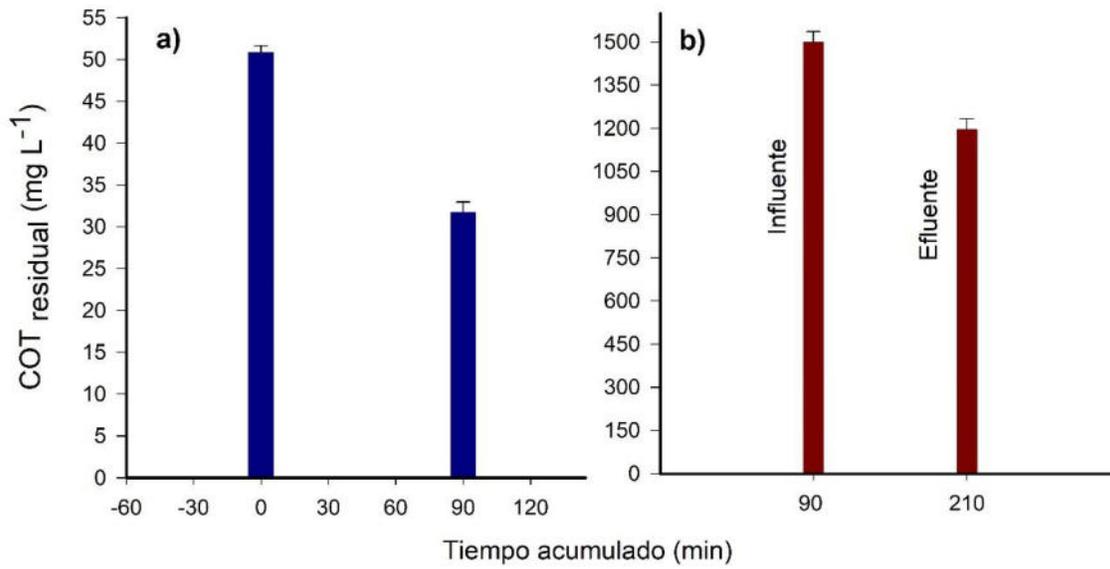


Fig. 44. a) Mineralización de la mezcla de 30 mg L⁻¹ (1:1:1) de FQs en EF (primer tratamiento); y b) en reactor biológico RE-2 (segundo tratamiento). [Fe²⁺] = 0.31 mmol L⁻¹; $j = 250 \text{ mA cm}^{-2}$ en 0.05 mol L⁻¹ de Na₂SO₄ a pH 3. TRH = 2.15 h.

CAPÍTULO 4 CONCLUSIONES

La implementación del proceso EF como tratamiento único en la degradación de una mezcla de ofloxacino, norfloxacino y ciprofloxacino demostró una eficacia del 100% en la degradación en tan solo 60 min. Además, se logró una mineralización del $61.02 \pm 2.0\%$ en 180 min de tratamiento, bajo las siguientes condiciones optimizadas: $[FQs] = 87.0 \text{ mg L}^{-1}$, $j = 244.0 \text{ mA cm}^{-2}$ y $[Fe^{2+}] = 0.31 \text{ mmol L}^{-1}$.

Utilizando la técnica de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS), se logró identificar de forma individual los intermediarios de degradación del ofloxacino, norfloxacino y ciprofloxacino, lo que permitió esclarecer el mecanismo de degradación de estos compuestos. Las rutas de degradación identificadas sugieren procesos de defluorinación, transformación del anillo de quinolona, descarboxilación y ruptura del anillo de piperazina.

La recalcitrancia del ofloxacino fue principalmente atribuida a la presencia del anillo de oxazina, el cual confiere una mayor estabilidad en comparación con el grupo etilo presente en el norfloxacino y la ciclopropano presente en el ciprofloxacino. Esto se debe a la resonancia electrónica presente en el anillo de oxazina.

La liberación predominante de subproductos de degradación durante la mineralización de la mezcla de fluoroquinolonas consistió principalmente en ácido oxálico y ácido oxámico, presentes en forma de oxalato y oxamato de hierro (III) respectivamente. Estos subproductos pudieron ser cuantificados utilizando la técnica de cromatografía de exclusión iónica. La cuantificación de los iones F^- y NO_3^- a través de cromatografía de intercambio iónico respaldó el proceso de mineralización de la mezcla de fluoroquinolonas mediante el proceso EF.

La prueba de secuestradores con inhibidores utilizando un 5% de ter-butanol demostró que la mayor parte de la degradación de la mezcla de fluoroquinolonas se debe a los radicales $\cdot OH$.

El tratamiento biológico en el reactor RE-1 logró la remoción individual obteniendo eficiencias de remoción del 91.04%, 90.75% y 87.21% para ofloxacino,

ciprofloxacino y norfloxacino respectivamente, cuando se trataba una concentración de 90, 50 y 50 mg L⁻¹. Asimismo, se lograron eficiencias de degradación en mezcla del 83.49%, 85.66% y 84.88% para ofloxacino, ciprofloxacino y norfloxacino, respectivamente a una concentración en 90 mg L⁻¹.

La cuantificación acumulada del ion F⁻ residual, confirmó la biodegradación efectiva de la mezcla de fluoroquinolonas.

El acoplamiento de los procesos en la secuencia del reactor biológico 1 (primer tratamiento) y electro-Fenton (segundo tratamiento) reveló que la eficacia del electro-Fenton se ve afectada en condiciones reales. Se lograron eficiencias de degradación del 98.0 ± 0.46%, 99.06 ± 0.26% y 97.2 ± 0.40% para la mezcla de ofloxacino, norfloxacino y ciprofloxacino respectivamente, a una concentración combinada de 30 mg L⁻¹, durante un tiempo de 90 min. Este descenso en la eficacia se atribuyó a la alta carga de materia orgánica de aproximadamente 2500 mg L⁻¹ y la presencia de especies inorgánicas que actúan como secuestradores de radicales libres.

Al acoplar los procesos en la secuencia electro-Fenton (primer tratamiento) y reactor biológico 2 (segundo tratamiento), se logró degradar la mezcla de fluoroquinolonas con una eficiencia del 100% en 60 min de tratamiento con EF, seguido de un consumo posterior en el tratamiento biológico del 37.3% de aproximadamente 63.69 mg L⁻¹ de los ácidos oxálico y oxámico en un tiempo acumulado de 210 min.

La acumulación de 42.5 mg L⁻¹ de ácido oxámico en el puerto 4 se atribuyó a la transformación del ácido oxálico a ácido oxámico en una ruta metabólica alternativa, posiblemente facilitada por la presencia de sales nitrogenadas.

Se ha demostrado que la combinación secuencial EF/RE-2 puede implementarse para reducir la toxicidad del influente previo a ser tratado mediante un el tratamiento biológico convencional. De esta manera se reduce el impacto negativo mejorando la eficiencia del tratamiento secundario, al consumir los subproductos finales de degradación. Así mismo la combinación secuencial RE-2/EF puede ser utilizado

para tratar influentes cargados con alta materia orgánica que no representen un riesgo para los microorganismos utilizados como tratamiento primario y, en consecuencia, mejorar la eficiencia de EF como tratamiento secundario. Por lo tanto, se confirmó que el enfoque secuencial de ambos tratamientos demostró ser prometedor para la eliminación eficiente de contaminantes emergentes en cuerpos de agua y aguas residuales.

CAPÍTULO 5 REFERENCIAS

- [1] E. Sanganyado, Policies and regulations for the emerging pollutants in freshwater ecosystems: Challenges and opportunities, (2022) 361–372.
- [2] I. Manisalidis, E. Stavropoulou, A. Stavropoulos, E. Bezirtzoglou, Environmental and Health Impacts of Air Pollution: A Review, *Front Public Health*. 8 (2020) 1–13.
- [3] N. Magesh, A. Annam Renita, P. Senthil Kumar, Practice on treating pharmaceutical compounds (antibiotics) present in wastewater using biosorption techniques with different biowaste compounds. A review, *Environ Prog Sustain Energy*. 39 (2020).
- [4] E.Y. Klein, T.P. Van Boeckel, E.M. Martinez, S. Pant, S. Gandra, S.A. Levin, H. Goossens, R. Laxminarayan, Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015., *Proc Natl Acad Sci U S A*. 115 (2018) E3463–E3470.
- [5] P. Sukul, M. Spitteller, Fluoroquinolone antibiotics in the environment, *Rev Environ Contam Toxicol*. 191 (2007) 131–162.
- [6] Y. Ma, M. Li, M. Wu, Z. Li, X. Liu, Occurrences and regional distributions of 20 antibiotics in water bodies during groundwater recharge, 518–519 (2015) 498–506.
- [7] M.M.P. Vázquez, P.P. Vázquez, M.M. Galera, M.D.G. García, Determination of eight fluoroquinolones in groundwater samples with ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction prior to high-performance liquid chromatography and fluorescence detection, *Anal Chim Acta*. 748 (2012) 20–27.
- [8] N. Janecko, L. Pokludova, J. Blahova, Z. Svobodova, I. Literak, Implications of fluoroquinolone contamination for the aquatic environment—A review, *Environ Toxicol Chem*. 35 (2016) 2647–2656.
- [9] A.S. Maia, P. Paíga, C. Delerue-Matos, P.M.L. Castro, M.E. Tiritan, Quantification of fluoroquinolones in wastewaters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, 259 (2020).
- [10] R. Yu, L. Chen, R. Shen, P. Li, N. Shi, Quantification of ultratrace levels of fluoroquinolones in wastewater by molecularly imprinted solid phase extraction and liquid chromatography triple quadrupole mass, *Environ Technol Innov*. 19 (2020) 100919.
- [11] D. Eluk, O. Nagel, A. Gagnetten, U. Reno, R. Althaus, Toxicity of fluoroquinolones on the cladoceran *Daphnia magna*, 93 (2021) 2914–2930.
- [12] R. Dionísio, D. Daniel, G.D. de Alkmin, B. Nunes, Multi-parametric analysis of ciprofloxacin toxicity at ecologically relevant levels: Short- and long-term effects on *Daphnia magna*, *Environ Toxicol Pharmacol*. 74 (2020) 103295.
- [13] C.M. Teglia, F.A. Perez, N. Michlig, M.R. Repetti, H.C. Goicoechea, M.J. Culzoni, Occurrence, Distribution, and Ecological Risk of Fluoroquinolones in Rivers and Wastewaters, *Environ Toxicol Chem*. 38 (2019) 2305–2313.
- [14] M. Manogaran, M.Y. Shukor, N.A. Yasid, W.L.W. Johari, S.A. Ahmad, Isolation and characterisation of glyphosate-degrading bacteria isolated from local soils in Malaysia, 28 (2017) 471–479.
- [15] W. Shu, Y. Zhang, D. Wen, Q. Wu, H. Liu, M. Hua Cui, B. Fu, J. Zhang, Y. Yao, Anaerobic biodegradation of levofloxacin by enriched microbial consortia: Effect of electron acceptors and carbon source, *J Hazard Mater*. 414 (2021).
- [16] S. Ortega-Peña, E. Hernández-Zamora, Biopelículas microbianas y su impacto en áreas médicas: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento, *Bol Med Hosp Infant Mex*. 75 (2018) 79–88.

- [17] K. Acuna-Askar, D.E. Pecina-Chacon, M. Mas-Trevino, R. Tijerina-Menchaca, E.G. Rodriguez-Perez, H.A. Luna-Olvera, J.A. Ascacio-Martinez, H.A. Barrera-Saldana, J.M. Alfaro-Barbosa, The Monod and a biphasic biodegradation kinetics of diesel hydrocarbons by a biofilm of *Pseudomonas* and the potential electromotive force involved, 90 (2015) 1253–1262.
- [18] J.A. Garrido-Cardenas, B. Esteban-García, A. Agüera, J.A. Sánchez-Pérez, F. Manzano-Agugliaro, Wastewater Treatment by Advanced Oxidation Process and Their Worldwide Research Trends, *Int J Environ Res Public Health*. 17 (2020).
- [19] J. Wang, R. Zhuan, Degradation of antibiotics by advanced oxidation processes: An overview, 701 (2020) 135023.
- [20] E. Brillas, A review on the photoelectro-Fenton process as efficient electrochemical advanced oxidation for wastewater remediation. Treatment with UV light, sunlight, and coupling with conventional and other photo-assisted advanced technologies, *Chemosphere*. 250 (2020) 126198.
- [21] H. Luo, C. Li, C. Wu, W. Zheng, X. Dong, Electrochemical degradation of phenol by in situ electro-generated and electro-activated hydrogen peroxide using an improved gas diffusion cathode, *Electrochim Acta*. 186 (2015) 486–493.
- [22] M.H. Tran, H.C. Nguyen, T.S. Le, V.A.D. Dang, T.H. Cao, C.K. Le, T.-D. Dang, Degradation of glyphosate herbicide by an electro-Fenton process using carbon felt cathode, *Environ Technol*. 42 (2021) 1155–1164.
- [23] N. Tan, Z. Yang, X. bo Gong, Z. ran Wang, T. Fu, Y. Liu, In situ generation of H₂O₂ using MWCNT-Al/O₂ system and possible application for glyphosate degradation, 650 (2019) 2567–2576.
- [24] T. Pérez, I. Sirés, E. Brillas, J.L. Nava, Solar photoelectro-Fenton flow plant modeling for the degradation of the antibiotic erythromycin in sulfate medium, *Electrochim Acta*. 228 (2017) 45–56.
- [25] H. Olvera-Vargas, N. Oturan, M.A. Oturan, E. Brillas, Electro-Fenton and solar photoelectro-Fenton treatments of the pharmaceutical ranitidine in pre-pilot flow plant scale, *Sep Purif Technol*. 146 (2015) 127–135.
- [26] B. Garza-Campos, D. Morales-Acosta, A. Hernández-Ramírez, J.L. Guzmán-Mar, L. Hinojosa-Reyes, J. Manríquez, E.J. Ruiz-Ruiz, Air diffusion electrodes based on synthesized mesoporous carbon for application in amoxicillin degradation by electro-Fenton and solar photo electro-Fenton, *Electrochim Acta*. 269 (2018) 232–240.
- [27] D. Mansour, F. Fourcade, I. Soutrel, D. Hauchard, N. Bellakhal, A. Amrane, Relevance of a combined process coupling electro-Fenton and biological treatment for the remediation of sulfamethazine solutions - Application to an industrial pharmaceutical effluent, 18 (2015) 39–44.
- [28] D. Martínez-Pachón, M. Ibáñez, F. Hernández, R.A. Torres-Palma, A. Moncayo-Lasso, Photoelectro-Fenton process applied to the degradation of valsartan: Effect of parameters, identification of degradation routes and mineralization in combination with a biological system, *J Environ Chem Eng*. 6 (2018) 7302–7311.
- [29] A. Aboudalle, H. Djelal, L. Domergue, F. Fourcade, A. Amrane, A novel system coupling an electro-Fenton process and an advanced biological process to remove a pharmaceutical compound, metronidazole, *J Hazard Mater*. 415 (2021) 125705.
- [30] D. LI, J. QU, The progress of catalytic technologies in water purification: A review, 21 (2009) 713–719.
- [31] J.L. WANG, L.E.J.I.N. XU, Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: Formation of Hydroxyl Radical and Application, *Crit Rev Environ Sci Technol*. 42 (2012) 251–325.
- [32] D. Kanakaraju, B.D. Glass, M. Oelgemöller, Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: A review, *J Environ Manage*. 219 (2018) 189–207.

- [33] N.T. Joutey, W. Bahafid, H. Sayel, N. el Ghachtouli, Biodegradation: Involved Microorganisms and Genetically Engineered Microorganisms, in: R. Chamy, F. Rosenkranz (Eds.), Biodegradation, IntechOpen, Rijeka, **2013**.
- [34] S.O. Ganiyu, M. Zhou, C.A. Martínez-Huitle, Heterogeneous electro-Fenton and photoelectro-Fenton processes: A critical review of fundamental principles and application for water/wastewater treatment, *Appl Catal B*. 235 (**2018**) 103–129.
- [35] E.N. Evgenidou, I.K. Konstantinou, D.A. Lambropoulou, Occurrence and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: A review, 505 (**2015**) 905–926.
- [36] C. Goswami, K.K. Hazarika, P. Bharali, Transition metal oxide nanocatalysts for oxygen reduction reaction, *Mater Sci Energy Technol*. 1 (**2018**) 117–128.
- [37] M. Zheng, Y. Yang, S. Qiao, J. Zhou, X. Quan, A porous carbon-based electro-Fenton hollow fiber membrane with good antifouling property for microalgae harvesting, *J Memb Sci*. 626 (**2021**) 119189.
- [38] E. Mousset, Z. Wang, J. Hammaker, O. Lefebvre, Physico-chemical properties of pristine graphene and its performance as electrode material for electro-Fenton treatment of wastewater, *Electrochim Acta*. 214 (**2016**) 217–230.
- [39] E. Petrucci, A. da Pozzo, L. di Palma, On the ability to electrogenerate hydrogen peroxide and to regenerate ferrous ions of three selected carbon-based cathodes for electro-Fenton processes, 283 (**2016**) 750–758.
- [40] F. Menegazzo, M. Signoretto, E. Ghedini, G. Strukul, Looking for the “dream catalyst” for hydrogen peroxide production from hydrogen and oxygen, 9 (**2019**).
- [41] J.K. Lee, K.L. Walker, H.S. Han, J. Kang, F.B. Prinz, R.M. Waymouth, H.G. Nam, R.N. Zare, Spontaneous generation of hydrogen peroxide from aqueous microdroplets, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 116 (**2019**) 19294–19298.
- [42] J. He, N. Li, D. Zhang, G. Zheng, H. Zhang, K. Yu, J. Jiang, Real-time monitoring of ciprofloxacin degradation in an electro-Fenton-like system using electrochemical-mass spectrometry, 6 (**2020**) 181–188.
- [43] N. Barhoumi, L. Labiadh, M.A. Oturan, N. Oturan, A. Gadri, S. Ammar, E. Brillas, Electrochemical mineralization of the antibiotic levofloxacin by electro-Fenton-pyrite process, *Chemosphere*. 141 (**2015**) 250–257.
- [44] N. Thomas, D.D. Dionysiou, S.C. Pillai, Heterogeneous Fenton catalysts: A review of recent advances, *J Hazard Mater*. 404 (**2021**) 124082.
- [45] M. hui Zhang, H. Dong, L. Zhao, D. xi Wang, D. Meng, A review on Fenton process for organic wastewater treatment based on optimization perspective, 670 (**2019**) 110–121.
- [46] E. Brillas, A review on the degradation of organic pollutants in waters by UV photoelectro-fenton and solar photoelectro-fenton, *J Braz Chem Soc*. 25 (**2014**) 393–417.
- [47] G. Pliego, J.A. Zazo, P. Garcia-Muñoz, M. Munoz, J.A. Casas, J.J. Rodriguez, Trends in the Intensification of the Fenton Process for Wastewater Treatment: An Overview, *Crit Rev Environ Sci Technol*. 45 (**2015**) 2611–2692.
- [48] M. Murugananthan, S. Yoshihara, T. Rakuma, T. Shirakashi, Mineralization of bisphenol A (BPA) by anodic oxidation with boron-doped diamond (BDD) electrode, *J Hazard Mater*. 154 (**2008**) 213–220.
- [49] H. Luo, B. Wang, F. Wang, J. Yang, F. Wu, Y. Ning, Y. Zhou, D. Wang, H. Liu, S. Dou, Anodic Oxidation Strategy toward Structure-Optimized V₂O₃ Cathode via Electrolyte Regulation for Zn-Ion Storage, *ACS Nano*. 14 (**2020**) 7328–7337.
- [50] K. Yamamoto, M. Kuriyama, O. Onomura, Anodic Oxidation for the Stereoselective Synthesis of Heterocycles, *Acc Chem Res*. 53 (**2020**) 105–120.

- [51] Z. Hu, J. Cai, G. Song, Y. Tian, M. Zhou, Anodic oxidation of organic pollutants: Anode fabrication, process hybrid and environmental applications, *Curr Opin Electrochem.* 26 (2021) 100659.
- [52] T.L. da Silva, C.S.D. Costa, M.G.C. da Silva, M.G.A. Vieira, Overview of non-steroidal anti-inflammatory drugs degradation by advanced oxidation processes, *J Clean Prod.* 346 (2022) 131226.
- [53] J. Mora-Gomez, E. Ortega, S. Mestre, V. Pérez-Herranz, M. García-Gabaldón, Electrochemical degradation of norfloxacin using BDD and new Sb-doped SnO₂ ceramic anodes in an electrochemical reactor in the presence and absence of a cation-exchange membrane, *Sep Purif Technol.* 208 (2019) 68–75.
- [54] J. Zhang, Y. Zhou, B. Yao, J. Yang, D. Zhi, Current progress in electrochemical anodic oxidation of pharmaceuticals: Mechanisms, influencing factors, and new technique, *J Hazard Mater.* 418 (2021) 126313.
- [55] K. Miyashita, Takeshi Kondo, S. Sugai, Takahiro Tei, M. Nishikawa, Toshifumi Tojo, M. Yuasa, Boron-doped nanodiamond as an electrode material for aqueous electric double-layer capacitors, (n.d.).
- [56] J.R. Domínguez, T. González, P. Palo, J. Sánchez-Martín, Electrochemical Advanced Oxidation of Carbamazepine on Boron-Doped Diamond Anodes. Influence of Operating Variables, *Ind Eng Chem Res.* 49 (2010) 8353–8359.
- [57] G. Loos, T. Scheers, K. van Eyck, A. van Schepdael, E. Adams, B. van der Bruggen, D. Cabooter, R. Dewil, Electrochemical oxidation of key pharmaceuticals using a boron doped diamond electrode, *Sep Purif Technol.* 195 (2018) 184–191.
- [58] D. Clematis, M. Panizza, Application of boron-doped diamond electrodes for electrochemical oxidation of real wastewaters, *Curr Opin Electrochem.* 30 (2021) 100844.
- [59] C. Heim, M. Rajab, G. Greco, S. Grosse, J.E. Drewes, T. Letzel, B. Helmreich, Fate of Diclofenac and Its Transformation and Inorganic By-Products in Different Water Matrices during Electrochemical Advanced Oxidation Process Using a Boron-Doped Diamond Electrode, (n.d.).
- [60] H. Monteil, Y. Pechaud, N. Oturan, C. Trelu, M.A. Oturan, Pilot scale continuous reactor for water treatment by electrochemical advanced oxidation processes: Development of a new hydrodynamic/reactive combined model, 404 (2021) 127048.
- [61] L. Cao, J. Yang, Y. Xu, W. Sun, Q. Shen, J. Zhou, J. Yang, The coupling use of electrochemical and advanced oxidation to enhance the gaseous elemental mercury removal in flue gas, *Sep Purif Technol.* 257 (2021) 117883.
- [62] S.H. Thor, L.N. Ho, S.A. Ong, C.Z.A. Abidin, C.Y. Heah, N. Nordin, Y.P. Ong, K.L. Yap, Advanced oxidation treatment of amaranth dye synchronized with electricity generation using carbon-based cathodes in a sustainable photocatalytic fuel cell integrated electro-fenton system, *J Environ Chem Eng.* 9 (2021) 106439.
- [63] Q. Zhang, M. Zhou, Z. Lang, X. Du, J. Cai, L. Han, Dual strategies to enhance mineralization efficiency in innovative electrochemical advanced oxidation processes using natural air diffusion electrode: Improving both H₂O₂ production and utilization efficiency, 413 (2021) 127564.
- [64] S.S. Chan, K.S. Khoo, K.W. Chew, T.C. Ling, P.L. Show, Recent advances biodegradation and biosorption of organic compounds from wastewater: Microalgae-bacteria consortium - A review, *Bioresour Technol.* 344 (2022) 126159.
- [65] M.F. Imron, S.B. Kurniawan, N. 'Izzati Ismail, S.R.S. Abdullah, Future challenges in diesel biodegradation by bacteria isolates: A review, *J Clean Prod.* 251 (2020) 119716.
- [66] H. Li, F. Meng, W. Duan, Y. Lin, Y. Zheng, Biodegradation of phenol in saline or hypersaline environments by bacteria: A review, *Ecotoxicol Environ Saf.* 184 (2019) 109658.

- [67] T. Steliga, K. Wojtowicz, P. Kapusta, J. Brzeszcz, molecules Assessment of Biodegradation Efficiency of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Petroleum Hydrocarbons (TPH) in Soil Using Three Individual Bacterial Strains and Their Mixed Culture, (n.d.).
- [68] A. Nzila, Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons under anaerobic conditions: Overview of studies, proposed pathways and future perspectives, 239 (2018) 788–802.
- [69] N. Bai, S. Li, J. Zhang, H. Zhang, H. Zhang, X. Zheng, W. Lv, Efficient biodegradation of DEHP by CM9 consortium and shifts in the bacterial community structure during bioremediation of contaminated soil, 266 (2020) 115112.
- [70] P.K. Arora, A. Srivastava, V.P. Singh, Bacterial degradation of nitrophenols and their derivatives, J Hazard Mater. 266 (2014) 42–59.
- [71] P. Bhatt, V.M. Pathak, S. Joshi, T.S. Bisht, K. Singh, D. Chandra, Major metabolites after degradation of xenobiotics and enzymes involved in these pathways, (2019) 205–215.
- [72] G.A. Abo-Zaid, N.A.-M. Soliman, A.S. Abdullah, E.E. El-Sharouny, S.M. Matar, S.A. Sabry, Maximization of Siderophores Production from Exponential Fed-Batch Fermentation, 8 (2020) 1–20. doi:10.3390/pr8040455.
- [73] P. Kongjan, N. Usmanbaha, S. Khaonuan, R. Jariyaboon, S. O-Thong, A. Reungsang, Butanol production from algal biomass by acetone-butanol-ethanol fermentation process, (2021) 421–446.
- [74] A. Haduch, W.A. Daniel, The engagement of brain cytochrome P450 in the metabolism of endogenous neuroactive substrates: a possible role in mental disorders, Drug Metab Rev. 50 (2018) 415–429.
- [75] J. Lu, X. Shang, W. Zhong, Y. Xu, R. Shi, X. Wang, New insights of CYP1A in endogenous metabolism: a focus on single nucleotide polymorphisms and diseases, Acta Pharm Sin B. 10 (2020) 91–104.
- [76] S. Liu, How Cells Grow, (2017) 629–697.
- [77] P. van Alphen, H. Abedini Najafabadi, F. dos Santos, K.J. Hellingwerf, Increasing the Photoautotrophic Growth Rate of *Synechocystis* sp. PCC 6803 by Identifying the Limitations of Its Cultivation, Biotechnol J. 13 (2018) 1700764.
- [78] J.G. Kuenen, O.J. Johnson, Continuous Cultures (Chemostats), (2009) 130–147.
- [79] Monod 1949, (2014). <http://www.elmacombiano.com/NUMERO87/images/PDFfiles/Monod1949.pdf%5Cnpapers2://publication/uuid/289982D9-C0CE-4A0B-B41C-279EF7F938C0>.
- [80] B. Basak, B.H. Jeon, M.B. Kurade, G.D. Saratale, B. Bhunia, P.K. Chatterjee, A. Dey, Biodegradation of high concentration phenol using sugarcane bagasse immobilized *Candida tropicalis* PHB5 in a packed-bed column reactor, Ecotoxicol Environ Saf. 180 (2019) 317–325.
- [81] J.P. López-Gómez, M. Alexandri, R. Schneider, J. Venus, A review on the current developments in continuous lactic acid fermentations and case studies utilising inexpensive raw materials, 79 (2019) 1–10.
- [82] R.M. Maier, I.L. Pepper, Bacterial Growth, (2015) 37–56.
- [83] G.L. Foutch, A.H. Johannes, Reactors in Process Engineering, (2003) 23–43.
- [84] R.D. Hoelzle, D. Puyol, B. Viridis, D. Batstone, Substrate availability drives mixed culture fermentation of glucose to lactate at steady state, Biotechnol Bioeng. 118 (2021) 1617–1629.
- [85] S.R. Geed, M.K. Kureel, B.S. Giri, R.S. Singh, B.N. Rai, Performance evaluation of Malathion biodegradation in batch and continuous packed bed bioreactor (PBBR), Bioresour Technol. 227 (2017) 56–65.

- [86] S.P. Singh, P. Prerna, Review of recent advances in anaerobic packed-bed biogas reactors, 13 (2009) 1569–1575.
- [87] J. Xu, Y. Song, B. Min, L. Steinberg, B.E. Logan, Microbial Degradation of Perchlorate: Principles and Applications, Environ Eng Sci. 20 (2003) 405–422.
- [88] Y. Wang, Z. Wang, Q. Zhang, G. Li, C. Xia, Comparison of bio-hydrogen and bio-methane production performance in continuous two-phase anaerobic fermentation system between co-digestion and digestate recirculation, Bioresour Technol. 318 (2020) 124269.
- [89] Y. Wang, N. Joshee, W. Cao, Q. Wu, N. Tahir, Continuous hydrogen production by dark and photo co-fermentation using a tubular multi-cycle bioreactor with Paulownia biomass, 26 (2019) 8429–8438.
- [90] A. Sánchez-Zurano, E. Rodríguez-Miranda, J.L. Guzmán, F.G. Ación-Fernández, J.M. Fernández-Sevilla, E. Molina Grima, ABACO: A New Model of Microalgae-Bacteria Consortia for Biological Treatment of Wastewaters, 11 (2021).
- [91] H. Wu, M. Wang, S. Zhu, J. Xie, S. Preis, F. Li, C. Wei, Structure and function of microbial community associated with phenol co-substrate in degradation of benzo[a]pyrene in coking wastewater, Chemosphere. 228 (2019) 128–138.
- [92] K. Brindle, T. Stephenson, The application of membrane biological reactors for the treatment of wastewaters, Biotechnol Bioeng. 49 (1996) 601–610.
- [93] K. v. Darsa, A.J. Thatheyus, Biodegradation of Petroleum Compound Using Pseudomonas aeruginosa, OAlib. 01 (2014) 1–9.
- [94] E.W. Thiele, Relation between Catalytic Activity and Size of Particle, Ind Eng Chem. 31 (1939) 916–920.
- [95] K. Williamson, P.L. McCarty, A model of substrate utilization by bacterial films, 48 (1976) 9–24.
- [96] E. Arvin, Biodegradation kinetics of chlorinated aliphatic hydrocarbons with methane oxidizing bacteria in an aerobic fixed biofilm reactor, Water Res. 25 (1991) 873–881.
- [97] M. Campos-Pineda, K. Acuna-Askar, J.A. Martínez-Guel, M. Mas-Trevino, R. Tijerina-Menchaca, L.M. Martínez, M. Videá, R. Parra-Saldivar, Time and cost-efficient biodegradation of diesel in a continuous-upflow packed bed biofilm reactor and effect of surfactant GAELE, 87 (2012) 1131–1140.
- [98] R. Kumar, S. Pundir, Bacterial Cell, Classification and Required Essential Contents for Growth, 11 (2021) 181–187.
- [99] C. Baker-Austin, M. Dopson, Life in acid: pH homeostasis in acidophiles., Trends Microbiol. 15 (2007) 165–171.
- [100] B.C. Knight, Oxidation-reduction studies in relation to bacterial growth: A method of poisoning the oxidation-reduction potential of bacteriological culture media., Biochem J. 24 (1930) 1075–1079.
- [101] I. Uesugi, M. Yajima, Oxygen and „strictly anaerobic” intestinal bacteria I. Effects of dissolved oxygen on growth, Z Allg Mikrobiol. 18 (1978) 287–295.
- [102] C.W. Jones, Bacterial Respiration., 1 (1985) 507–519.
- [103] A. V. Gusakov, Alternatives to Trichoderma reesei in biofuel production, Trends Biotechnol. 29 (2011) 419–425.
- [104] I. Brook, S.S. Long, Anaerobic Bacteria: Classification, Normal Flora, and Clinical Concepts, (2012) 958-966.e3.
- [105] N.N. Sang, S. Soda, T. Ishigaki, M. Ike, Microorganisms in landfill bioreactors for accelerated stabilization of solid wastes, J Biosci Bioeng. 114 (2012) 243–250.

- [106] B. Li, S. Irvin, The comparison of alkalinity and ORP as indicators for nitrification and denitrification in a sequencing batch reactor (SBR), *Biochem Eng J.* 34 (2007) 248–255.
- [107] W.G. Zumft, Cell biology and molecular basis of denitrification., *Microbiol Mol Biol Rev.* 61 (1997) 533–616.
- [108] G. Coria, T. Pérez, I. Sirés, E. Brillas, J.L. Nava, Abatement of the antibiotic levofloxacin in a solar photoelectro-Fenton flow plant: Modeling the dissolved organic carbon concentration-time relationship, *Chemosphere.* 198 (2018) 174–181.
- [109] M.S. Yahya, G. Kaichouh, M. Khachani, M. El Karbane, M.A. Arshad, A. Zarrouk, K. El Kacemi, Mineralization of ofloxacin antibiotic in aqueous medium by electro-fenton process using a carbon felt cathode: Influencing factors, 12 (2020) 425–426.
- [110] V.C. Lima, T.S. Prata, G. Landa, L.A. Yannuzzi, R.B. Rosen, Intravitreal triamcinolone and bevacizumab therapy for combined papillophlebitis and central retinal artery occlusion, *Retin Cases Brief Rep.* 4 (2010) 125–128.
- [111] Y. Hou, Q. Li, W. He, M. Li, J. Xue, X. Li, Y. Li, Enhanced biodegradation of modified fluoroquinolone for aerobic, facultative, and anaerobic processes using quantitative structure-activity relationship, molecular docking, and molecular dynamics, *Biochem Eng J.* 169 (2021).
- [112] R.B. Carneiro, C.M. Mukaeda, C.A. Sabatini, Á.J. Santos-Neto, M. Zaiat, Influence of organic loading rate on ciprofloxacin and sulfamethoxazole biodegradation in anaerobic fixed bed biofilm reactors, *J Environ Manage.* 273 (2020).
- [113] D. Martínez-Pachón, P. Espinosa-Barrera, J. Rincón-Ortíz, A. Moncayo-Lasso, Advanced oxidation of antihypertensives losartan and valsartan by photo-electro-Fenton at near-neutral pH using natural organic acids and a dimensional stable anode-gas diffusion electrode (DSA-GDE) system under light emission diode (LED) lighting, 26 (2019) 4426–4437.
- [114] A. Espinosa-Mansilla, A.M. de la Peña, D.G. Gómez, F. Salinas, HPLC determination of enoxacin, ciprofloxacin, norfloxacin and ofloxacin with photoinduced fluorimetric (PIF) detection and multiemission scanning: application to urine and serum., *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 822 (2005) 185–193.
- [115] P. Zhang, H. Li, S. Yao, W. Wang, Effects of pH and polarity on the excited states of norfloxacin and its 4'-N-acetyl derivative: A steady-state and time-resolved study, *Sci China Chem.* 57 (2014) 409–416.
- [116] K. Yin, L. Deng, J. Luo, J. Crittenden, C. Liu, Y. Wei, L. Wang, Destruction of phenolic antibiotics using the UV/H₂O₂ process: Kinetics, byproducts, toxicity evaluation and trichloromethane formation potential, 351 (2018) 867–877.
- [117] A.L. Giraldo, E.D. Erazo-Erazo, O.A. Flórez-Acosta, E.A. Serna-Galvis, R.A. Torres-Palma, Degradation of the antibiotic oxacillin in water by anodic oxidation with Ti/IrO₂ anodes: Evaluation of degradation routes, organic by-products and effects of water matrix components, 279 (2015) 103–114.
- [118] I. Sirés, E. Brillas, Remediation of water pollution caused by pharmaceutical residues based on electrochemical separation and degradation technologies: A review, *Environ Int.* 40 (2012) 212–229.
- [119] S. Garcia-Segura, E. Brillas, Mineralization of the recalcitrant oxalic and oxamic acids by electrochemical advanced oxidation processes using a boron-doped diamond anode, *Water Res.* 45 (2011) 2975–2984.
- [120] S.H. Cho, A. Jang, P.L. Bishop, S.H. Moon, Kinetics determination of electrogenerated hydrogen peroxide (H₂O₂) using carbon fiber microelectrode in electroenzymatic degradation of phenolic compounds, *J Hazard Mater.* 175 (2010) 253–257.
- [121] L. Chen, A. Pinto, A.N. Alshwabkeh, Activated Carbon as a Cathode for Water Disinfection through the Electro-Fenton Process, 9 (2019).

- [122] X. Zhang, J. Fu, Y. Zhang, L. Lei, A nitrogen functionalized carbon nanotube cathode for highly efficient electrocatalytic generation of H₂O₂ in Electro-Fenton system, *Sep Purif Technol.* 64 (2008) 116–123.
- [123] G. Xia, Y. Lu, H. Xu, An energy-saving production of hydrogen peroxide via oxygen reduction for electro-Fenton using electrochemically modified polyacrylonitrile-based carbon fiber brush cathode, *Sep Purif Technol.* 156 (2015) 553–560.
- [124] G. Xia, Y. Lu, H. Xu, Electrogeneration of hydrogen peroxide for electro-Fenton via oxygen reduction using polyacrylonitrile-based carbon fiber brush cathode, *Electrochim Acta.* 158 (2015) 390–396.
- [125] J.F. Carneiro, J.M. Aquino, B.F. Silva, A.J. Silva, R.C. Rocha-Filho, Comparing the electrochemical degradation of the fluoroquinolone antibiotics norfloxacin and ciprofloxacin using distinct electrolytes and a BDD anode: evolution of main oxidation byproducts and toxicity, *J Environ Chem Eng.* 8 (2020) 104433.
- [126] Z. Chen, W. Lai, Y. Xu, G. Xie, W. Hou, P. Zhanchang, C. Kuang, Y. Li, Anodic oxidation of ciprofloxacin using different graphite felt anodes: Kinetics and degradation pathways, *J Hazard Mater.* 405 (2021) 124262.
- [127] M. Murugananthan, S.S. Latha, G. Bhaskar Raju, S. Yoshihara, Anodic oxidation of ketoprofen—An anti-inflammatory drug using boron doped diamond and platinum electrodes, *J Hazard Mater.* 180 (2010) 753–758.
- [128] H. Olvera-Vargas, N. Oturan, E. Brillas, D. Buisson, G. Esposito, M.A. Oturan, Electrochemical advanced oxidation for cold incineration of the pharmaceutical ranitidine: Mineralization pathway and toxicity evolution, *Chemosphere.* 117 (2014) 644–651.
- [129] E. Brillas, I. Sirés, C. Arias, P.L. Cabot, F. Centellas, R.M. Rodríguez, J.A. Garrido, Mineralization of paracetamol in aqueous medium by anodic oxidation with a boron-doped diamond electrode, *Chemosphere.* 58 (2005) 399–406.
- [130] A. Adachi, F. el Ouadrhiri, M. Kara, I. el Manssouri, A. Assouguem, M.H. Almutairi, R. Bayram, H.R.H. Mohamed, I. Peluso, N. Eloutassi, A. Lahkimi, Decolorization and Degradation of Methyl Orange Azo Dye in Aqueous Solution by the Electro Fenton Process: Application of Optimization, 12 (2022).
- [131] G.K. Akkaya, H.S. Erkan, E. Sekman, S. Top, H. Karaman, M.S. Bilgili, G.O. Engin, Modeling and optimizing Fenton and electro-Fenton processes for dairy wastewater treatment using response surface methodology, 16 (2019) 2343–2358.
- [132] M.A. Al-Omar, Ofloxacin, *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol.* 34 (2009) 265–298.
- [133] M. Shoorangiz, M.R. Nikoo, M. Salari, G.R. Rakhshandehroo, M. Sadegh, Optimized electro-Fenton process with sacrificial stainless-steel anode for degradation/mineralization of ciprofloxacin, 132 (2019) 340–350.
- [134] A. Özcan, A. Atılır Özcan, Y. Demirci, Evaluation of mineralization kinetics and pathway of norfloxacin removal from water by electro-Fenton treatment, 304 (2016) 518–526.
- [135] C. Wang, G. Yu, H. Chen, J. Wang, Degradation of norfloxacin by hydroxylamine enhanced fenton system: Kinetics, mechanism and degradation pathway, *Chemosphere.* 270 (2021) 129408.
- [136] G. Wang, D. Zhao, F. Kou, Q. Ouyang, J. Chen, Z. Fang, Removal of norfloxacin by surface Fenton system (MnFe₂O₄/H₂O₂): Kinetics, mechanism and degradation pathway, 351 (2018) 747–755.
- [137] D. Yu, J. He, Z. Wang, H. Pang, L. Li, Y. Zheng, Y. Chen, J. Zhang, Mineralization of norfloxacin in a CoFe–LDH/CF cathode-based heterogeneous electro-fenton system: Preparation parameter optimization of the cathode and conversion mechanisms of H₂O₂ to ·OH, 417 (2021) 129240.

- [138] X. Bai, Y. Li, L. Xie, X. Liu, S. Zhan, W. Hu, A novel Fe-free photo-electro-Fenton-like system for enhanced ciprofloxacin degradation: Bifunctional Z-scheme WO₃/g-C₃N₄, *Environ Sci Nano*. 6 (2019) 2850–2862.
- [139] A. Huang, D. Zhi, H. Tang, L. Jiang, S. Luo, Y. Zhou, Effect of Fe²⁺, Mn²⁺ catalysts on the performance of electro-Fenton degradation of antibiotic ciprofloxacin, and expanding the utilizing of acid mine drainage, 720 (2020) 137560.
- [140] M.S. Yahya, N. Oturan, K. El Kacemi, M. El Karbane, C.T. Aravindakumar, M.A. Oturan, Oxidative degradation study on antimicrobial agent ciprofloxacin by electro-fenton process: Kinetics and oxidation products, *Chemosphere*. 117 (2014) 447–454.
- [141] E. Aseman-Bashiz, H. Sayyaf, Synthesis of nano-FeS₂ and its application as an effective activator of ozone and peroxydisulfate in the electrochemical process for ofloxacin degradation: A comparative study, *Chemosphere*. 274 (2021) 129772.
- [142] J. Liu, X. Wu, J. Liu, C. Zhang, Q. Hu, X. Hou, Ofloxacin degradation by Fe₃O₄-CeO₂/AC Fenton-like system: Optimization, kinetics, and degradation pathways, 465 (2019) 61–67.
- [143] X. Weng, G. Owens, Z. Chen, Synergetic adsorption and Fenton-like oxidation for simultaneous removal of ofloxacin and enrofloxacin using green synthesized Fe NPs, 382 (2020) 122871.
- [144] I.A. Larralde-Piña, K. Acuña-Askar, M. Villanueva-Rodríguez, J.L. Guzmán-Mar, J.C. Murillo-Sierra, E.J. Ruiz-Ruiz, An optimized electro-fenton pretreatment for the degradation and mineralization of a mixture of ofloxacin, norfloxacin, and ciprofloxacin., *Chemosphere*. 344 (2023) 140339.
- [145] J.A. Bañuelos, O. García-Rodríguez, A. El-Ghenymy, F.J. Rodríguez-Valadez, L.A. Godínez, E. Brillas, Advanced oxidation treatment of malachite green dye using a low-cost carbon-felt air-diffusion cathode, *J Environ Chem Eng*. 4 (2016) 2066–2075.
- [146] V.B. Lima, L.A. Goulart, R.S. Rocha, J.R. Steter, M.R.V. Lanza, Degradation of antibiotic ciprofloxacin by different AOP systems using electrochemically generated hydrogen peroxide, *Chemosphere*. 247 (2020) 125807.
- [147] Y. Zhang, A. Wang, X. Tian, Z. Wen, H. Lv, D. Li, J. Li, Efficient mineralization of the antibiotic trimethoprim by solar assisted photoelectro-Fenton process driven by a photovoltaic cell, *J Hazard Mater*. 318 (2016) 319–328.
- [148] O. Fónagy, E. Szabó-Bárdos, O. Horváth, 1,4-Benzoquinone and 1,4-hydroquinone based determination of electron and superoxide radical formed in heterogeneous photocatalytic systems, *J Photochem Photobiol A Chem*. 407 (2021).
- [149] R.D. McWhinney, S. Zhou, J.P.D. Abbatt, Naphthalene SOA: redox activity and naphthoquinone gas–particle partitioning, *Atmos Chem Phys*. 13 (2013) 9731–9744.
- [150] M. Zhu, J. Lu, Y. Hu, Y. Liu, S. Hu, C. Zhu, Photochemical reactions between 1,4-benzoquinone and O₂^{•-}, 27 (2020) 31289–31299.
- [151] R.K. Sonwani, B.S. Giri, R.P. Jaiswal, R.S. Singh, B.N. Rai, Performance evaluation of a continuous packed bed bioreactor: Bio-kinetics and external mass transfer study, *Ecotoxicol Environ Saf*. 201 (2020) 110860.
- [152] H. Zilouei, B. Guieysse, B. Mattiasson, Biological degradation of chlorophenols in packed-bed bioreactors using mixed bacterial consortia, 41 (2006) 1083–1089.
- [153] B. Ponce Lira, A. Ortiz Polo, E.M. Otazo Sánchez, E. Reguera Ruiz, O.A. Acevedo Sandoval, F. Prieto Garcia, C.A. Gonzalez Ramírez, Caracterización física de una roca volcánica abundante en México: “tezontle rojo” proveniente del Cerro de la Cruz, en Tlahuelilpan, Hidalgo, México, *Acta Univ*. 23 (2013) 9–16.
- [154] R. Aryal, J. Lebegue, S. Vigneswaran, J. Kandasamy, A. Grasmick, Identification and characterisation of biofilm formed on membrane bioreactor, *Sep Purif Technol*. 67 (2009) 86–94.

- [155] T.J.H.M. Van Bergen, A.B. Rios, M. Tom, M.N. Ad, R. Van Zelm, M. Graumans, P.T.J. Scheepers, M.S.M. Jetten, A.J. Hendriks, C.U. Welte, Do initial concentration and activated sludge seasonality affect pharmaceutical biotransformation rate constants. *Appl Microbiol Biotechnol.* (2021) 6515–6527.
- [156] L.V. de Souza Santos, D.C. Teixeira, R.S. Jacob, M.C.S. do Amaral, L.C. Lange, Evaluation of the aerobic and anaerobic biodegradability of the antibiotic norfloxacin., *Water Sci Technol.* 70 (2014) 265–271.
- [157] R.A.E. Shaker, Y.I. Nagy, M.E. Adly, R.A. Khattab, Y.M. Ragab, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Elizabethkingia miricola* isolated from wastewater have biodegradable activity against fluoroquinolone, *World J Microbiol Biotechnol.* 38 (2022) 1–15.
- [158] A.M. Dugandžić, A. V Tomašević, M.M. Radišić, N.Ž. Šekuljica, D.Ž. Mijin, S.D. Petrović, Effect of inorganic ions, photosensitisers and scavengers on the photocatalytic degradation of nicosulfuron, *J Photochem Photobiol A Chem.* 336 (2017) 146–155.
- [159] A. Ahmadian, S. Ahmadi, B.A. Goharrizi, Roles of reactive species in photocatalysis: effect of scavengers and inorganic ions on dye removal from wastewater, 20 (2023) 6433–6448.
- [160] C.H. Liao, S.F. Kang, F.A. Wu, Hydroxyl radical scavenging role of chloride and bicarbonate ions in the H₂O₂/UV process., *Chemosphere.* 44 (2001) 1193–1200.
- [161] R. Henderson, K. Carlson, D. Gregory, The impact of ferrous ion reduction of chlorite ion on drinking water process performance, *Water Res.* 35 (2001) 4464–4473.
- [162] D.S. L., M. Luke, P. Henry, W.K. D., A.D. G., H.R. P., N. Lama, H. Marguerite, K. John, Forty Years of *Oxalobacter formigenes*, a Gutsy Oxalate-Degrading Specialist, *Appl Environ Microbiol.* 87 (2021) e00544-21.
- [163] S.S. Shinde, A.M. Patil, S.G. Wagh, G.B. Janvale, Detection and identification of oxalate-degrading bacteria from high oxalate containing vegetables, 7 (2023) 105–113.
- [164] D. Karamad, K. Khosravi-Darani, A.M. Khaneghah, A.W. Miller, Probiotic Oxalate-Degrading Bacteria: New Insight of Environmental Variables and Expression of the *oxc* and *frc* Genes on Oxalate Degradation Activity., *Foods.* 11 (2022).
- [165] K.N. Yeun, L.Y. Joo, P.J. Won, K.S. Nyung, K.E. Young, K. Yuseob, K.O. Bin, An *Escherichia coli* FdrA Variant Derived from Syntrophic Coculture with a Methanogen Increases Succinate Production Due to Changes in Allantoin Degradation, *MSphere.* 6 (2021) 10.1128/msphere.00654-21.
- [166] E. Brillas, I. Sirés, M.A. Oturan, Electro-Fenton Process and Related Electrochemical Technologies Based on Fenton's Reaction Chemistry, *Chem Rev.* 109 (2009) 6570–6631.
- [167] T. Fujiwara, R. Inoue, T. Ohtawa, M. Tsunoda, Liquid-Chromatographic Methods for Carboxylic Acids in Biological Samples, 25 (2020).

APÉNDICE I

CURVAS DE CALIBRACIÓN Y OPERACIÓN DE LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS

1.1. Espectrofotometría de UV-Vis

La técnica de espectrofotometría de UV-Vis fue utilizada para determinar las longitudes de onda λ de las FQs y del H_2O_2 . Para todos los analitos se realizó un barrido espectral desde 200 a 600 nm; en el caso del H_2O_2 la longitud de onda máxima fue de 410 nm, mientras que para FQs se registró en 275 para NOR y CIP, y 290 para OFL. La figura 45 muestra el espectro de absorción del H_2O_2 , y en la Figura 46 se muestran los tres espectros de las FQs.

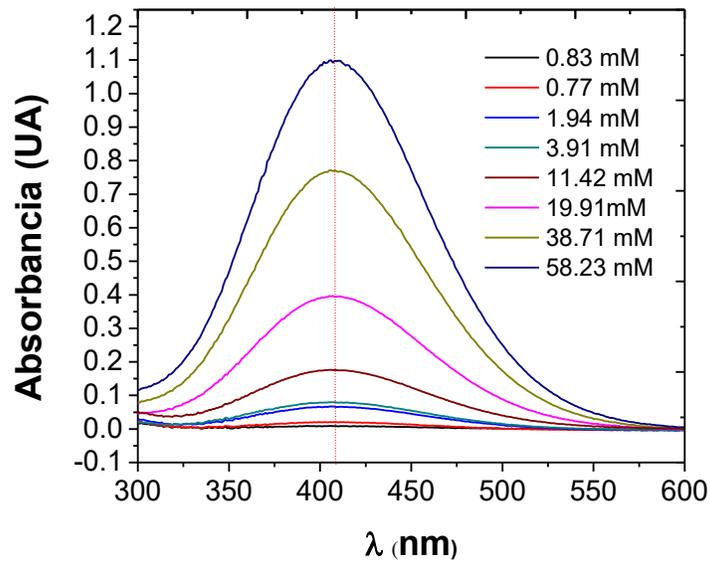


Fig. 45. Espectro de absorción del H_2O_2 a diferentes concentraciones.

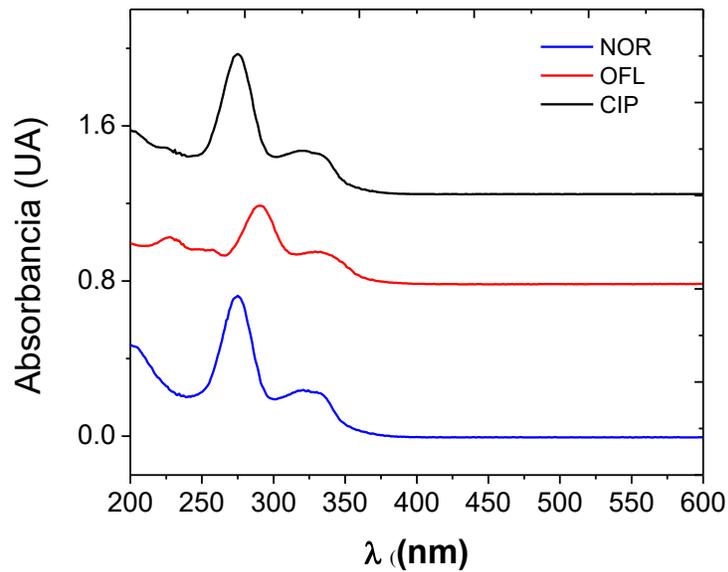


Fig. 46. Espectros de absorción de OFL, CIP y NOR.

La Figura 47 muestra la curva de calibración del H_2O_2 que se construyó en función de las concentraciones utilizadas. A cada uno de los estándares se les añadió 1 mL de $TiOSO_4$ y fue llevado a 10 mL para completar como factor de dilución. Las muestras tomadas de la celda para la cuantificación del H_2O_2 siguen este mismo procedimiento. Los parámetros analíticos se muestran en la Tabla 28.

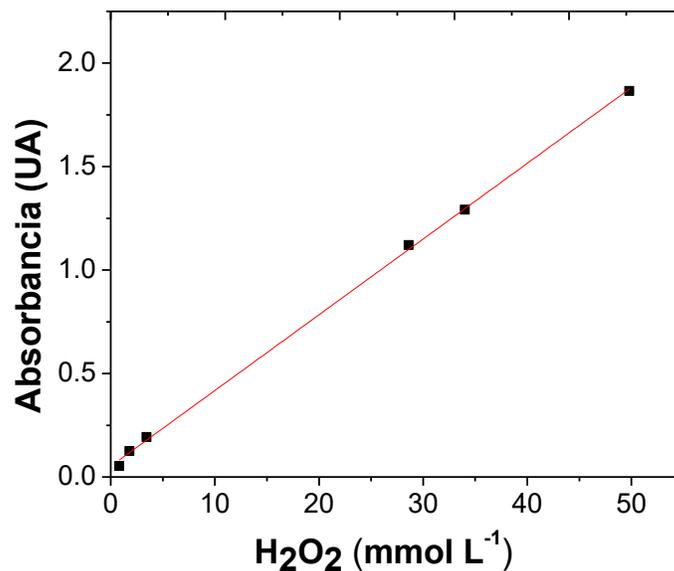


Fig. 47. Curva de calibración del H₂O₂, $\lambda = 410 \text{ nm}$

Rango lineal (mmol L ⁻¹)	0.38-52.2
Límite de detección (LOD) (mmol L ⁻¹)	0.01
Límite de cuantificación (LOQ) (mmol L ⁻¹)	0.05
R ²	0.9942
RSD punto mínimo (%)	0.59
RSD punto máximo (%)	0.18

1.2. Cromatografía de líquidos de alta resolución HPLC: fase reversa

La implementación del método analítico de separación se llevó a cabo utilizando la cromatografía de fase reversa HPLC. En la sección de la metodología se describió detalladamente el tipo y la composición de la fase móvil. Las curvas de calibración se construyeron en el rango de 0.8 a 60 mg L⁻¹; en esta ocasión no se realizó un factor de dilución, salvo la utilización de los filtros de jeringa para considerar la posible pérdida del analito a la hora de cuantificar la concentración en los experimentos de degradación. Las curvas de calibración de los tres compuestos se

muestran las figuras 48-a, b y c, siguiendo el mismo orden de la elución: OFL, NOR y CIP.

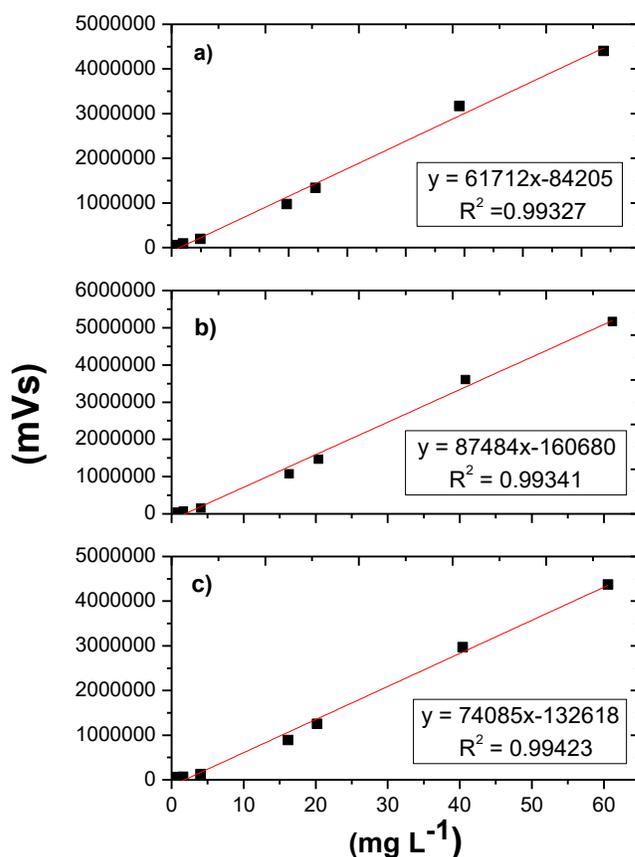


Fig. 48. Curvas de calibración de a) OFL, b) NOR y c) CIP. Fase móvil: K₂HPO₄:ACN:THF (90:5:5 v/v) a 1.0 mL min⁻¹, $\lambda = 275$ y 290 nm.}

Tabla 29. Parámetros analíticos obtenidos en las curvas de calibración del OFL, NOR y CIP.

Parámetros	Compuesto		
	OFL	CIP	NOR
Rango lineal (mg L ⁻¹) *	0.8-60		
Tiempo de retención (min)	8.37	9.45	10.27
Límite de detección LOD (mg L ⁻¹)	0.33	0.075	0.08
R ²	0.9962	0.9956	0.9953
Límite de cuantificación LOQ (mg L ⁻¹)	1.12	0.25	0.29
RSD punto mínimo (%)	4.11	4.17	4.15
RSD punto máximo (%)	3.33	3.08	3.47

*El rango de concentración es igual en los tres compuestos

1.3. Cromatografía de exclusión iónica

La cromatografía de exclusión iónica se utilizó para detección y cuantificación de los ácidos carboxílicos de cadena corta que fueron evaluados tanto en la parte final del tratamiento EF como al final de tratamiento biológico en el reactor biológico RE-2. La detección de los 5 ácidos seleccionados: oxálico, maleico, oxámico, fórmico, y fumárico se realizó a una longitud de onda $\lambda = 210$ nm con la elución asistida por 4 mmol L^{-1} de H_2SO_4 como fase móvil. El cromatograma se muestra en la Figura 49. La selección de los ácidos se realizó de acuerdo con lo reportado por la literatura en cuanto a la producción más recurrente después de la oxidación de compuestos orgánicos mediante EF.

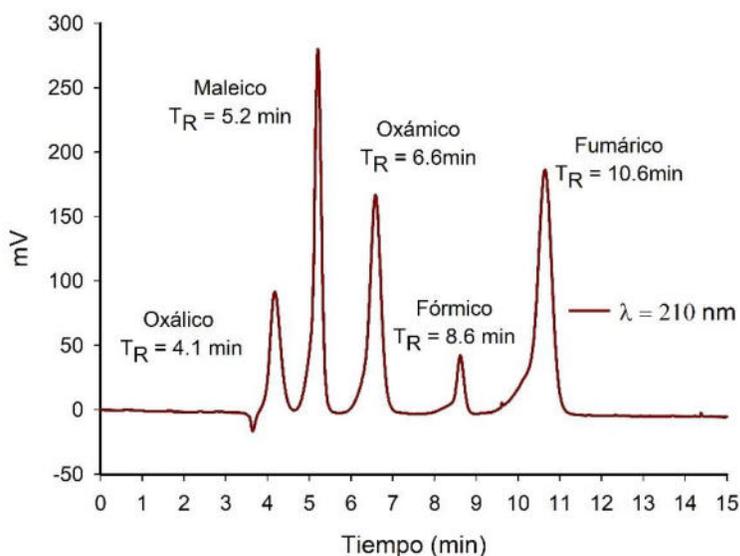


Fig. 49. Cromatograma de los ácidos oxálico, maleico, oxámico, fórmico y fumárico detectados mediante cromatografía de exclusión iónica, empleando fase móvil de 4 mmol L^{-1} a 0.8 mL min^{-1} , $\lambda = 210$ nm

Las curvas de calibración de cada uno de los ácidos se muestran en la Figura 50. Los parámetros analíticos se muestran en la Tabla 30.

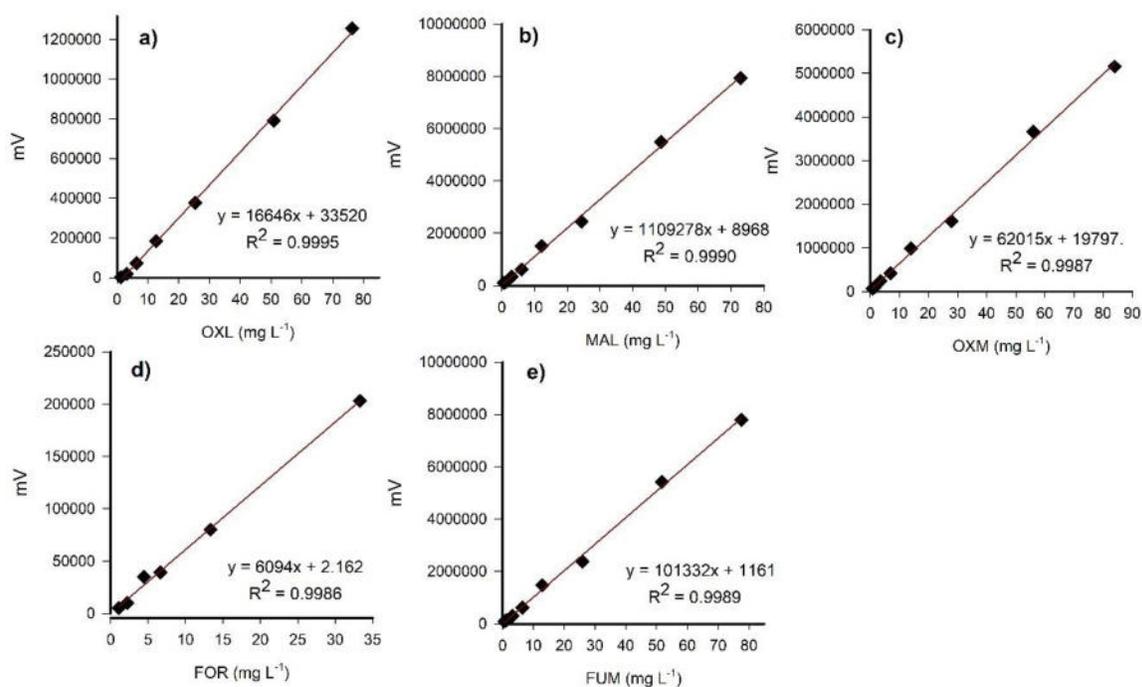


Fig. 50. Curvas de calibración de los ácidos a) OXL, b) MAL, c) OXM, d) FOR y e) FUM. Fase móvil de 4 de mmol L⁻¹ a 0.8 mL min⁻¹, $\lambda = 210$ nm

Tabla 30. Parámetros analíticos obtenidos de las curvas de calibración de los ácidos carboxílicos

Parámetros	Compuesto				
	OXL	MAL	OXM	FOR	FUM
Rango lineal (mg L ⁻¹)	1.2-76	0.6-72	0.7-84	1.1-33	0.6-77
Tiempo de retención (min)	4.1	5.2	6.6	8.6	10.6
Límite de detección LOD (mg L ⁻¹)	0.04	0.01	0.01	2.11	0.02
R ²	0.9995	0.9990	0.9987	0.9988	0.9989
Límite de cuantificación LOQ (mg L ⁻¹)	0.12	0.03	0.04	7.22	0.05

1.4. Cromatografía de intercambio iónico

Este tipo de cromatografía se empleó para la separación de los iones F⁻ y NO₃⁻. La separación de estos iones se llevó a cabo empleando una columna rellena de una resina de intercambio iónico. La fase móvil consistió en una combinación de 4.5

mmol L⁻¹ Na₂CO₃/0.8 mmol L⁻¹ NaHCO₃. El flujo se ajustó a 1 mL min⁻¹, mientras que la temperatura y la corriente se mantuvieron a 30°C y 25 mA, respectivamente. Para este método cromatográfico no se muestra cromatograma; sin embargo, las curvas de calibración para cada anión se reportan en la Figura 51, mientras que en la Tabla 31 se muestran los parámetros analíticos.

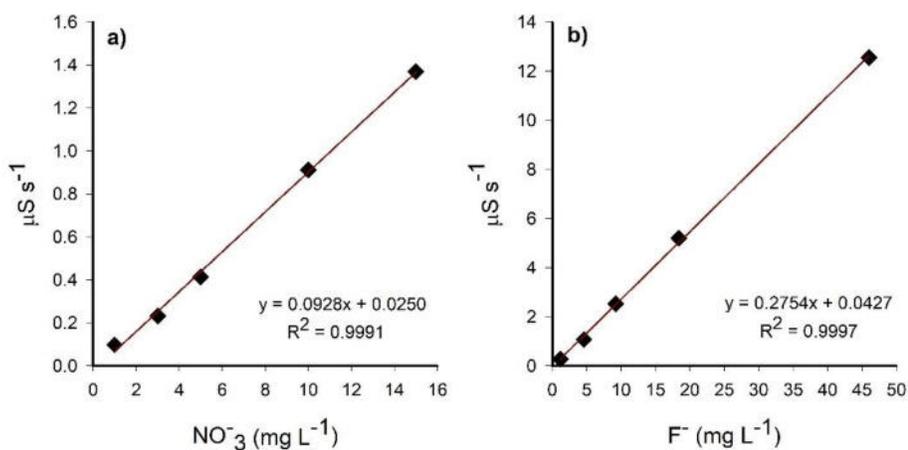


Fig. 51. Curvas de calibración de los aniones a) NO₃⁻ y b) F⁻ en cromatografía de intercambio iónico. Fase móvil de 4.5 mmol L⁻¹ Na₂CO₃/0.8 mmol L⁻¹ NaHCO₃ a un flujo de 1 mL min⁻¹.

Tabla 31. Parámetros analíticos obtenidos de las curvas de calibración de los aniones NO_3^- y F^- .

Parámetros	Anión	
	NO_3^-	F^-
Rango lineal (mg L ⁻¹)	1-15	1-45
Tiempo de retención (min)	2.2	4.6
Límite de detección LOD (mg L ⁻¹)	0.8	1.5
R ²	0.9991	0.9997
Límite de cuantificación LOQ (mg L ⁻¹)	2.8	5.2

1.5. Cromatografía de líquidos acoplada a masas

La técnica LC-MS/MS se empleó para la detección de los intermediarios de degradación en relación con su masa carga (m/z). El fundamento de esta técnica se describe en el Apéndice 2; en tanto que en esta sección se resumen el método de operación del LC-MS/MS para las tres FQs. Las condiciones cromatográficas se muestran en al Tabla 32.

Tabla 32. Condiciones cromatográficas para la detección de las FQs mediante LC-MS/MS.

Eluyente A:	0.05% ácido fórmico en c agua grado HPLC	
Eluyente B:	0.05% ácido fórmico en ACN	
flujo o caudal (μL min ⁻¹)	300	
Volumen de inyección (μL)	50	
Post-tiempo (min)	2	
Tiempo (min)	Eluyente	
	A	B
0	95	5
0.2	95	5
4.2	5	95
6	5	95

APÉNDICE 2

TÉCNICAS ANALÍTICAS

2.1. Espectrofotometría de UV-Vis

La espectrofotometría o también llamada espectroscopía de UV-Vis es una técnica cuantitativa utilizada para medir cantidad de luz que absorbe una sustancia en específico. Esto se hace midiendo la intensidad de la luz que pasa a través de una muestra respecto a la intensidad absorbida por un blanco o referencia.

2.1.1. Fundamento

El principio de la espectrofotometría se basa en la absorción de luz de una sustancia en el rango del UV y de la luz visible, lo que resulta en la producción de distintos espectros. Básicamente *espectroscopía* se define como la interacción de la luz con la materia. Cuando la materia absorbe la luz, produce excitación en los electrones produciendo un espectro; es decir, los electrones viajan de un estado de menor a mayor energía. Este proceso se le conoce como *transición*. Las transiciones más comunes ocurren de electrones n o π a π^* porque la energía requerida para esta transición lleva las bandas de absorción hacia longitudes que comprenden el rango de (200-800 nm); sin embargo, algunas más escasas ocurren en la región de UV de vacío ($\lambda = < 180$ nm). El tipo de transición que ocurre en esta región es de n a σ^* .

Para las transiciones $n \rightarrow \pi$ y $\pi \rightarrow \pi^*$ se requiere un grupo funcional no saturado que aporte los orbitales π . A las moléculas que presentan este tipo de enlaces se les denomina *cromóforos*, que en el caso de las FQs se presenta tanto en los anillos aromáticos de la quinolona como en el grupo carboxilo. En el caso del complejo $\text{TiOSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ presenta la misma transición con una longitud de onda de detección en el rango visible de 410 nm.

2.2. Cromatografía de líquidos en fase reversa

Esta técnica fue implementada para la separación de las tres FQs en mezcla y para dar seguimiento a la degradación mediante los procesos electroquímicos y biológicos. La cromatografía en fase reversa (CFR) sigue el principio general de la cromatografía con la característica fundamental de poseer una fase estacionaria no polar y una fase móvil polar.

2.2.1. Fundamento

La CFR consta de una fase móvil y una fase estacionaria. La fase móvil consiste en uno o una mezcla de solventes con diferente polaridad, siendo el agua el solvente más utilizado. La utilización de diferentes solventes orgánicos se aplica para reducir la polaridad al agua (p. ej. Acetonitrilo, metanol, tetrahidrofurano, ente otros). El objetivo de la fase móvil es empujar a los analitos de la fase estacionaria no polar cuando se encuentran retenidos. La diferencia de afinidad causa una competitividad entre los analitos, la fase estacionaria y la fase móvil. Si los analitos son más afines a la fase móvil, estos saldrán hasta llegar al detector, que codifica la señal en forma de un pico, a esto se le conoce como *elución*. La señal es interpretada por el analista que al final registra el resultado con base en la respuesta numérica conocida como área de pico.

Generalmente la fase estacionaria está constituida por una resina polimérica, siendo el octadecilsilano (C18) una de las más comunes en CFR. En ella, la interacción de los analitos se dará en función de su polaridad; es decir, aquellos analitos más apolares tendrán más afinidad por la fase estacionaria. En caso contrario, cuando el analito presente alta polaridad o polaridad media, la interacción analito-fase estacionaria será débil.

2.3. Cromatografía de intercambio iónico

La cromatografía de intercambio o cromatografía iónica (CI) es un tipo de cromatografía utilizada para la separación de especies iónicas (aniones, cationes, proteínas, aminoácidos, nucleótidos etc,.) en función de su carga. En este proyecto

se implementó para la evolución de los iones inorgánicos desprendidos de las moléculas de las FQs en el proceso de degradación.

2.3.1. Fundamento

El principio básico de la CI se basa en la retención irreversible de los iones a una resina intercambiadora. El proceso de separación de los iones se da en dos fases: en la primera, las especies cargadas se unen al intercambiador mediante unión electrostática; en la segunda, los iones son separadas tras la adición de buffers de diferentes pH o diferente fuerza iónica que deriva en la competición del buffer con los sitios de unión en la resina. La resina intercambiadora generalmente posee grupos cargados positiva o negativamente según sea el caso. Cuando estos intercambiadores poseen grupos cargados positivamente se les denomina intercambiador aniónico; por el contrario, si posee grupos cargados negativamente se le denomina intercambiador catiónico.

Por su parte, el principio de elución depende generalmente del tipo de resina o de otras propiedades (tamaño de ion). Comúnmente la selectividad de los iones se da en función del tamaño del ion cuando presentan cargas iguales, o bien, dependiendo de la carga neutra; es decir los iones polivalentes tienen más afinidad por las resinas.

2.4. Cromatografía de exclusión iónica

La cromatografía de exclusión de iones (CEI) se utilizó en este proyecto para la separación de ácidos carboxílicos sencillos que se forman como intermediarios en la degradación de los tres compuestos. Este tipo de cromatografía no es un tipo de CI, ya que los ácidos carboxílicos son especies neutras; sin embargo, se utilizan columnas con resinas intercambiadoras para realizar las separaciones.

2.4.1. Fundamento

La fase móvil en la CEI consiste en soluciones diluidas de ácidos, por ejemplo, H_2SO_4 ; la fase estacionaria consiste en resinas de intercambio catiónico o aniónico. A la columna analítica le sigue una columna inhibidora que está rellena con una resina de intercambio catiónico generalmente de plata. En seguida los iones hidrógeno presentes en el eluyente se intercambian con los iones plata que inducen la precipitación de los iones sulfato, inhibiendo la contribución iónica presente en el eluyente. Finalmente, las formas no disociadas de los analitos se distribuyen entre la fase móvil y la columna. Generalmente la selectividad en CEI se da en función de masa molar: aquellos analitos más pesados se retendrán más tiempo en la columna.

2.5. Cromatografía de líquidos acoplada a masas

La espectrometría de masas se usa habitualmente en cromatografía como detector ya que brinda información cualitativa y cuantitativa de las especies separadas en la columna. El acoplamiento de un detector de masas a la cromatografía de líquidos permite conocer con alta precisión la identidad de cada analito separado; sin embargo, la cromatografía de líquidos presenta una desventaja mayor a la de gases, debido a la cantidad de gas generada tras la evaporación de la fase móvil. Gran cantidad de este gas deber ser eliminado antes entrar al detector de masas. Los métodos más comunes para introducir el eluato al detector de masas son *electronebulizador potenciado neumáticamente* y la *ionización química a presión atmosférica*.

2.5.1. Fundamento

La cromatografía líquida se realiza de manera similar en la elección de la fase móvil que transporta los analitos a través de la columna (fase estacionaria), dirigidos luego hacia un detector típicamente UV-Vis. La señal de absorbancia se convierte en una señal eléctrica mediante un tubo fotomultiplicador. Posteriormente, los analitos pueden ser ionizados en una fuente de iones de un espectrómetro de masas. En

esta fuente de iones, las moléculas se ionizan mediante ionización electrónica (formando iones moleculares M^+) o química (formando iones MH^+).

El espectrómetro de masas de sector magnético separa los iones gaseosos según sus relaciones masa-carga (m/z), acelerándolos en un campo eléctrico y dirigiéndolos a través de arcos de curvatura variable para su separación. Al final del arco, los iones se detectan mediante un multiplicador electrónico. El espectro de masas obtenido representa la respuesta del detector en función de los valores m/z .

2.6. Carbono orgánico total

El carbón orgánico total (COT) es la cantidad de carbón presente en su forma orgánica presente en agua pura o sistema acuoso. En este proyecto de investigación se utilizó para medir el grado de mineralización de las tres moléculas mediante el equipo correspondiente.

2.6.1. Fundamento

El equipo analizador COT acidifica la muestra para oxidar las moléculas de carbono presentes y convertirlas en CO_2 . Otras técnicas realizan la medición discriminando entre las especies de carbono inorgánico; como, CO_2 disuelto y bicarbonato y el CO_2 generado tras la oxidación de las moléculas de carbono. Finalmente, la determinación se hace mediante la resta de todas las especies de carbono inorgánico (CIT) con respecto al carbono total (CT).

RECOMENDACIONES

- Ampliar los tiempos de tratamiento de ambos procesos para aumentar la eficiencia en la remoción de la materia orgánica
- Activar previamente la tela da carbón grafito PTFE para aumentar la producción de H₂O₂
- Detección previa de ácidos carboxílicos considerando un tratamiento con un analito nuevo.
- Alimentación previa con los analitos detectados considerando la disponibilidad de estos en el laboratorio.

DISPOSICIÓN DE LOS RESIDUOS

La disposición de los residuos se llevó a cabo de acuerdo con el reglamento del departamento de Medio Ambiente y Seguridad de la Facultad de Ciencias y Químicas y la Facultad de Medicina de la UANL.

Disposición de los residuos de acuerdo con el reglamento de Medio Ambiente y Seguridad de la Facultad de Ciencias Químicas.

Tipo de residuo	Contenido	Contenedor de disposición
Residuo electro-Fenton	Sales inorgánicas y oxidantes	A
Residuo HPLC	Solventes orgánicos	E
Plásticos	Pipetas y puntillas	Plásticos
Otros	Guantes, papel contaminado	Industrial

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Datos personales		
Nombres:		
Israel Angel Larralde Piña		
e-mail	Teléfono	Fax
Israel.larraldepn@uanl.edu.mx	8129061882	
larraldeisrael@gmail.com		
Datos de Nacimiento		
Ciudad y Estado	Fecha (mes y año)	
San Nicolás de los Garza, Nuevo León	Agosto 2 de 1992	
Resumen Académico		
Licenciatura (Facultad de Ciencias Biológicas)	Maestría (Facultad de Ciencias Químicas)	Doctorado (Facultad de Ciencias Químicas)
Biólogo (enero 2011-Junio 2016)	Química Analítica Ambiental (agosto 2019-junio 2021)	Química y Tecnología Ambiental (agosto 2021-junio 2024)