



Universidad de Valladolid



**ESCUELA DE INGENIERÍAS
INDUSTRIALES**

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

ESCUELA DE INGENIERIAS INDUSTRIALES

Grado en Ingeniería Química

**Vías de degradación de antibióticos en
tratamientos fotocatalíticos y biológicos de
aguas residuales. Aplicación a
sulfadiacina, tetraciclina y ciprofloxacino.**

Autor:

Fraile Arce, María

Tutor(es):

Irusta Mata, Rubén

García Encina, Pedro Antonio

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente

Valladolid, junio 2024.



RESUMEN

En este trabajo fin de grado se estudian diversos procesos de degradación de tres antibióticos: sulfadiacina (SDZ), tetraciclina (TET) y ciprofloxacino (CIP) para cuantificar su eliminación y determinar los productos de degradación obtenidos.

Para ello, se desarrolla un estudio experimental en el laboratorio del Instituto de Procesos Sostenibles (ISP) del Departamento Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente en la Universidad de Valladolid. Se trabaja con un tratamiento terciario como la fotocatalisis con TiO_2 y un tratamiento secundario biológico (incluyendo los mecanismos de fotólisis, hidrólisis, biodegradación y adsorción) en reactores a escala de laboratorio donde se estudia y controla el proceso de degradación.

Para el análisis de las muestras de los reactores y la cuantificación de la degradación de los compuestos se utiliza un equipo HPLC-QTOF-MS ubicado en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la Universidad de Valladolid. Se obtiene una degradación nula para la SDZ por hidrólisis y fotólisis, y mediante adsorción para los tres antibióticos. Además, se alcanza un porcentaje de eliminación del 99 % para la TET y el CIP, y un 25,3 % para la SDZ por fotocatalisis. Y un porcentaje de eliminación del 89,4 % para la SDZ, 99,9 % para la TET y 67,2 % para el CIP por el tratamiento biológico. Los productos obtenidos por la degradación de la sulfadiacina son: $C_{10}H_{10}N_4O_3S$, $C_{10}H_{10}N_4O_4S$, $C_{10}H_8N_4O_4S$, $C_{10}H_{10}N_4$ y $C_{10}H_{10}N_4O_2S$; para la tetraciclina: $C_8H_6O_2$, $C_{19}H_{18}NO_8$, $C_{19}H_{19}NO_7$ y, para el ciprofloxacino: $C_{13}H_{11}FN_2O_3$, $C_{14}H_{16}N_3O_3$, $C_{16}H_{18}FN_3O_3$, $C_{17}H_{16}FN_3O_5$, $C_{17}H_{19}N_3O_4$.

PALABRAS CLAVES

Contaminantes emergentes, degradación, ciprofloxacino, sulfadiacina y tetraciclina.

ABSTRACT

This final degree work is based on the degradation of three antibiotics: sulfadiazine (SDZ), tetracycline (TET) and ciprofloxacin (CIP) to quantify their elimination and determine the degradation products obtained.

For this, an experimental study is being carried out in the laboratory of the Institute of Sustainable Processes (ISP) of the Department of Chemical Engineering and Environmental Technology at the University of Valladolid. We work with a tertiary treatment such as photocatalysis with TiO_2 and a secondary treatment such as biodegradation (including the mechanisms of photolysis, hydrolysis and adsorption) in laboratory-scale reactors where the degradation process is studied and controlled.

The HPLC-QTOF-MS equipment at the Instrumental Techniques Laboratory of the University of Valladolid is used to analyze the samples collected from the reactors. Zero degradation was obtained for SDZ by hydrolysis and photolysis, and by adsorption for all three antibiotics. In addition, an elimination rate of 99% is achieved for TET and CIP, and 25.3% for SDZ by photocatalysis. Also, an elimination rate of 89.4% for SDZ, 99.9% for TET and 67.2% was attained for CIP for biodegradation treatment. The products obtained from the degradation of sulfadiazine are: $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$, $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$, $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$, $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4$ and $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$; $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2$, $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{NO}_8$ and $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_7$ for tetracycline, and finally: $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}_3$, $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_3$, $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$, $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{FN}_3\text{O}_5$ and $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$ for ciprofloxacin.

KEYWORDS

Emerging contaminants, degradation, ciprofloxacin, sulfadiazine and tetracycline.





ÍNDICE

RESUMEN	1
PALABRAS CLAVES.....	1
ABSTRACT	2
KEYWORDS	2
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	15
CAPÍTULO II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	34
2.1 Justificación	34
2.2 Objetivos	35
CAPÍTULO III. MATERIALES Y EQUIPOS	36
3.1. Reactivos químicos principales	36
3.1.1 Tetraciclina	36
3.1.2 Sulfadiazina	37
3.1.3 Ciprofloxacino	38
3.2 Reactivos auxiliares.....	40
3.3 Equipos auxiliares.....	41
3.4 Materiales secundarios	43
3.5 Medio de cultivo Brunner modificado	48
3.6 Biomasa utilizada en los tratamientos experimentales.....	49
3.7 Equipo HPLC-QTOF-MS.	53
CAPÍTULO IV. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	57
4.1 Tratamiento terciario fotocatalítico heterogéneo.....	57
4.2 Tratamiento secundario biológico.....	61
4.2.1 Mecanismo de hidrólisis.....	64
4.2.2 Mecanismo de fotólisis.....	66
4.2.3 Mecanismo de adsorción.	68
4.3 Muestras recogidas experimentalmente.....	70
4.4. Determinación del rendimiento de eliminación de los antibióticos.....	71
4.5. Método de identificación de productos de degradación.....	72
CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	73
5.1 Cuantificación de la eliminación.	73
5.2 Relación de los posibles compuestos de degradación.	79



5.3. Identificación de los productos	83
5.4 Posibles rutas de degradación	88
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	97
ANEXO. RESULTADOS EXPERIMENTALES.....	98
I.SULFADIACINA Y PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN OBTENIDOS	98
II. TETRACICLINA Y PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN OBTENIDOS	105
III. COPROFLOXACINO Y PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN OBTENIDOS	117



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales grupos de contaminantes emergentes en aguas residuales municipales (Maroneze et al., 2014)	16
Tabla 2. Productos farmacéuticos más consumidos en España (Ortiz et al., 2013a).....	18
Tabla 3. Productos de cuidado personal más consumidos en España, clasificados por categorías (Ortiz et al., 2013b).	19
Tabla 4. Principales antibióticos de uso veterinario en Europa. (Schmerold et al., 2023)	21
Tabla 5. Técnicas químicas convencionales de eliminación de antibióticos. (Ahmed et al., 2017).....	28
Tabla 6. Técnicas químicas no convencionales de eliminación de antibióticos: Procesos de oxidación avanzada (Ahmed et al., 2017)	29
Tabla 7. Tratamientos biológicos para degradación de antibióticos. Métodos convencionales (Ahmed et al., 2017).....	30
Tabla 8. Tratamientos biológicos para degradación de antibióticos. Métodos no convencionales (Ahmed et al., 2017).....	31
Tabla 9. Clasificación de las tetraciclinas (Jara, 2007).	36
Tabla 10. Otros reactivos auxiliares empleados.	40
Tabla 11. Equipos secundarios usados en los experimentos.....	41
Tabla 12. Equipos secundarios usados en los experimentos. (Continuación) 42	
Tabla 13. Materiales secundarios usados en los ensayos experimentales... 43	
Tabla 14. Composición del medio de cultivo Brunner modificado (Ángeles et al., 2021).	48
Tabla 15. Características <i>Chlorella vulgaris</i> (Moorthy et al., 2023; Talba et al., 2018).	49
Tabla 16 Características <i>Mychonastes homosphaera</i>	50
Tabla 17. Características de la microalga <i>Scenedesmus almeriensis</i> (Zambrano et al. 2021; Sánchez et al., 2008).	52
Tabla 18. Características del filtro cuádruplo (Luczaj et al., 2017).....	55
Tabla 19. Características del analizador TOF (Luczaj et al., 2017).	56
Tabla 20. Relación de posibles metabolitos sometidos a búsqueda. (Fang et al., 2023; Gandamalla et al., 2021; Gutiérrez et al., 2023; Honarmand et al., 2022; Hunge et al., 2023; Li et al., 2023; Liu et al., 2023; Namrata et al., 2023; Wang et al., 2022; Yang et al., 2021; Xialong et al., 2022; Zhao et al., 2023; Zheng et al., 2023; Castanheira et al., 2023; Li et al., 2022; Xiang et al., 2021; Zhao et al., 2023)	79
Tabla 21. Productos de degradación obtenidos y sus características.....	85



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Frecuencia de detección de PhACs en las aguas residuales tratadas en España (Olleros 2013).....	17
Figura 2. Dosis diarias definidas (DDD) por 1000 habitantes y día (DHD) de antibióticos en diferentes regiones del mundo (Fuente: Browne et al., 2021).	20
<i>Figura 3. Esquema general de una EDAR convencional (Pérez et al., 2019).</i>	<i>22</i>
<i>Figura 4. Vías de contaminación ambiental por antibióticos (Calderón et al., 2012).</i>	<i>24</i>
<i>Figura 5. Procesos que afectan a la degradación de los antibióticos en el medio acuático (Calderón et al., 2012).....</i>	<i>25</i>
Figura 6. Estructura química de la tetraciclina.....	37
Figura 7. Estructura química de la sulfadiazina.....	38
Figura 8. Estructura química del ciprofloxacino.....	39
Figura 9. Esquema de un espectrómetro de masas.	53
Figura 10. Equipo HPLC- QTOF-MS de la Universidad de Valladolid.	54
<i>Figura 11. Mecanismo de fotocatalisis sobre la superficie de dióxido de titanio (Nevárez et al., 2017).</i>	<i>57</i>
<i>Figura 12. Reactores fotocatalíticos empleados.</i>	<i>60</i>
Figura 13. Reactores empleados en el tratamiento biológico.	63
Figura 14. Reactores empleados en el estudio del mecanismo de hidrólisis.	65
Figura 15. Reactor empleado en el estudio del mecanismo de fotólisis.	67
Figura 16. Reactores empleados para estudiar el mecanismo de adsorción.	69
Figura 17. Eliminación de los antibióticos por fotocatalisis.....	73
Figura 18. Eliminación de los antibióticos por tratamiento biológico.	74
Figura 19. Eliminación de los antibióticos por mecanismo de fotólisis.	75
Figura 20. Eliminación de los antibióticos por mecanismo de hidrólisis.	76
Figura 21. Eliminación de los antibióticos por mecanismo de adsorción.....	77
Figura 22. Vías propuestas de degradación de la SDZ.	89
Figura 23. Vías propuestas de degradación de la TET.....	92
Figura 24. Vías propuestas de degradación del CIP.	96
Figura 26. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 0h.	98
Figura 27. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.	98
Figura 28. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.	99
Figura 29. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.	99



Figura 30. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 0d.	99
Figura 31. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 2d.	100
Figura 32. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 3d.	100
Figura 33. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 4d.	100
Figura 34. Cromatograma y espectro MS del metabolito P1 del tratamiento de fotocátalisis a tiempo 1h.	101
Figura 35. Cromatograma y espectro MS del metabolito P1 del tratamiento de fotocátalisis a tiempo 2h.	101
Figura 36. Cromatograma y espectro MS del metabolito P1 del tratamiento de fotocátalisis a tiempo 3h.	101
Figura 37. Cromatograma y espectro MS del metabolito del P2 del mecanismo de fotocátalisis a tiempo 1h.	101
Figura 38. Cromatograma y espectro MS del metabolito P2 del tratamiento de fotocátalisis a tiempo 2h.	102
Figura 39. Cromatograma y espectro MS del metabolito P2 del tratamiento de fotocátalisis a tiempo 3h.	102
Figura 40. Cromatograma y espectro MS del metabolito P3 del tratamiento de fotocátalisis a tiempo 1h.	102
Figura 41. Cromatograma y espectro MS del metabolito del P3 del tratamiento de fotocátalisis a tiempo 2h.	102
Figura 42. Cromatograma y espectro MS del metabolito P3 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 3h.	103
Figura 43. Cromatograma y espectro MS del metabolito P4 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 1h.	103
Figura 44. Cromatograma y espectro MS del metabolito P4 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 2h.	103
Figura 45. Cromatograma y espectro MS del metabolito P4 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 3h.	103
Figura 46. Cromatograma y espectro MS del metabolito P5 tratamiento biológico a tiempo 3d.	104
Figura 47. Cromatograma y espectro MS del metabolito P5 tratamiento biológico a tiempo 4d.	104
Figura 48. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento de fotocátalisis a tiempo 0h.	105
Figura 49. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento de fotocátalisis a tiempo 1h.	105
Figura 50. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento de fotocátalisis a tiempo 2h.	105

Figura 51. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento de fotocátalisis a tiempo 3h.	106
Figura 52. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 0d.	106
Figura 53. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 1d.	106
Figura 54. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 2d.	106
Figura 55. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 3d.	107
Figura 56. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 4d.	107
<i>Figura 57. Cromatograma y espectro MS TET mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 0d.</i>	<i>107</i>
Figura 58. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.	108
Figura 59. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.	108
Figura 60. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.	108
Figura 61. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.	109
Figura 62. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 0d.	109
Figura 63. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.	109
Figura 64. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.	109
Figura 65. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.	110
Figura 66. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.	110
Figura 67. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de adsorción del tratamiento biológico a tiempo 0d.	110
Figura 68. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de adsorción del tratamiento biológico a tiempo 2d.	110
Figura 69. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de adsorción del tratamiento biológico a tiempo 3d.	111
Figura 70. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de adsorción del tratamiento biológico a tiempo 4d.	111
Figura 71. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 1h.	111



Figura 72. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 2h.....	111
Figura 73. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 3h.....	112
Figura 74. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 1d.	112
Figura 75. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 3d.	112
Figura 76. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 4d.	112
Figura 77. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.	113
Figura 78. ç Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.	113
Figura 79. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.	113
Figura 80. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.	113
Figura 81. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.	114
Figura 82. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.	114
Figura 83. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.	114
Figura 84. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.	114
Figura 85. Cromatograma y espectro MS del P11 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.	115
Figura 86. Cromatograma y espectro MS del P11 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.	115
Figura 87. Cromatograma y espectro MS del P11 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.	115
Figura 88. Cromatograma y espectro MS del P11 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.	116
Figura 89. Cromatograma y espectro MS del P12 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 1h.....	116
Figura 90. Cromatograma y espectro MS del P12 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 2h.....	116
Figura 91. Cromatograma y espectro MS del P12 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 3h.....	116
Figura 92. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento de fotocátalisis a tiempo 0h.	117



Figura 93. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento de fotocátalisis a tiempo 1h.	117
Figura 94. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento de fotocátalisis a tiempo 2h.	117
Figura 95. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento de fotocátalisis a tiempo 3h.	118
Figura 96. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 0d.	118
Figura 97. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 2d.	118
Figura 98. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 3d.	119
Figura 99. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 4d.	119
Figura 100. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 0d.	119
Figura 101. . Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.	120
Figura 102. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.	120
Figura 103. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 0d.	120
Figura 104. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.	121
Figura 105. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.	121
Figura 106. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.	121
Figura 107. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.	122
Figura 108. Cromatograma y espectro MS del P20 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 2h.	122
Figura 109. Cromatograma y espectro MS del P20 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 3h.	122
Figura 110. Cromatograma y espectro MS del P20 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 2d.	123
Figura 111. Cromatograma y espectro MS del P20 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 3d.	123
Figura 112. Cromatograma y espectro MS del P20 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 4d.	123
Figura 113. Cromatograma y espectro MS del P20 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.	124



Figura 114. Cromatograma y espectro MS del P20 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.	124
Figura 115. Cromatograma y espectro MS del P20 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.	124
Figura 116. Cromatograma y espectro MS del P20 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.	125
Figura 117. Datos P21 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.	125
Figura 118. Cromatograma y espectro MS del P21 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.....	125
Figura 119. Cromatograma y espectro MS del P21 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.....	125
Figura 120. Cromatograma y espectro MS del P22 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.....	126
Figura 121. Cromatograma y espectro MS del P22 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.....	126
Figura 122. Cromatograma y espectro MS del P22 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.....	126
Figura 123. Cromatograma y espectro MS del P22 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.	127
Figura 124. Cromatograma y espectro MS del P22 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.	127
Figura 125. Cromatograma y espectro MS del P22 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.	127
Figura 126. Cromatograma y espectro MS del P22 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.	128
Figura 127. Cromatograma y espectro MS del P23 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 3d.	128
Figura 128. Cromatograma y espectro MS del P23 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 4d.	128
Figura 129. Cromatograma y espectro MS del P23 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.	129
Figura 130. Cromatograma y espectro MS del P23 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.	129
Figura 131. Cromatograma y espectro MS del P24 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.	129
Figura 132. Cromatograma y espectro MS del P24 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.	130
Figura 133. Cromatograma y espectro MS del P24 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.	130
Figura 134. Cromatograma y espectro MS del P24 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.	130

SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS

BC	Banda de Conducción
BFR	Retardantes de Llama Bromados
BV	Banda de Valencia
CE	Contaminantes Emergentes
CIP	Ciprofloxacino
d	Día
DHD	Dosis diarias por 1000 habitantes y día
EDAR	Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales
EPA	Agencia para la Protección del Medio Ambiente
FQ	Fluoroquinolonas
h	Horas
HPLC-QTOF-MS	Cromatografía Líquida de Alta Resolución -Espectrometría de Masas de Tiempo de Vuelo con Doble Cuadrupolo- Espectrometría de Masas
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
MBR	Biorreactores de Membrana
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCPs	Productos de Cuidado Personal



PFA	Sustancias Perfluoroalquiladas y Polifluoroalquiladas
PhAC	Productos Farmacéuticos
POA	Procesos de Oxidación Avanzada
PPCP	Productos Farmacéuticos y de Cuidado Personal
SA	Sulfonamidas
SDZ	Sulzadiacina
TET	Tetraciclina
UV	Ultravioleta



CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Los contaminantes emergentes (CE) son un grupo de contaminantes no regulados encontrados en el medio ambiente, responsables de causar daños en la salud humana y los ecosistemas a pesar de la baja concentración a la que se encuentran (Li et al., 2023). Los CE incluyen una amplia variedad de productos de uso diario con aplicaciones tanto industriales como domésticas, entre ellos destacan retardantes de llama bromados (BFR), pesticidas, esteroides, hormonas, productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP), sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas (PFAS), o los microplásticos, entre otros (Giri et al., 2023; Li et al., 2023). En la Tabla 1 se resaltan los principales CE encontrados en aguas municipales, así como sus funciones y efectos (Maroneze et al., 2014; Rout et al., 2021). Los contaminantes emergentes se encuentran principalmente en aguas residuales domésticas e industriales, en los efluentes hospitalarios, así como aguas de las actividades agrícolas y ganaderas. Una de las características de los contaminantes emergentes es que presentan altas tasas de transformación, lo que favorece la propagación de contaminantes al medio ambiente.

La existencia de contaminantes emergentes en el ambiente no tiene que ser ignorado, debido a la gran cantidad de efectos perjudiciales que producen a los seres humanos y al resto de los seres vivos. Por ello se investiga y estudia sobre su monitorización, regulación y eliminación de las aguas, siendo una de las líneas de investigación prioritarias de asociaciones como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Agencia para la Protección del Medio Ambiente (EPA), o la Comisión Europea (Barceló y López de Alda, 2007; Maroneze et al., 2014)

Tabla 1. Principales grupos de contaminantes emergentes en aguas residuales municipales (Maroneze et al., 2014)

<u>CE</u>	<u>Función</u>	<u>Efecto adverso</u>
Antibióticos	Detener la infección inhibiendo el crecimiento bacteriano	Induce resistencia a los antibióticos en cepas microbianas, altera la población microbiana.
Antiinflamatorios	Reduce el dolor, la fiebre y la inflamación.	Riesgo de úlceras gastrointestinales, enfermedades renales, alteraciones branquiales.
Retardantes de llama	Se usa en diversos materiales para que resulten difíciles de quemar. Como plásticos, pinturas, televisores, etc.	Afecta el cerebro y el sistema nervioso, la actividad hormonal, la reproducción y la fertilidad.
Reguladores de lípidos	Regulan los triglicéridos y colesterol en sangre.	Inhibición del crecimiento de microalgas.
Anticonvulsivos (carbamazepina)	Tratar los trastornos del estado anímico y las crisis epilépticas.	Afecta el sistema nervioso central del ser humano.
Hormonas	Regulación del metabolismo, control del desarrollo sexual.	Afecta la reproducción y la fertilidad.
Conservantes	Previenen la descomposición microbiana. Se usan en cosmética, alimentos	Debilitan la actividad estrogénica.
Fragancias	Se usa como ingrediente en perfumes, cosméticos, champús,	Tóxico para los seres vivos acuáticos, daña el sistema nervioso.

Los productos de cuidado personal (PCPs) y farmacéuticos (PhACs) constituyen en conjunto los PPCPs, por sus siglas en inglés, y son los CE que más preocupan debido al gran aumento de la población, y con ello al incremento de su uso. En la Tabla 2 y la Tabla 3 se recogen los compuestos activos farmacéuticos (Ortiz et al., 2013a) y los productos de cuidado personal (Ortiz et al., 2013b) más consumidos en España.

Los productos farmacéuticos son usados en la nutrición de los seres vivos y en el tratamiento, diagnóstico y prevención de enfermedades. Estos compuestos y sus metabolitos llegan al medio ambiente mediante la excreción posterior al consumo, el vertido de medicamentos no deseados y la aplicación agrícola (Hu et al., 2023). Se han encontrado fármacos en aguas superficiales y subterráneas con una concentración comprendida entre ng/L y µg/L. Así mismo, se han llegado a detectar concentraciones de hasta mg/kg en suelos y sedimentos donde los fármacos pueden persistir durante largos periodos de tiempo (Barceló y López de Alda, 2007). En la Figura 2 se muestra el porcentaje de detección de los compuestos farmacéuticos más comunes en España en los efluentes de las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDARs) (Olleros, 2013).

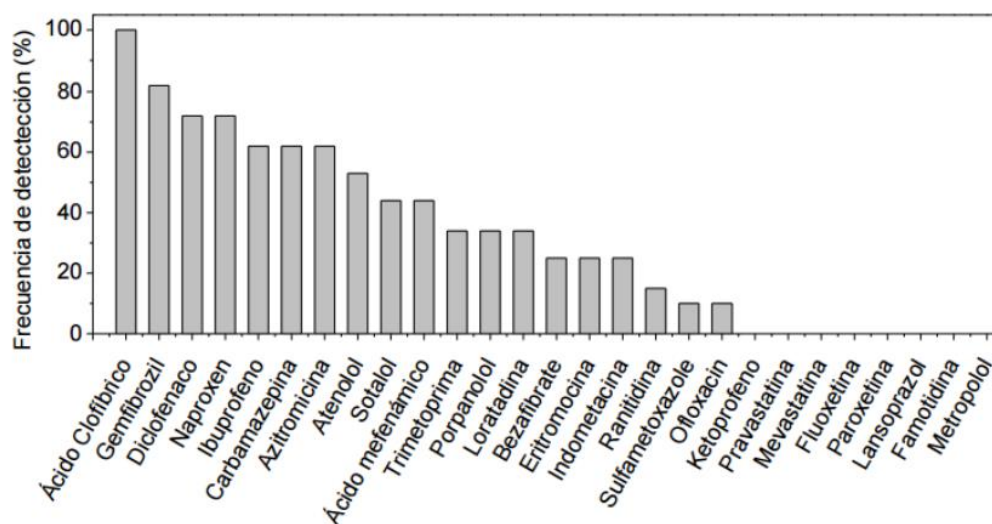


Figura 1. Frecuencia de detección de PhACs en las aguas residuales tratadas en España (Olleros 2013).

Tabla 2. Productos farmacéuticos más consumidos en España (Ortiz et al., 2013a).

<u>Grupos terapéuticos</u>	<u>PhAC</u>
Antibiótico	Amoxicilina.
Analgésico/Antipirético	Paracetamol.
AINE	Ibuprofeno.
Inhibidor de la agregación plaquetaria	Ácido acetilsalicílico.
Bloqueadores de los receptores de angiotensina	Valsartán, valsartán con diuréticos, irbesartán, irbesartán con diuréticos.
Antiepilépticos	Carbamazepina, dihidrodiol , carbamazepina 10, 11 epóxido , 2-hidroxi carbamazepina , 3-hidroxi carbamazepina , gabapentina,
Ansiolíticos y antidepresivos	Alprazolam, bromazepam, lorazepam, paroxetina, escitalopram.
Reguladores de lípidos en sangre	Simvastatina, fluvastatina, atorvastatina.
Inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina	Enalapril.
Bloqueador de H ₂	Omeoprazol, someprazol, lanzoprazol, pantoprazol, esomeprazol.
Hormonas	Levonorgestrel.

Tabla 3. Productos de cuidado personal más consumidos en España, clasificados por categorías (Ortiz et al., 2013b).

<u>Categoría</u>	<u>PCP</u>
Desinfectante	Triclosán
Fragancias	Galaxolide ®, Iso-E-super ®, cetona de almizcle, xileno de almizcle, phantolide ®, Tonalide ®.
Conservantes	Etilparabeno, metilparabeno, ácido p-hidroxibenzoico, propilparabeno
Tensioactivo	4-nonilfenol

Uno de los grupos terapéuticos de los fármacos que a día de hoy requieren investigación, debido a su elevado consumo y peligrosidad, son los antibióticos. Son capaces de desarrollar cepas bacterianas resistentes haciéndolos ineficaces para el fin para el que fueron diseñados. Además, generan mayor preocupación por haberse detectado antibióticos en aguas potables. Desde 1940, los antibióticos se utilizan ampliamente en humanos, veterinaria, acuicultura y agricultura. Se usan para curar y evitar enfermedades en los seres vivos causadas por bacterias. Además, también se han incorporado en el pienso para acelerar el crecimiento de los animales, sobre todo de los cerdos. En 2008 el Instituto de Seguridad Animal emitió un aviso en el que el 13% de los antibióticos vendidos en EE.UU. se utilizaron con el único fin de engorde de animales (Cheng et al., 2020; Mojica y Age, 2011).

El aumento de la población y de la industria conlleva a un incremento de la demanda de los antibióticos, siendo los terceros fármacos más empleados en medicina humana (Barceló y López de Alda, 2007). El consumo mundial de antibióticos aumentó del año 2000 al 2018, pasando de 9,8 a 40,2 dosis diarias por 1000 habitantes y día (DHD). Como se puede apreciar en la Figura 2, entre los años 2000 y 2018 el consumo mundial de antibióticos en 204 países experimentó un aumento continuo (Browne et al., 2021).

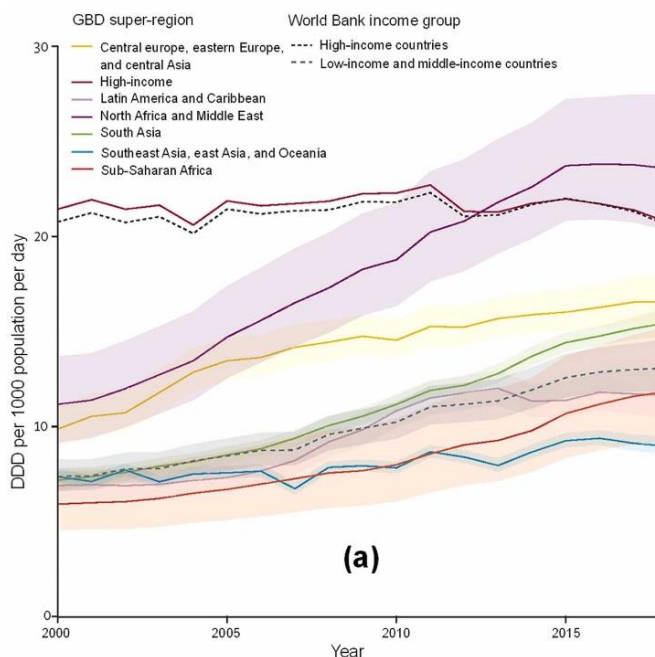


Figura 2. Dosis diarias definidas (DDD) por 1000 habitantes y día (DHD) de antibióticos en diferentes regiones del mundo (Fuente: Browne et al., 2021).

Por lo que respecta a España, es el cuarto país de Europa con mayor consumo de antibióticos para los seres humanos, con 327 toneladas vendidas en el año 2014. Mientras que el total consumido en Europa fueron 3821 toneladas. Los principales antibióticos consumidos por los humanos en Europa son las penicilinas, macrólidos y fluoroquinolonas (Martínez-Alcalá et al., 2020), y en España son las penicilinas, las quinolonas, los macrólidos y las cefalosporinas.

En cuanto al consumo mundial de antibióticos para uso ganadero, fue de 131109 toneladas en 2013, siendo mayor que el uso para consumo humano (Van Boeckel et al., 2017). En la Tabla 4 se muestran los antibióticos veterinarios más comunes usados en Europa (Schmerold et al., 2023). España fue el país con mayor consumo de antibióticos veterinarios de toda Europa en 2014, con un total de 2964 toneladas, mientras que el total consumido por todos los países europeos fue de 8927 toneladas (Navas et al., 2021). Los antibióticos con mayor presencia en el estiércol son las tetraciclinas (TET), las fluoroquinolonas (FQ) y las sulfonamidas (SA) debido a su alta eficacia y su bajo coste (Gaballah et al., 2023). En el año 2015, se aproxima que el uso mundial de antibiótico por kilogramo de animal producido fue de 45 mg/kg para el ganado ovino, 148 mg/kg para el ganado avícola, y 172 mg/kg para el ganado porcino (Van Boeckel et al., 2015). Linfa et. al (2023) realizaron un análisis basado en 134 estudios donde detectaron hasta 56 tipos de antibióticos con concentraciones de hasta 7000 µg/kg en suelos agrícolas, siendo los antibióticos más detectados: tetraciclinas, macrólidos, sulfonamidas y fluoroquinolonas (Fang et al., 2023).

Tabla 4. Principales antibióticos de uso veterinario en Europa. (Schmerold et al., 2023)

<u>Antibiótico</u>	<u>Animal y tratamiento</u>
Cefalosporinas	Todos los mamíferos. Tratamiento de neumonía y de mastitis en lactantes
Polimixinas (colistina, polimixina B)	Porcino, bovino, ovino, conejo, pollo. Tratamiento de enfermedades causadas por bacterias sensibles
Quinolonas: fluoro y otras quinolonas	Todos los animales productores de alimentos. Tratamiento de infecciones y enfermedades respiratorias.
Pleuromutilinas	Porcino, conejo, pollo, pavo. Tratamiento de disentería, neumonía e infecciones por micoplasmas en cerdos y aves de corral.
Penicilinas	Todos los animales productores de alimentos. Tratamiento en cerdos para el tratamiento y control de la meningitis estreptocócica y la septicemia.
Sulfonamidas, inhibidores del dihidrofolato reductasa y combinaciones	Todos los animales productores de alimentos. Tratamiento de enfermedades; infecciones bacterianas.
Tetraciclinas	Todos los animales productores de alimentos. tratamiento de muchas enfermedades bacterianas y por clamidia.

Los antibióticos después de ser suministrados a los seres humanos son excretados a través de la orina o de las heces llegando a las EDAR, donde también llegan las aguas residuales de los hospitales, que son las que tienen mayor cantidad de antibióticos. Sin embargo, las tecnologías usadas en las EDAR convencionales no son capaces de eliminar estos contaminantes expulsándolos al medio ambiente. Como se observa en la Figura 3, este tipo de plantas dispone de un sistema de tratamiento primario con tratamientos físico-químicos, y un sistema de tratamiento secundario, formado por un reactor biológico, normalmente de lodos activos. Las trazas de antibióticos que llegan a las EDAR no son capaces de convertirse en metabolitos en el tratamiento primario, ni por la acción de los microorganismos en el reactor biológico, siendo expulsados de nuevo al medio acuático (Pérez et al., 2019).

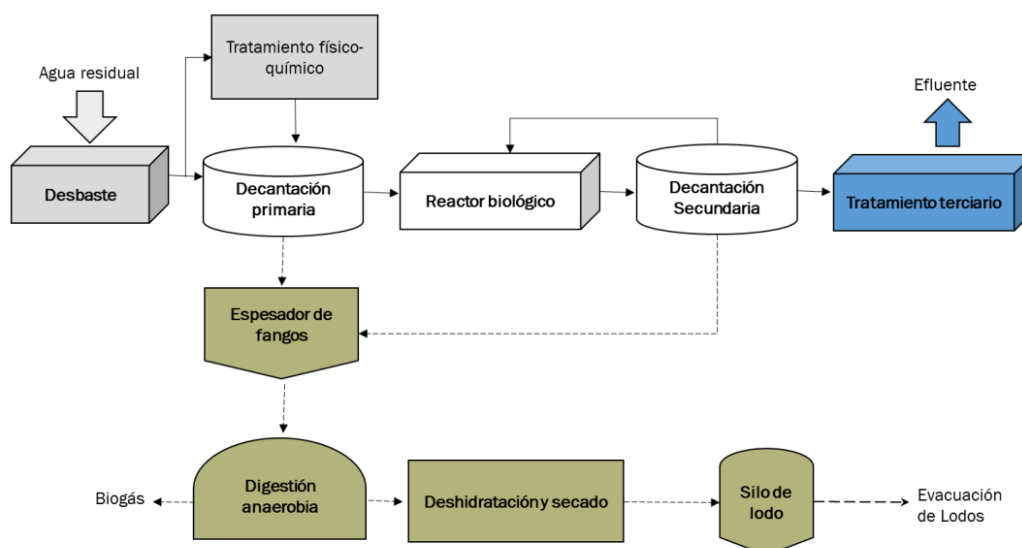


Figura 3. Esquema general de una EDAR convencional (Pérez et al., 2019).



Los animales también excretan los antibióticos por las heces y la orina, liberándolos al medio ambiente cuando se usa el estiércol como abono y fertilizante, o durante el almacenamiento de lodos, afectando a la calidad del agua y del suelo, e incluso pueden llegar a ser absorbidos por las plantas. Se considera que entre el 70% y 90% de los antibióticos que se suministran a la ganadería se eliminan a través de las heces y la orina sin cambios o en forma de metabolitos (Cheng et al., 2020). Dos de los antibióticos más usados debido a su bajo coste y a su gran efectividad son la tetraciclina (TET) y la sulfadiazina (SDZ). La cantidad de tetraciclina excretada al medio ambiente por los cerdos es del 70 % - 90 % de la suministrada. En función del pH del suelo, las tetraciclinas en el estiércol sufren modificaciones, siendo necesario conocer los productos de degradación del antibiótico y sus niveles de toxicidad. Se ha comprobado que las tetraciclinas forman cationes complejos con arcillas, por lo que pueden permanecer en el suelo hasta 16 meses desde que se liberan al medio ambiente. Así mismo, los animales pueden excretar entre el 50 % - 100% de las sulfonamidas que les fueron suministradas, presentando una gran movilidad en el suelo por su alta solubilidad y baja adsorción. En particular, las sulfadiacinas son capaces de permanecer en el medio ambiente durante 35 días, y su adsorción depende del pH, la fuerza iónica y los cationes intercambiables (Mojica y Age, 2011). Otra vía de incorporación de los antibióticos al medio ambiente se produce cuando se eliminan en vertederos los medicamentos excedentes o próximos a caducar, y por lixiviación llegan hasta las aguas subterráneas.

A modo de resumen, en la Figura 4 se muestran las vías de eliminación de los metabolitos, junto con las moléculas que no han sido transformadas, en el medio acuático, donde se podrían degradar en otros productos (Cheng et al., 2020). La degradabilidad se ve afectada por la humedad, la temperatura, la concentración de materia orgánica del suelo (Sollic et al., 2016). Los contaminantes eliminados al medio ambiente persisten en el tiempo y se encuentran en diversos lugares, entre ellos granjas, suelo agrícola, ríos, aguas subterráneas, aguas superficiales, en sedimentos de acuicultura (Cheng et al., 2020; Sollic et al., 2016).

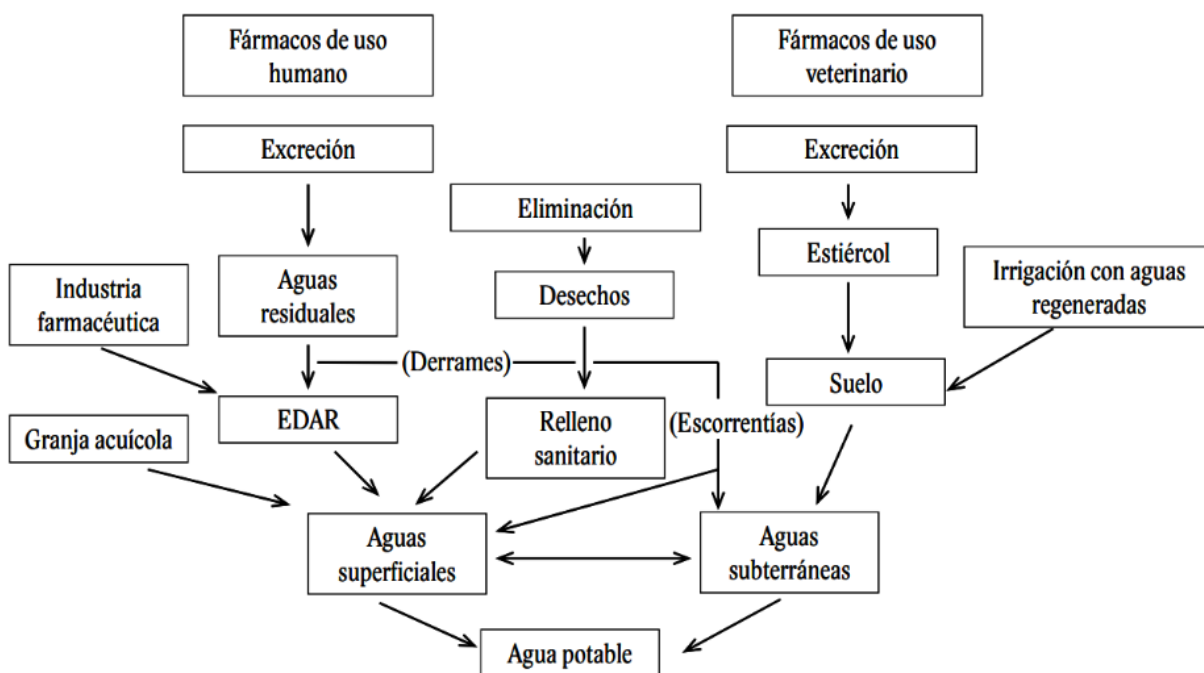


Figura 4. Vías de contaminación ambiental por antibióticos (Calderón et al., 2012).

Los antibióticos, una vez que llegan al medio acuático, sufren diferentes procesos de transformación y dispersión de carácter biótico o abiótico, en función de si intervienen o no los seres vivos. Entre los procesos bióticos resaltan la bioconcentración, biomagnificación y biodegradación. Entre los abióticos se encuentran la sorción, sedimentación de partículas en suspensión, hidrólisis y fotólisis (Calderón et al., 2012).

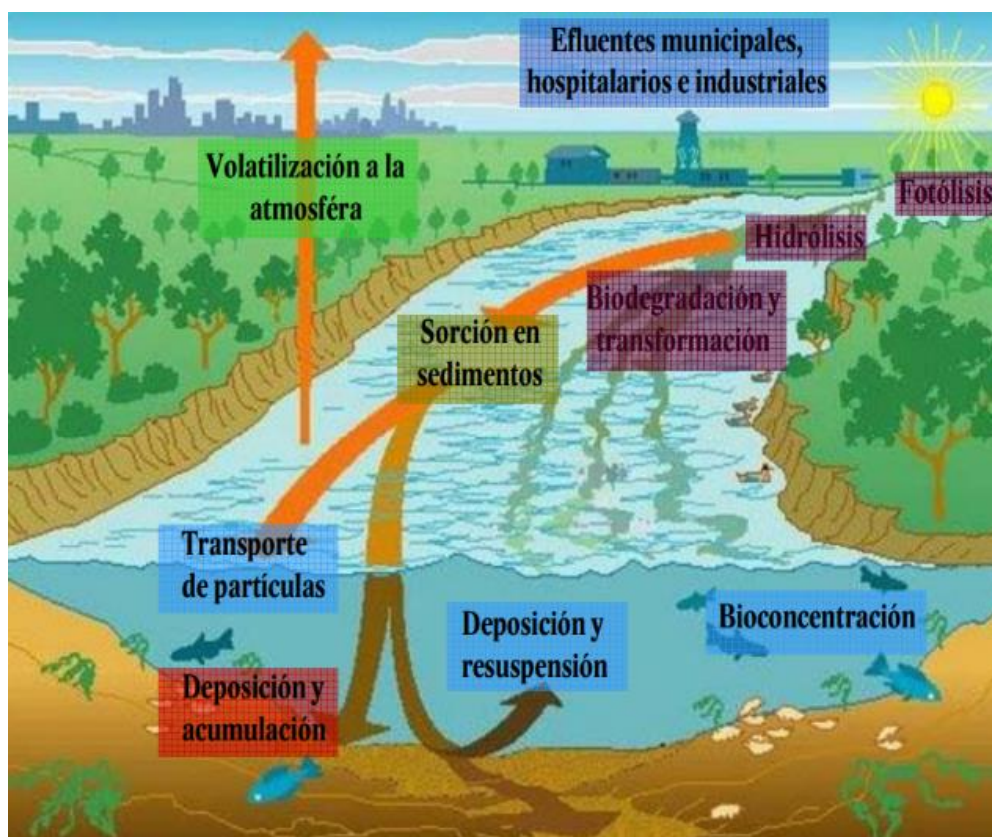


Figura 5. Procesos que afectan a la degradación de los antibióticos en el medio acuático (Calderón et al., 2012).

Adicionalmente, la presencia de antibióticos en el medio acuático afecta a cianobacterias, algas y peces. Estos organismos ocupan niveles tróficos importantes en la cadena alimentaria y son capaces de deteriorar el sistema inmunológico, el crecimiento y metabolismo de las personas. (Sarwar y Khan, 2022). Los antibióticos inhiben el crecimiento y afectan a la actividad fotosintética y sistemas antioxidantes de las algas y cianobacterias. En los peces los antibióticos inducen cambios fisiológicos y originan efectos tóxicos en su reproducción (Yang et al., 2021). La acumulación de antibióticos en el suelo, causa problemas en el crecimiento de la vegetación.



La biodiversidad microbiana es necesaria para mantener los procesos biológicos en el suelo y en el agua, y los antibióticos son capaces de matar bacterias o inhibir su crecimiento al afectar procesos vitales específicos en las células bacterianas. El abuso de los antibióticos es la principal causa del desarrollo y la propagación de bacterias y genes resistentes a los antibióticos, lo que representa una amenaza para el medio ambiente (Baran y Adamek, 2023). El riesgo viene originado por la transmisión de bacterias y genes resistentes a los antibióticos que se suministran a los seres vivos (Kovalakova et al., 2020; Yang et al., 2021). En un estudio realizado en 12 granjas en la Región Autónoma Hui de Ñinga (noroeste de China), donde se trataba a los animales con antibióticos (aminoglucósidos, β -lactamasas, macrólidos, quinolonas, sulfonamidas y tetraciclinas,) se observó la aparición de antibióticos en el suelo en un radio de 20 metros de la granja, y la disminución de genes de resistencia a los antibióticos al alejarse de la granja (Shen et al., 2023). Las microalgas también pueden inducir el crecimiento de bacterias con genes resistentes a los antibióticos (Wang et al., 2023; Zhou et al., 2023).

Por todo lo anteriormente expuesto, se hace necesario el tratamiento de las deyecciones de los animales estabulados y de las aguas residuales domésticas y hospitalarias para eliminar, o al menos reducir, la presencia de compuestos farmacéuticos y sus metabolitos hasta unos límites aceptables. Para solventar el problema, y así evitar la acumulación de los antibióticos en el medio ambiente, se están estudiando tratamientos físicos, químicos y/o biológicos que sean capaces de eliminarlos.

Las tecnologías de tratamiento físico son las menos usadas, pudiendo destacar, la separación física por membranas (ósmosis inversa, ósmosis directa y nanofiltración) para el tratamiento de aguas salinas y efluentes en las EDAR, llegando a eliminar productos farmacéuticos, colorantes y pesticidas. Como inconveniente resalta la alta demanda de energía y la contaminación de las membranas. La adsorción con carbón activo, otro tipo de tratamiento físico, consiste en atrapar sustancias solubles en la superficie del sólido en unas condiciones óptimas de baja solubilidad, menor polaridad y bajas presiones. Este método se usa de manera habitual después de un tratamiento biológico (Ahmed et al., 2017; Taheran et al., 2016).

Los procesos químicos son los más frecuentemente utilizados, incluyendo métodos de oxidación convencionales como Fenton, ozonización, fotólisis (Tabla 5), y procesos de oxidación avanzada (POA) como fotocatalisis, Foto-Fenton (Tabla 6) (Van Boeckel et al., 2015; Zambrano et al., 2023 ; Kim et al., 2013; Ahmed et al., 2017).



Las tecnologías de tratamiento biológico también son efectivas, y por lo tanto bastante usadas, aunque algunos contaminantes orgánicos no biodegradables no son eliminados por estos procesos. Podemos destacar los lodos activados, humedales artificiales, biorreactores de membrana (MBR), biorreactores aeróbicos, biorreactores anaeróbicos, biorreactores de microalgas, filtros percoladores, etc. Los tratamientos biológicos se clasifican en procesos convencionales (Tabla 7), y procesos no convencionales (Tabla 8) (Gaballah et al., 2023; Ahmed et al., 2017). Se han desarrollado métodos combinados llamados procesos híbridos, que se han establecido como una mejora para la capacidad de eliminación de este tipo de contaminantes (Kim et al., 2013).

Tabla 5. Técnicas químicas convencionales de eliminación de antibióticos.
(Ahmed et al., 2017)

<u>Método</u>	<u>Características</u>
Proceso Fenton	Es un proceso de oxidación, con reacciones de peróxido de hidrogeno en presencia de Fe^{2+} o Fe^{3+} para producir OH^{\cdot} . Las concentraciones de hierro están en el rango de 10-50 mg/L. La eliminación de antibióticos con este proceso no es tan satisfactoria como otros procesos de oxidación.
Ozonización	El ozono es un oxidante muy potente. Reacciona con dobles enlaces y anillos aromáticos. Mejora la biodegradabilidad. Este proceso consume mucha energía, por lo que es costoso. Es un método eficaz capaz de eliminar entre un 90% y un 100% de todo tipo de CE.
Cloración	Hay una alta eficacia de degradación para los CE debido a la alta capacidad de oxidación.
Fotólisis	Es un proceso mediante el cual los antibióticos se descomponen por la reacción con la luz. Es común usar como fuente de luz rayos UV. Hay dos tipos, fotólisis, directa, en la que se produce la degradación mediante la absorción directa de los fotones, y fotólisis indirecta, que se realiza en presencia de fotosensibilizadores.



Tabla 6. Técnicas químicas no convencionales de eliminación de antibióticos:
Procesos de oxidación avanzada (Ahmed et al., 2017)

<u>Método</u>	<u>Características</u>
Oxidación electroquímica	Tecnología de eliminación de contaminantes químicos mediante la degradación oxidativa por reacciones anódicas.
Proceso Foto-Fenton	Este proceso necesita luz para producir radicales mediante reacciones de peróxido de hidrogeno en presencia de Fe^{2+} o Fe^{3+} . Este proceso se desarrolla en condiciones ácidas o neutras.
Fotocatálisis heterogénea	Proceso mediante el cual se oxidan sustancias químicas en presencia de un catalizador (óxidos metálicos semiconductores) y luz UV que proporciona la energía necesaria. Mejora las desventajas del método de fotólisis, en especial la lenta tasa de degradación.

Tabla 7. Tratamientos biológicos para degradación de antibióticos. Métodos convencionales (Ahmed et al., 2017).

Método	Características
Tratamiento con micro algas	Este método se suele realizar con algas para minorar los contaminantes de manera rentable y efectiva con la biodegradación. La biodegradación se lleva a cabo mediante las enzimas que producen los microorganismos. Es común tener reactores donde hay simbiosis de algas y bacterias en el cual la degradación se produce por bacterias heterótrofas que consumen oxígeno a partir de la fotosíntesis de las algas.
Lodos activados	Este proceso utiliza protozoos y bacterias para el tratamiento de aguas residuales gracias al aire y fango activo. Se transforman los antibióticos en agua, dióxido de carbono y compuestos inorgánicos. Es más barato que los procesos de oxidación avanzada, pero su eficacia es baja.
Nitrificación biológica	Este método consiste en la oxidación biológica del amonio a nitrito y nitrato. Este proceso por sí solo no tiene altas tasas de degradación. Se combina con procesos de oxidación avanzada para lograr una mayor eliminación de los contaminantes emergentes.
Digestión anaerobia	Es un proceso microbiano en ausencia de oxígeno que descompone la materia orgánica en productos. Es utilizado debido a su bajo costo y la poca energía consumida. No se considera un método eficiente y cuando hay una mezcla de antibióticos su rendimiento es bajo.



Tabla 8. Tratamientos biológicos para degradación de antibióticos. Métodos no convencionales (Ahmed et al., 2017).

<u>Método</u>	<u>Características</u>
Biorreactor de membrana (MBR)	Este método se basa en la retención de contaminantes por las membranas del reactor, y mientras se lleva a cabo la degradación microbiana. Este proceso depende de la temperatura, el pH, la conductividad, la concentración.
Humedal artificial	Es un sistema ingenieril de base biológica para reproducir los procesos que ocurren en un humedal natural controlado. Se controlan interacciones biológicas (biodegradación), físicas (sorción) y químicas (oxidación) entre el suelo, sustrato y plantas.



Considerando lo mencionado anteriormente, tanto en las reacciones naturales que ocurren en el medio, como en el tratamiento de las aguas contaminadas con antibióticos, se obtendrán productos de degradación, por lo que, en cualquiera de los dos casos, además de conocer las eficacias de eliminación de los contaminantes, es útil conocer los productos de degradación (natural o forzada). La necesidad de investigar los productos de degradación de los antibióticos (un área hasta ahora generalmente bastante ignorada) es cada vez más recurrente, ya que en muchos casos estos productos de degradación pueden ser más problemáticos que los contaminantes de partida.

Investigaciones previas han demostrado que entre los tratamientos más efectivos para la eliminación de contaminantes se encuentran la fotocatalisis y el tratamiento biológico. En consecuencia, se ha optado en este trabajo fin de grado por profundizar más sobre estos tratamientos para la eliminación de antibióticos.

El tratamiento mediante fotocatalisis, es sostenible, eficiente y capaz de solventar el problema de los antibióticos en el medio ambiente. El problema de desinfección de efluentes, eliminación de antibióticos veterinarios y degradación de material genético se puede llevar a cabo con el tratamiento terciario de aguas residuales a partir de este método, que es capaz de mineralizar los antibióticos usando la luz ultravioleta como fuente de energía. Este método tiene como ventajas el ahorro de energía, condiciones de reacción suaves, simplicidad y rentabilidad. La fotocatalisis se divide en dos grupos: la fotocatalisis homogénea, en la que todos los componentes que reaccionan están en el mismo estado físico, y la fotocatalisis heterogénea, en el que se emplea un fotocatalizador que se encuentra en estado sólido. La fotocatalisis heterogénea presenta una serie de ventajas como la estabilidad térmica, la facilidad de separación y recuperación del fotocatalizador de la mezcla de reacción debido a que el fotocatalizador se encuentra en una fase distinta que la del medio de reacción. La fotocatalisis heterogénea está basada en reacciones de oxidación en presencia de luz UV y un fotocatalizador. (Adamek et al., 2016; Honarmand et al., 2022).



El tratamiento biológico consiste en la descomposición de los antibióticos en sustancias más sencillas debido a la actividad metabólica y enzimática de los microorganismos. Durante el tratamiento con microalgas, los antibióticos pueden degradarse también mediante hidrólisis, biodegradación, fotodegradación y adsorción en diferentes productos, o en última instancia, mineralizarse por completo en H₂O y CO₂ (Wang et al., 2023). Perales-Vela et. al (2016) comprobaron que las microalgas son competentes para eliminar distintos antibióticos, pudiendo indicarse que *Chlamydomonas sp* es capaz de eliminar en 9 días el 54,5% de tetraciclinas en una solución de 10 mg/L y el 100% de sulfadiazina en una solución de 10 mg/L; *C. ovalisporum* puede llegar a degradar los siguientes antibióticos sulfadiazina, sulfametazina, enrofloxacina y norfloxacina. También comprobaron que el ciprofloxacino es eliminado hasta un 84% con *Scenedesmus Obliquus*. Como se ha demostrado, este proceso es muy efectivo para la eliminación de antibióticos, tiene bajas emisiones de CO₂ al ambiente y, además, se puede producir biomasa algal de manera eficiente para el desarrollo de biocombustibles, alimentos y piensos. El único inconveniente para la eliminación de antibióticos con microalgas es que no se sabe con certeza si los antibióticos afectan al crecimiento de las algas mediante la inhibición de sustancias químicas (como la clorofila).



CAPÍTULO II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1 Justificación

Ya en trabajos previos de Zambrano et al., en el Instituto de Procesos Sostenibles (ISP) se obtuvieron los porcentajes de eliminación de 3 antibióticos sometidos a tratamiento biológico con microalgas, así como los porcentajes de eliminación de cada uno de los mecanismos involucrados. Así, para el mecanismo de fotólisis se encontró un porcentaje de eliminación del 6,8 % para la TET, 7,29% para el CIP y 3,94% para la SDZ. Mediante el mecanismo de hidrólisis se obtuvo un porcentaje de eliminación del 1,03% para la TET, 1,39% para el CIP y 2,94% para la SDZ. Para el mecanismo de adsorción los porcentajes de eliminación fueron del 80% para la TET, 64% para el CIP, 28% para la SDZ. Por último, el mecanismo de biodegradación fue responsable de un 14,29% de eliminación para la TET, 0% para el CIP y 9,94% para la SDZ. Por otra parte, cuando se aplicó un tratamiento de fotocatalisis heterogénea con dióxido de titanio como catalizador y radiación UV A, se alcanzó un porcentaje de eliminación del 99% para TET, CIP y SDZ.

En el presente trabajo fin de grado, se pretende investigar los productos de degradación obtenidos en un proceso de tratamiento terciario de fotocatalisis con TiO_2 y en un tratamiento secundario biológico de tres antibióticos específicos: tetraciclina, ciprofloxacino, sulfadiazina.



2.2 Objetivos

Así pues, este trabajo fin de grado tiene dos objetivos principales:

1. Evaluar experimentalmente la degradación de tres antibióticos (sulfadiacina, tetraciclina y ciprofloxacino) mediante un tratamiento terciario: fotocátalisis, y un tratamiento secundario biológico. Para este último, se estudia la eficacia de eliminación relativa por los mecanismos de fotólisis, hidrólisis y adsorción.
2. Determinar los metabolitos intermedios de degradación y proponer las principales vías de transformación de esos antibióticos.

Estos dos objetivos se concretan en los siguientes objetivos específicos.

1.1 Estudio del tratamiento mediante fotocátalisis heterogénea, con dióxido de titanio como catalizador y radiación UV A, de los antibióticos que son sujeto de análisis.

1.2 Estudio biológico de los antibióticos que son sujeto de análisis, con biomasa activa compuesta por un consorcio de microalgas y bacterias, con presencia mayoritaria de *Mychonastes homosphaera* y *Chlorella vulgaris*, y una radiación de luces LED en el espectro visible durante 24 horas. Además, se realiza el montaje de los reactores para estudiar los mecanismos de fotólisis, hidrólisis y adsorción implicados en este tratamiento.

2.1 Búsqueda bibliográfica de posibles productos de degradación de los antibióticos seleccionados, obteniendo la fórmula molecular y su m/z.

2.2 Estudio de la cuantificación de los antibióticos empleados mediante cromatografía de líquidos de alta resolución y espectrometría de masas con analizadores de tiempo de vuelo cuádruplo (HPLC- QTOF-MS)

2.3 Propuesta de posibles vías de degradación. Se realiza un análisis comparativo de los datos obtenidos experimentalmente con los buscados bibliográficamente y se verifican los productos de degradación obtenidos experimentalmente. Además, se proponen las posibles vías de degradación de los productos obtenidos.



CAPÍTULO III. MATERIALES Y EQUIPOS

3.1. Reactivos químicos principales

3.1.1 Tetraciclina

La tetraciclina es un antibiótico de uso común en animales y humanos. Tienen un gran espectro de actividad que incluyen bacterias como *Hlamydia sp*, *Rickettsia sp*, *Mycoplasma sp*, *Borrelia sp*, *Treponema pallidum*, *Helicobacter pylori* y *Plasmodium sp*. Este antibiótico es competente contra micoplasmas, protozoos, parásitos y organismos (Balakrishnan y Mahendra, 2023; Zhang et al., 2024). En la Tabla 9 se recogen diversas tetraciclinas atendiendo al momento de su descubrimiento.

Tabla 9. Clasificación de las tetraciclinas (Jara, 2007).

Primera generación (1948-1963)	Clortetraciclina Oxitetraciclina Tetraciclina Demetilclortetraciclina
Segunda generación (1965-1972)	Metaciclina Doxiciclina Minociclina
Tercera generación (1993)	Glicilciclinas

Físicamente, es un polvo cristalino, amarillo e inodoro. Es un material combustible, pero no es inflamable. Su pH es de 2,5. Tiene una hidrosolubilidad de 20 g/L a 20 °C. Es un material estable en condiciones ambientales normales. Soluble en disoluciones de hidróxidos y carbonatos alcalinos, prácticamente insoluble en cloroformo y éter. Tienen un carácter anfótero, actuando como ácido o base, según con la sustancia con la que reaccione (Roth, 2022).

De acuerdo con la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), la tetraciclina es reconocida como (4S,6S,12aS)-4-(dimethylamino)-1,4, 4a,5, 5a,6,11,12a-octahidro-3,6,10,12,12a-pentahidroxy-6-methyl-1,11 dioxonaphthacene-2-carboxamida. Su fórmula química es $C_{22}H_{24}N_2O_8$, y su peso molecular es 444,4 g/mol. En la Figura 6 se puede ver la estructura química del compuesto.

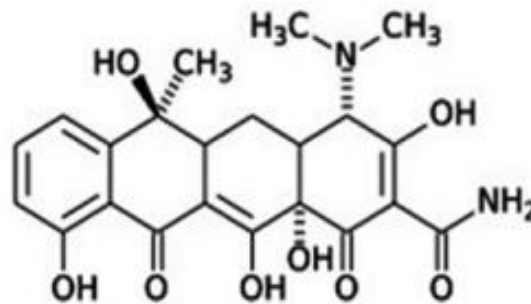


Figura 6. Estructura química de la tetraciclina.

El nombre de este antibiótico está determinado por su forma tetracíclica. Está formado por un núcleo central de octahidronaftaceno y una gran variedad de grupos funcionales que se unen a los cuatro anillos fusionados de la estructura. (Vicente y Pérez, 2010).

Para la realización experimental de este trabajo se usó como antibiótico, tetraciclina $\geq 95\%$, grado estándar analítico de la marca PanReac AppliChem.

3.1.2 Sulfadiazina

La sulfadiazina es un antibiótico que se usa tanto en humanos como en animales para el tratamiento de enfermedades infecciosas, especialmente infecciones urinarias. Ocupa el tercer lugar del antibiótico más consumido en la familia de sulfonamidas. Su funcionamiento se basa en la inhibición de las bacterias mediante la intervención del ácido *p*-aminobenzoico en el ciclo del metabolismo del ácido fólico (Schauss et al., 2009; Zhu et al., 2023).

En la IUPAC, la sulfadiazina es reconocida como 4-amino-*N*-pirimidin-2-yl-benzenesulfonamida. Su fórmula química es $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ y su peso molecular es 250,287 g/mol. En la Figura 7 se puede ver la estructura química del compuesto.

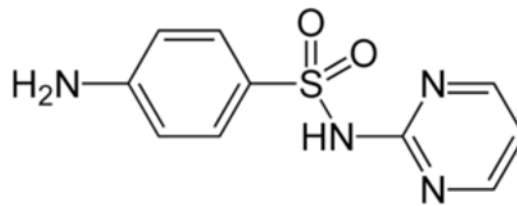


Figura 7. Estructura química de la sulfadiazina.

Físicamente, es un polvo cristalino y blanco. Tiene una solubilidad acuosa de 0,074 mg/mL a 25 °C, y se caracteriza por tener una alta solubilidad en metanol. En estado sólido, a temperaturas superiores a los 100 °C, y expuesto al aire, es un antibiótico estable. Tiene baja toxicidad (Zhang et al., 2023).

Para la realización experimental de este trabajo se usó como antibiótico, sulfadiazina $\geq 95\%$, grado estándar analítico de la marca Sigma.

3.1.3 Ciprofloxacino

Es un antibiótico de la familia de las fluoroquinolonas. Tiene un amplio espectro contra las bacterias Gram-positivo y Gram-negativo. Se usa para prevenir y tratar infecciones causadas por bacterias, entre ellas podemos destacar, neumonía, gonorrea, fiebre tifoidea, diarrea, etc.

Su forma de actuar consiste en detener la replicación bacteriana del ADN al unirse a la enzima ADN girasa, bloqueándola. El ADN girasa impide el enrollamiento de la doble cadena de ADN y así, otras enzimas pueden hacer la replicación (Kümmerer, 2009; García et al., 1997).

En la IUPAC, el ciprofloxacino es reconocido como 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-ylquinoline-3-carboxylic acid. Su fórmula química es C₁₇H₁₈N₃FO₃ y su peso molecular es 331,346 g/mol. En la Figura 8 se puede ver la estructura química del compuesto.

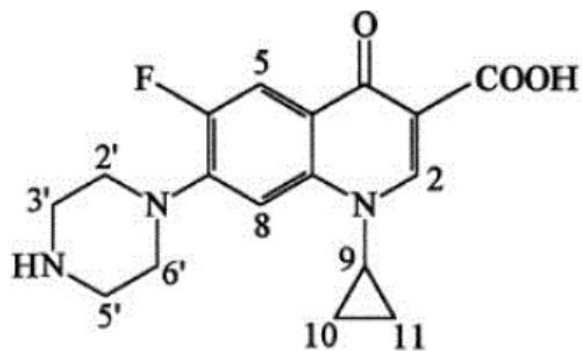


Figura 8. Estructura química del ciprofloxacino.

La fluoración en posición 6 y el anillo piperazínico en posición 7 han mejorado la actividad de este compuesto. Así, el radical 1-piperazínico en posición 7 potencia notablemente su actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

La absorción de este antibiótico se produce rápidamente. La vida media de eliminación oscila entre 3 y 5 horas. La concentración del ciprofloxacino en orina alcanza concentraciones muy elevadas (Kümmerer, 2009; García et al., 1997).

Para la realización experimental de este trabajo se usó como antibiótico, ciprofloxacino $\geq 95\%$, grado estándar analítico de la marca Sigma-Aldrich.

3.2 Reactivos auxiliares

En la Tabla 10 se indica una lista de los reactivos auxiliares que se usaron durante la etapa de experimentación de este trabajo, junto a una breve descripción.

Tabla 10. Otros reactivos auxiliares empleados.

<u>Reactivo</u>	<u>Características</u>
Dióxido de Titanio TiO ₂	Se usó como fotocatalizador en el tratamiento terciario de fotocátalisis heterogénea. Variante comercial Degussa P-25 de la marca Sigma-Aldrich. Área superficial específica: 50±15 m ² /g. Tamaño de partícula: 21 nm. Energía de ancho de banda: 3,2 eV.
Ácido clorhídrico 37%	Se usó para ayudar a disolver el ciprofloxacino antes de iniciar la agitación para los mecanismos de fotocátalisis, fotólisis, hidrólisis y biodegradación. Suministrado por Sigma-Aldrich.
Metanol	Se usó como fase móvil en los análisis Q-TOF. Suministrado por Merck.
Ácido fórmico 98-100%	Se usó como fase móvil en los análisis Q-TOF. Grado: Reactivo analítico. Suministrado por Merck.

3.3 Equipos auxiliares

En la Tabla 11 se identifican los equipos secundarios que fueron usados durante la experimentación.

Tabla 11. Equipos secundarios usados en los experimentos.



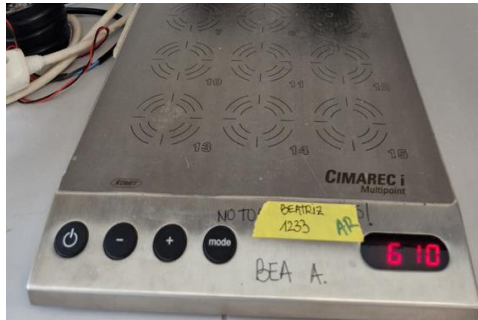
<u>Equipo</u>	<u>Descripción</u>
	<p>pHmetro Basic 20, marca Crison: calibrado con dos tampones 7,00 y 9,21. Precisión ± 0.002 pH. Se usa para el control del pH de los experimentos realizados.</p>
	<p>Balanza analítica para laboratorio, marca Sartorius. Precisión $\pm 0,1$ mg. Se usa para pesar las cantidades de antibiótico, catalizador y microalgas inactivadas necesarias durante la experimentación.</p>

Tabla 12. Equipos secundarios usados en los experimentos. (Continuación)



Placa de agitación. Se usa para la agitación de los reactores.



Resistencia y sistema de control de temperatura. Se acopla al baño termostático para mantener la temperatura en los reactores en que se estudia el tratamiento biológico.



Baño termostático. Se utiliza en el estudio biológico con el objetivo de controlar la temperatura de los reactores continuamente.

3.4 Materiales secundarios

Durante los ensayos que se realizaron para estudiar los tratamientos y mecanismos de degradación se usaron los materiales que se indican en la Tabla 13. Materiales secundarios usados en los ensayos experimentales.

Tabla 13. Materiales secundarios usados en los ensayos experimentales.

Material

Descripción



Filtro jeringa de nylon, no estéril. Capaz de retener partículas de más de 0,22 μm de tamaño. Se usa para la preparación de las muestras antes de analizarlas en el HPLC-QTOF-MS.



Filtro jeringa de microfibra vidrio. Retiene partículas de más de 0,7 μm de tamaño. Se usa para la prefiltración de las muestras tras la agitación.

Tabla 13. Materiales secundarios usados en los ensayos experimentales.
(Continuación)



Vaso de precipitados. Se utiliza como reactor para los experimentos de fotocatalisis.



Pesamuestras. Se usa para pesar las cantidades requeridas de antibióticos en los ensayos.



Botella ámbar de 1 L de capacidad. Se usa como reactor para el estudio de los mecanismos que requieren ausencia de luz (hidrólisis y adsorción).

Tabla 13. Materiales secundarios usados en los ensayos experimentales.
(Continuación)



Botella de 1 L de capacidad.
Se usa como reactor para el estudio de los tratamientos que no requieren ausencia de luz (biológico y su mecanismo de fotólisis).



Viales ámbar para cromatografía. Capacidad 2 mL. Se usa para las muestras analizadas en el HPLC-QTOF-MS.



Bomba de pecera. Se utiliza en el tratamiento biológico para suministrar el aire a los reactores a través de los difusores.

Tabla 13. Materiales secundarios usados en los ensayos experimentales.
(Continuación)



Jeringa desechable estéril.
Capacidad 2 mL. Se usa para
la toma y traspaso de
muestras en los viales



Matraces aforados de vidrio.
Capacidades de 100 mL y 1 L.
Se usan para la preparación de
las disoluciones de
antibióticos.



Difusor de pecera. Se utiliza en
el estudio del tratamiento
biológico. Su objetivo es
distribuir homogéneamente el
aire dentro de los reactores.

Tabla 13. Materiales secundarios usados en los ensayos experimentales.
(Continuación)



Agitador magnético de laboratorio. Se usa para la agitación de las soluciones preparadas con el objeto de garantizar una disolución homogénea de los analitos antes de los análisis en el HPLC-QTOF-MS.



3.5 Medio de cultivo Brunner modificado

El medio Brunner es un medio de cultivo que se utiliza para el crecimiento, desarrollo y multiplicación de microorganismos. Se usa a escala de laboratorio para tener controladas las condiciones óptimas de desarrollo. Este medio puede ser modificado para favorecer a ciertos microorganismos.

En la Tabla 14 se muestra la composición del medio de cultivo Brunner modificado utilizado en el tratamiento biológico, para cultivar el consorcio de microalgas y bacterias empleado.

Tabla 14. Composición del medio de cultivo Brunner modificado (Ángeles et al., 2021).

<u>COMPUESTO</u>	<u>CONCENTRACIÓN</u>
Na ₂ HPO ₄	2,44 g/L
KH ₂ PO ₄	1,52 g/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,0 g/L
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,2 g/L
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0,05 g/L
Solución madre (5 ml)	EDTA= 0,5 g/L FeSO ₄ · 7H ₂ O= 0,2 g/L

3.6 Biomasa utilizada en los tratamientos experimentales.

En el tratamiento secundario biológico se utiliza una biomasa activa formada por un consorcio de microalgas-bacterias crecido en el departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente de la Universidad de Valladolid (España). El reactor donde crecen es un fotobiorreactor tubular, con un volumen de 50 L, que opera a 25 °C y pH 7,8, con una radiación media en la superficie de los tubos de $1830 \cdot 10^{-9} \text{ mW/cm}^2$. Este consorcio está formado mayoritariamente por microalgas *Mychonastes homosphaera* ($1,88 \cdot 10^{10} \mu\text{m}^3 \cdot \text{L}^{-1}$) y *Chlorella vulgaris* ($3,96 \cdot 10^{10} \mu\text{m}^3 \cdot \text{L}^{-1}$).

Chlorella vulgaris es una microalga verde unicelular que pertenece al género *Chlorella*. Tiene propiedades biológicas y farmacológicas que la convierten en un microorganismo importante para la salud humana. Estas microalgas son comunes en ambientes dulces, por lo tanto, son capaces de desarrollarse en entornos controlados como fotobiorreactores. Está formada por proteínas, ácidos grasos poliinsaturados omega-3, polisacáridos, vitaminas y minerales. Contiene más de 20 vitaminas y minerales, como hierro, potasio, calcio, fósforo, magnesio, provitamina A, inositol, biotina y ácido fólico. Las características más representativas las encontramos en la Tabla 15.

Tabla 15. Características *Chlorella vulgaris* (Moorthy et al., 2023; Talba et al., 2018).

Condiciones óptimas de cultivo	Temperatura 30 °C pH 9,4 Aireación continua Iluminación continua
Características físicas	Diámetro 2-10 μm Morfotipo esférica-elipsoidal Color verde Pared celular Rígida
Componentes principales	Proteínas 61,1 % Hidratos de Carbono 13,7 % Vitaminas y minerales 12,7 %

Mychonastes homosphaera, también conocida como *Chlorella homosphaera*, es una microalga verde unicelular que pertenece al género *Chlorella*. Se ha estudiado para diversos fines, como su potencial como fuente de azúcares fermentables, su uso en la hidrólisis enzimática para la degradación, o su potencial uso para la eliminación de contaminantes emergentes de las aguas residuales. Es una especie con alta tasa de crecimiento y considerable capacidad oxidativa. Su contenido de lípidos es elevado, alcanzando el 40%; también tiene alto contenido de proteínas (38%), lo que la convierte en una alternativa prometedora para la producción de complementos alimenticios. Además, cuenta con 9 aminoácidos esenciales, entre ellos, triptófano (Trp), isoleucina (Ile), leucina (Leu), valina (Val), metionina (Met), treonina (Thr), histidina (His), fenilalanina (Phe) y lisina (Lys). Además, contiene ácidos grasos como, omega 3, 6, 7 y 9 (Rodríguez et al., 2011; Saadaoui et al., 2020 y Sepúlveda et al., 2022). Las características más representativas las encontramos en la Tabla 16.

Tabla 16 Características *Mychonastes homosphaera*.

Condiciones óptimas de cultivo	Temperatura 20-30 °C pH 7-9 Aireación continua Iluminación continua Agitación suave
Características físicas	Diámetro 2-10 µm Morfotipo esférica u ovoide Color verde intenso
Componentes principales	Proteínas, 38 % Lípidos, 40%



Para el estudio del mecanismo de adsorción se utiliza una biomasa liofilizada, consistente en un consorcio de microalgas-bacterias proporcionada por el departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Almería (España). Principalmente está formada por la microalga *Scenedesmus almeriensis*. Esta biomasa se obtiene de un reactor de microalgas de alta tasa utilizado para el tratamiento de aguas residuales porcinas con un volumen operativo de 11800 L y una superficie terrestre de 80 m². El reactor opera con una radiación solar entre 1500 y 1600 $\mu\text{E}/\text{m}^2$ y una temperatura entre 30 y 35 °C.

La microalga *Scenedesmus* es un género de microalgas verdes unicelulares perteneciente a la familia *Scenedesmaceae*. Estas microalgas son comunes en ambientes de agua dulce, como lagos y estanques. Además, tiene la capacidad de crecer en sistemas controlados como fotobiorreactores. El tipo de microalgas *S. almeriensis* es una cepa de rápido crecimiento y alta productividad que está adaptada a condiciones estresantes. Algunas de sus características más relevantes se encuentran recogidas en la Tabla 17. La biomasa de esta cepa es una fuente de moléculas como la luteína y la zeaxantina, por lo que se utiliza en la acuicultura como harina de pescado; en procesos de tratamientos de aguas residuales, produce lípidos que son usados como biodiesel y, además, es usada en la agricultura como fuente de biofertilizantes (Sánchez et al., 2008).

Tabla 17. Características de la microalga *Scenedesmus almeriensis* (Zambrano et al. 2021; Sánchez et al., 2008).

Condiciones óptimas de cultivo	Temperatura	26-40°C
	pH	7,0-10,0
	Salinidad (g NaCl/L)	0-5
	Fotoinhibición	Sin signos hasta 1625 $\mu\text{E}/\text{m}^2$
Características físicas	Diámetro	3 μm
	Morfotipo	Óvalo
	Agrupación	De 6 a 10 individuos
	Color	Verde intenso
	Pared de las células	Gruesa y dura
Análisis elemental	Carbón	36,5-47,9%
	Oxígeno	34,5-52,2%
	Hidrógeno	5,3-6,6%
	Nitrógeno	5,7-7,9%
	Azufre	0-0,8%
Componentes principales	Proteínas	44,2-49,4%
	Carbohidratos	24,6-25,2%
	Lípidos	12,0-24,6%
	Ceniza	2,0-19,4%

3.7 Equipo HPLC-QTOF-MS.

La espectrometría de masas es una técnica que se basa en la obtención de iones, los cuales se separan en función de su masa/carga y son detectados por un dispositivo. El espectrómetro debe constar de estas 4 partes para su funcionamiento: sistema de introducción de muestras, fuente de iones, analizador (separa iones) y sistema detector. En la Figura 9 podemos ver su estructura. Esta técnica se utiliza para identificar compuestos desconocidos, determinar el contenido isotópico de diferentes elementos en un mismo compuesto, y obtener información sobre la estructura y propiedades químicas de las moléculas.

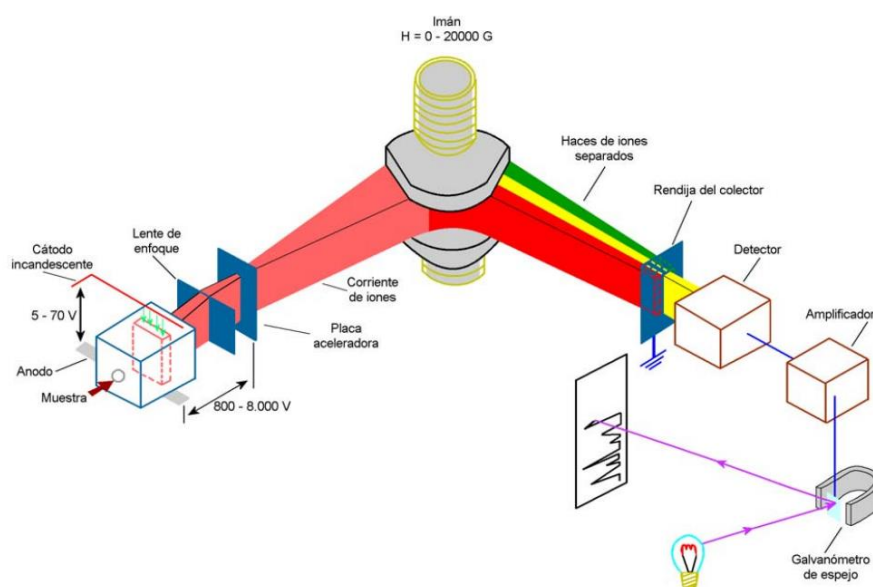


Figura 9. Esquema de un espectrómetro de masas.

En función de las técnicas utilizadas y de los componentes, existen diferentes tipos de espectrometría de masas. Entre todos, se puede destacar el HPLC-QTOF-MS, que es el que se ha utilizado. Los análisis se realizaron por el Laboratorio de Tecnología Instrumental (LTI) de la Universidad de Valladolid (Figura 10).



Figura 10. Equipo HPLC- QTOF-MS de la Universidad de Valladolid.

El Q-TOF es un espectrómetro de masas denominado "tiempo de vuelo cuadrupolar", en inglés Quadrupole Time-of-Flight. Este equipo combina dos analizadores acoplados; primero los iones pasan por un filtro de masas de cuádruplo (Q) y seguidamente por un analizador de tiempo de vuelo (TOF). Este mecanismo proporciona una alta precisión de masa, una sólida capacidad de cuantificación y aplicabilidad de experimentos de fragmentación (Luczaj et al., 2017).

El HPLC-QTOF-MS, funciona de la siguiente forma:

- Inyección de la muestra: la muestra se disuelve en la fase móvil y llega al sistema mediante un inyector de cromatografía líquida.
- Cromatografía líquida: la muestra se mueve por la columna y sus componentes se separan en función de su interacción con la fase móvil y estacionaria. Los compuestos que tengan más afinidad con la fase estacionaria serán los últimos en salir de la columna.
- Ionización: la muestra se ioniza, se convierte en iones.
- Aceleración: Los iones generados se aceleran mediante un campo eléctrico.
- Separación de masas: Los iones se separan en el analizador de masas según su relación masa-carga (m/z). Se utiliza un cuádruplo para filtrar y seleccionar los iones de interés.
- Colisión y fragmentación: los iones seleccionados colisionan con un gas de colisión, lo que provoca su fragmentación. Se utiliza para tener información sobre los compuestos analizados.

- Entrada al Analizador (QTOF): los iones se aceleran aún más por un campo eléctrico, y la velocidad con la que se desplazan depende de su masa. Los iones más pesados viajarán más lentamente que los más ligeros.
- Detector y Medición: Un detector registra la llegada de los iones y mide el tiempo que tardaron en llegar. Este tiempo se utiliza para calcular las masas de los iones.
- Análisis de Datos.

En el equipo, se emplea la técnica de electrospray para la ionización. Esta técnica se caracteriza por ser una fuente de ionización suave, con varias ventajas significativas: es adecuada para compuestos termolábiles y de alto peso molecular, capaz de manejar iones multicargados, y ofrece una alta sensibilidad. Sin embargo, presenta la desventaja de ser sensible a la presencia de sales (Osorio et al., 2018; Gómez et al., 2018).

El analizador cuádruplo está formado por cuatro barras cilíndricas paralelas que actúan como electrodos y están unidas dos a dos, a un polo positivo y a otro negativo. Utiliza campos eléctricos para filtrar iones en función de su relación masa-carga, con lo cual selecciona y permite el paso de iones específicos. Los iones que tienen una relación m/z distinta a la seleccionada colisionan con las barras cilíndricas que constituyen el analizador de masas impidiendo que lleguen al detector. En la Tabla 18 se recogen las principales características del cuádruplo.

Tabla 18. Características del filtro cuádruplo (Luczaj et al., 2017).

Velocidad de adquisición (Hz)	2-10
Exactitud de masa (ppm)	baja
Rangos de masas (m/z)	<3000
Resolución	Unitaria

Se utiliza además otro analizador del tipo TOF, el cual selecciona los iones en función de las velocidades a lo largo del tubo de vuelo. A todos los iones se les aplica la misma energía, siendo las velocidades que alcanzan inversamente proporcionales a su masa. En la Tabla 19 se indican las características del analizador TOF.



Tabla 19. Características del analizador TOF (Luczaj et al., 2017).

Velocidad de adquisición (Hz)	10-100
Exactitud de masa (ppm)	1-10 ppm
Rangos de masas (m/z)	<100000
Resolución	<5000

Se pueden destacar las siguientes ventajas del Q-TOF, proporciona alta resolución, amplio rango de masas, detección de compuestos en cantidades mínimas (trazas), facilidad para acceder a la fuente de iones, rapidez en la adquisición de datos.

El análisis de los datos se lleva a cabo mediante un software SCIEX OS que puede adquirir los datos de distintos modos, obteniendo el espectro MS o MS/MS. En el modo *Full scan* se detectan los iones en su forma de ion molecular con la masa exacta, seguidamente se produce la fragmentación de los compuestos, y, por último, se obtiene el espectro MS que es más sencillo de analizar. En el modo *IDA* (Information Dependent Acquisition) se obtiene el espectro MS/MS de las moléculas en orden descendente, en función de su intensidad.

CAPÍTULO IV. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

4.1 Tratamiento terciario fotocatalítico heterogéneo.

La aplicación de la fotocatalisis heterogénea para la degradación de antibióticos se basa en la absorción de la energía ultravioleta (UV) por un catalizador sólido semiconductor, es decir, un material que modifica la velocidad de reacción química. Entre estos catalizadores sólidos, son habituales el Al_2O_3 , ZnO , Fe_2O_3 , CuO , MnO y TiO_2 (Centeno-Bordones, 2022). Y entre todos ellos, el más usado es TiO_2 por su actividad y sus propiedades, ya que es considerado no tóxico, es resistente a la corrosión, es económicamente rentable, posee un buen rendimiento, y es abundante en la naturaleza. El TiO_2 exhibe propiedades redox, es decir, tiene capacidad para intervenir simultáneamente en reacciones de oxidación y reducción, facilitando la transferencia de electrones entre dos especies químicas. En este proceso, una de las especies se oxida (pierde electrones) y la otra se reduce (gana electrones) (Garcés et al., 2022; y Nevárez et al., 2017).

El tratamiento se basa en la iluminación del semiconductor con luz de mayor energía que la energía de la banda prohibida ($E_g=3,2$ eV para el TiO_2), y como consecuencia, se libera un electrón desde la banda de valencia (BV) hacia la banda de conducción (BC), dejando un hueco positivo (h^+) en la BV. Así, electrón y hueco son los causantes de las reacciones redox. Por un lado, los electrones son capaces de reaccionar con el antibiótico rompiendo sus enlaces químicos, y por otro, los huecos generados son capaces de reaccionar con las moléculas del medio de la solución generando radicales hidroxilos (OH^*). En la Figura 11 se muestra el mecanismo de reacción (Centeno et al., 2022; Gómez et al., 2018; Nevárez et al., 2017; Zambrano et al., 2022).

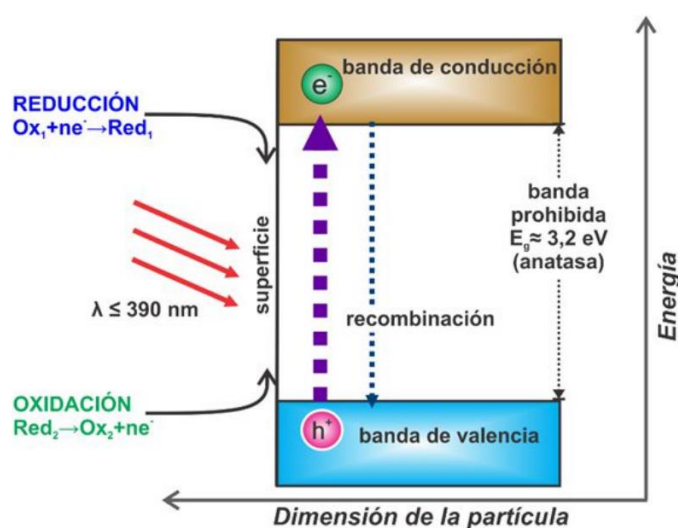
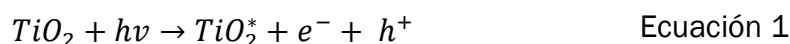


Figura 11. Mecanismo de fotocatalisis sobre la superficie de dióxido de titanio (Nevárez et al., 2017).

El proceso fotocatalítico con TiO_2 , se describe mediante algunas de las reacciones principales de la siguiente manera (Benancio et al., 2022):

El catalizador (TiO_2) se irradia con luz UV y se produce la excitación de electrones en la BV, y como consecuencia se originan pares de electrones en la BC y huecos de electrones en la BV.



El TiO_2^* se encuentra excitado, y puede reaccionar con oxígeno, para regenerar el dióxido de titanio y, además, origina oxígeno excitado (O_2^*) que es capaz de reaccionar con otras especies del entorno y contribuir al comportamiento catalítico mediante reacciones redox.



Así mismo, los electrones y los huecos participan en reacciones redox con las especies que se encuentran en el agua o en el aire disuelto.



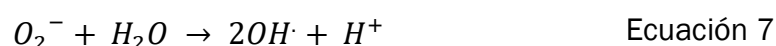
El ion superóxido formado es muy reactivo, y puede reaccionar formando el radical hidroperoxilo.



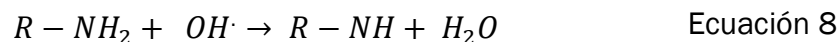
Además, el ion superóxido es capaz de reaccionar con el agua para formar peróxido de hidrogeno:



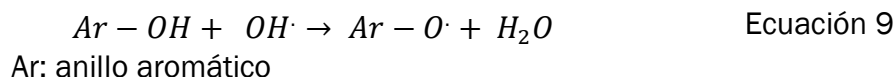
También se pueden producir radicales hidroxilos, al reaccionar los huecos de la banda de valencia y el ion superóxido con el agua:



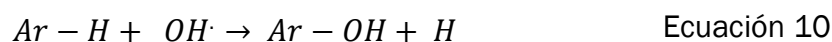
Los grupos amínicos presentes en antibióticos pueden ser oxidados por los radicales hidroxilos:



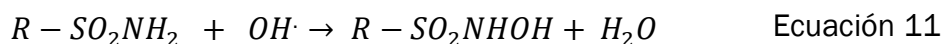
Los grupos hidroxilo en fenoles pueden ser atacados por radicales hidroxilos, formando radicales fenóxidos:



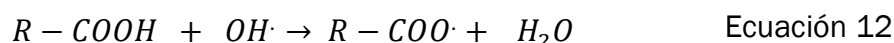
Los radicales hidroxilos pueden atacar anillos aromáticos en antibióticos:



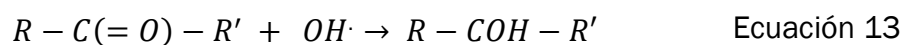
Los grupos sulfanomidas, del antibiótico SDZ, pueden ser oxidados:



En el antibiótico del CIP, el grupo carboxilo puede ser oxidado por radicales hidroxilos, formando dióxido de carbono y agua



Los grupos cetona presentes en la tetraciclina pueden ser oxidados por los radicales hidroxilos, formando intermediarios como radicales alquilo:



En el laboratorio se realizan experimentos de fotocatalisis para la degradación de la SDZ, la TET y el CIP por separado. Para ello se utiliza un reactor recubierto con tiras de diodos emisores UV-LED en el espectro del ultravioleta A (longitud de onda 395-405 nm), cuya intensidad es de 13,45 mW/cm². Los reactores son vasos de vidrio de 100 mL ± 1 % que se encontraban en el interior una estructura, que se utiliza como recubrimiento del sistema para evitar la influencia de la luz externa. Durante toda la experimentación se mantuvo una temperatura constante de 25 °C, y un pH de 8,0.

Las soluciones madre individuales de antibióticos se preparan de 1 g/L para TET, SDZ y CIP en agua ultra pura Milli-Q. En el caso del CIP se añade 1 mL de ácido clorhídrico al 0,2 % para ayudar a disolver el antibiótico. La preparación de las soluciones madre es idéntica en todos los experimentos llevados a cabo.

Para realizar el experimento se añaden en el reactor 50 mL de solución 100 µg/L (preparada a partir de la solución madre de 1 g/L) y se agita. Se añade dióxido de titanio hasta conseguir una concentración de 1 g/L. Los reactores son colocados en una placa de agitación a 200 rpm, como se muestra en la Figura 12. Seguidamente, se esperan 30 minutos hasta conseguir el equilibrio de adsorción y se toma la primera muestra, para conocer la concentración del antibiótico que se encuentra inicialmente ($t=0$) en nuestro reactor. Posteriormente se encienden las luces LED UV y se toman tres muestras más a partir de este momento a los 60 min, 120 min y 180 min.



Figura 12. Reactores fotocatalíticos empleados.

Para recoger las muestras, se realiza el siguiente procedimiento: 1) se toman 2 ml de la solución del reactor y se filtra (con 0,7 µm) para eliminar el fotocatalizador, 2) el filtrado obtenido se filtra nuevamente (con 0,22 µm) y se guarda el filtrado líquido (la muestra) en un vial ámbar de 2 ml a -20 °C hasta que es analizado en el HPLC-QTOF-MS para determinar los productos de degradación que se hayan formado. Esta forma de recoger y tratar las muestras es idéntica para todos los experimentos llevados a cabo.



4.2 Tratamiento secundario biológico.

El tratamiento biológico es un proceso que consiste en la descomposición de compuestos orgánicos mediante la biotransformación, dando lugar a productos intermedios o una degradación completa a CO_2 y H_2O . Durante este tratamiento se llevan a cabo simultáneamente los mecanismos de fotólisis, hidrólisis, adsorción y biodegradación, por lo que se estudian aisladamente los tres primeros para poder distinguir la eliminación debida solamente a la biodegradación. El tratamiento de biológico se lleva a cabo por microorganismos que contienen enzimas, las cuales son capaces de metabolizar los contaminantes, incluidos los antibióticos. Los microorganismos que se utilizan dependen del contaminante a tratar y de las condiciones ambientales en las que se lleve a cabo el proceso (Wang et al., 2017) . Entre todos ellos, podemos destacar los siguientes: las bacterias se utilizan para descomposición de hidrocarburos, compuestos orgánicos o contaminantes más complejos; los hongos se utilizan para degradar compuestos orgánicos; las algas y microalgas se utilizan para la eliminación de contaminantes, especialmente en medios acuáticos; también se utilizan enzimas específicas aisladas de estos microorganismos e incluso microorganismos modificados genéticamente.

Las microalgas son microorganismos que degradan los antibióticos debido a que contienen una gran cantidad de enzimas para metabolizar compuestos xenobióticos, contaminantes tóxicos de origen antropogénico (Wang et al., 2017; Albert et al., 2023) . Aunque se pueden tomar medidas para controlar y gestionar las poblaciones microbianas, es difícil evitar completamente la presencia de bacterias en condiciones normales de operación con microalgas. La clave suele ser aprovechar y gestionar estas interacciones biológicas para lograr resultados positivos en el tratamiento de aguas residuales y en otras aplicaciones. Además, la simbiosis microalgas-bacterias posee muchos beneficios en los tratamientos de aguas residuales por varias razones:

1. Reciclaje de nutrientes: Las microalgas pueden absorber nutrientes presentes en el agua, como nitrógeno y fósforo, para su crecimiento. Las bacterias pueden ayudar a descomponer la materia orgánica presente, liberando nutrientes que las microalgas pueden utilizar. Este proceso contribuye al reciclaje de nutrientes en el ecosistema.
2. Mejora de la eficiencia del tratamiento: La coexistencia de microalgas y bacterias puede aumentar la eficiencia global del tratamiento de aguas residuales. Mientras que las microalgas pueden realizar la fotosíntesis y eliminar contaminantes orgánicos, las bacterias pueden contribuir a la descomposición de materia orgánica a productos más simples que sirven como nutrientes a las microalgas.



3. Reducción de sólidos en suspensión: Las microalgas pueden ayudar en la clarificación del agua al absorber partículas suspendidas. Esto resulta en una reducción de los sólidos en suspensión, mejorando la calidad del agua tratada.
4. Generación de oxígeno: Durante la fotosíntesis, las microalgas liberan oxígeno, lo cual es beneficioso para el tratamiento aeróbico de aguas residuales. El oxígeno generado por las microalgas puede favorecer el crecimiento de bacterias aeróbicas que participan en la descomposición de materia orgánica. Adicionalmente las bacterias liberan dióxido de carbono mediante la respiración que es utilizado para la fotosíntesis de las algas.
5. Generación de compuestos orgánicos: las algas producen carbohidratos y aminoácidos que son capaces de apoyar el metabolismo heterótrofo y proporcionar sustratos para la degradación de antibióticos.
6. Producción de biomasa: La combinación de microalgas y bacterias puede resultar en la producción de biomasa, que puede ser cosechada y utilizada con fines útiles, como la producción de biocombustibles, bioplásticos o alimentos para animales.

Así pues, la colaboración simbiótica entre microalgas y bacterias en un consorcio en el tratamiento de aguas residuales ofrece una serie de beneficios que van desde una mayor eficiencia en la eliminación de contaminantes hasta la generación de recursos valiosos y la mejora general de la calidad del agua tratada.

En el presente trabajo fin de grado se llevan a cabo experimentos biológicos de la SDZ, la TET y el CIP por separado. Se usa una biomasa activa de un consorcio mayoritariamente de microalgas *Chlorella vulgaris* y bacterias, y un medio de cultivo Brunner modificado. Los reactores, como se observa en la Figura 13, se sitúan en el interior de una estructura cerrada para evitar la influencia de la luz externa. Se dispone de tres reactores que son botellas de vidrio ámbar (para protegerlos de la luz externa) de 1 L, y en cada reactor se introduce un antibiótico distinto. Están situados en el interior de un baño termostático que es calentado, con ayuda de una resistencia, a una temperatura constante de 25 °C durante todo el proceso, y son mantenidos a un pH de 9,2, operando en condiciones de luz LED en el espectro visible durante 24h.



Figura 13. Reactores empleados en el tratamiento biológico.

Para llevar a cabo el experimento, se añade en cada reactor 1 L de la solución del medio de cultivo Brunner modificado que contiene biomasa activa del consorcio microalgas-bacterias, a una concentración de 2,5 g/L, enriquecido con el antibiótico correspondiente hasta una concentración final de 100 $\mu\text{g/L}$.

Se toma la primera muestra en el instante en el que se realiza la mezcla, para conocer la concentración de antibiótico inicial en nuestro reactor, y se continúa recogiendo una muestra al día durante los 4 días que dura el experimento. Se emplea el mismo procedimiento para recoger y tratar las muestras que el descrito previamente para el tratamiento fotocatalítico. La diferencia radica en que, en esta ocasión, se lleva a cabo un primer filtrado μm con el fin de eliminar la mayor cantidad posible de microalgas ya que este tratamiento no se tiene fotocatalizador.



4.2.1 Mecanismo de hidrólisis.

El mecanismo de hidrólisis conduce a la eliminación de antibióticos presentes en agua descomponiendo las moléculas en sustancias más simples y polares. Este mecanismo es capaz de degradar muchas moléculas orgánicas que se encuentran en el medio ambiente, variando el tiempo medio de degradación varios días o incluso semanas en condiciones normales. Las moléculas que contiene un grupo funcional como las amidas han experimentado una buena degradación por este mecanismo debido a la alta polaridad, al igual que los ésteres (Abramović et al., 2021; Zambrano et al., 2023 y Yi et al., 2017).

La hidrólisis depende, entre otros factores, de la naturaleza del compuesto, de la concentración, de la presencia de otros compuestos químicos, de la temperatura, de la presión, del pH. Feng et al. (2023) han mejorado el rendimiento de este mecanismo para el tratamiento de aguas residuales alterando la temperatura y el pH. Observaron que la degradación de oxitetraciclina en condiciones normales (25 °C y pH=7,0) tiene una vida media de 173,17 h, mientras que si se trabaja a una temperatura de 85 °C y un pH=7,0, la vida media se puede reducir hasta 0,19 h, por lo que un incremento de la temperatura reduce el tiempo de eliminación de la oxitetraciclina.

Así pues, durante el tratamiento biológico con microalgas, de aguas que contienen microcontaminantes antibióticos, también se produce la degradación hidrolítica de los antibióticos, por lo que se hace necesario conocer la influencia y participación que tiene el mecanismo de hidrólisis en el conjunto del tratamiento biológico.

En este trabajo fin de grado, se llevan a cabo experimentos en el laboratorio para investigar el mecanismo de hidrólisis de la SDZ, la TET y el CIP por separado, empleando tres reactores agitados a 200 rpm, como se observa en la Figura 14. Los reactores son botellas de vidrio ámbar de 1 L para protegerlos de la luz externa. En cada reactor se añade 1 L de agua Milli-Q enriquecida con el antibiótico correspondiente hasta una concentración final de 100 µg/L. Durante toda la experimentación los reactores se mantienen a una temperatura de 25 °C y a un pH de 7,0. Además, se trabaja en condiciones de oscuridad, para evitar reacciones fotoquímicas no deseadas.



Figura 14. Reactores empleados en el estudio del mecanismo de hidrólisis.

La primera muestra se toma nada más introducir el antibiótico y mezclar ($t=0$). La duración del experimento es la misma que la del tratamiento biológico, 4 días, y cada día se toma una muestra. La toma y tratamiento de las muestras se realiza de la misma forma a como se ha descrito previamente para el resto de experimentos.



4.2.2 Mecanismo de fotólisis.

La degradación de antibióticos mediante fotólisis, se produce de forma natural cuando estos contaminantes se encuentran en las aguas superficiales o residuales. La fotólisis directa se basa en la absorción directa de la luz por el antibiótico seguido de las reacciones químicas correspondientes. Por otro lado, la fotólisis indirecta se basa en la absorción de la energía lumínica por otras sustancias suspendidas en el medio de estudio y su posterior transmisión al antibiótico. (Huertas y Bustos 2023; Octavio et al., 2017).

La fotólisis emplea luz en el espectro visible para eliminar antibióticos. Este mecanismo depende, entre otros factores, de la estructura química de la sustancia, del rendimiento de las reacciones fotoquímicas, de la radiación lumínica, etc. Para producirse la degradación, las moléculas tienen que ser capaces de absorber fotones y producir energía suficiente para originar roturas en los enlaces (Huertas y Bustos, 2023; Ruiz et al., 2001) .

Durante el tratamiento biológico con microalgas, de aguas que contienen microcontaminantes antibióticos, también se produce la degradación fotolítica de los antibióticos, por lo que se hace necesario conocer la influencia y participación que tiene el mecanismo de fotólisis en el conjunto del tratamiento biológico.

En este trabajo fin de grado, se llevan a cabo experimentos en el laboratorio para investigar la influencia del mecanismo de fotólisis en la degradación de la SDZ, la TET y el CIP. Se realizan ensayos independientes, en ausencia de biomasa, para lo que se utilizan tres reactores agitados a 200 rpm, como se observa en la Figura 15. Los reactores se encuentran protegidos de la luz externa, y están únicamente irradiados con unas luces LED en el espectro visible. Los reactores son botellas de vidrio cristalinas de 1 L, y en cada reactor se añade 1 L de agua Milli-Q enriquecida con el antibiótico correspondiente hasta una concentración final de 100 µg/L.



Figura 15. Reactor empleado en el estudio del mecanismo de fotólisis.

A continuación, se encienden las luces y se toma la primera muestra ($t=0$). Posteriormente, se recoge una muestra al día durante los 4 días que dura el experimento. Durante toda la experimentación los reactores se mantienen a una temperatura de 25 °C y a un pH de 8,0, y se irradian con luz durante 24h.

El resto de las muestras se toman y se tratan de la misma manera a como se ha descrito en los tratamientos previamente descritos.

Adicionalmente, en estos ensayos durante el mecanismo de fotólisis también se produce el mecanismo de hidrólisis. Por lo tanto, para determinar los metabolitos producidos exclusivamente por la fotólisis, se debe sustraer las cantidades de metabolitos que se han determinado previamente en la hidrólisis.



4.2.3 Mecanismo de adsorción.

La adsorción es un proceso mediante el cual átomos, iones o moléculas de los contaminantes encontrados en las aguas residuales se adhieren a la superficie de otras sustancias. Entre ellos se pueden destacar bacterias, plantas, algas, hongos, etc.

Este mecanismo es respetuoso con el medio ambiente y eficaz para la eliminación de algunos fármacos, metales, compuestos orgánicos y otros contaminantes. La adsorción de antibióticos se ve afectada, entre otros, por mecanismos hidrófobos (intercambio catiónico, enlaces de hidrogeno), la atracción electrostática, el pH, la carga del antibiótico, la solubilidad del antibiótico, la estructura química del antibiótico. Implica la interacción física y química entre los sitios activos del adsorbente y el contaminante. Los sitios activos pueden ser grupos funcionales en las paredes de los microorganismos o en la estructura de las plantas (Deyris et al., 2023 y Eheneden et al., 2023).

Así mismo, durante el tratamiento biológico con microalgas, de aguas que contienen antibióticos, también se produce la eliminación por adsorción de los antibióticos, por lo que se hace necesario conocer la influencia y participación que tiene este mecanismo en el conjunto del tratamiento biológico.

En este trabajo fin de grado, se llevan a cabo experimentos en el laboratorio para investigar el mecanismo de adsorción de la SDZ, la TET y el CIP por separado. Se dispone de tres reactores que son botellas ámbar de vidrio de 1 L, para protegerlos de la luz del medio, agitados a 200 rpm, como se muestra en la Figura 16. Se mantiene una temperatura constante de 25°C, un pH de 8,9. Además, se lleva a cabo en condiciones de oscuridad, para evitar interferencias de reacciones fotoquímicas y a garantizar que la adsorción ocurra exclusivamente debido a las interacciones entre las moléculas de los contaminantes y la superficie del material adsorbente.



Figura 16. Reactores empleados para estudiar el mecanismo de adsorción.

Para realizar el experimento se añaden en el reactor 1 L de agua Milli-Q enriquecida con el antibiótico correspondiente en cada reactor, hasta una concentración final de 100 $\mu\text{g/L}$. Se toma la primera muestra en el instante $t=0$, para conocer la concentración en disolución de antibiótico. Posteriormente, se añade biomasa inactiva liofilizada, formada por un consorcio de microalgas (*Scenedesmus almeriensis*) y bacterias, hasta alcanzar una concentración de 1 g/L. Se utiliza biomasa inactiva liofilizada para evitar procesos biológicos no deseados. Por último, se recoge una muestra al día durante los 4 días que dura el experimento. El tratamiento y la recogida de las muestras se realiza de la misma forma que en el resto de experimentos.

Adicionalmente, en estos ensayos durante el mecanismo de adsorción también se produce el mecanismo de hidrólisis. Por lo tanto, para determinar los metabolitos producidos exclusivamente por adsorción, se debe sustraer las cantidades de metabolitos que se han determinado previamente en la hidrólisis.



4.3 Muestras recogidas experimentalmente.

A lo largo de todos los experimentos realizados en el laboratorio por los distintos tratamientos y mecanismos se recogieron las muestras para ser analizadas en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales, del Departamento de Análisis Instrumental de la Universidad de Valladolid mediante la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución y espectrometría de masas con analizadores de tiempo de vuelo cuádruplo (HPLC-QTOF-MS).

Para estudiar el tratamiento de eliminación de los antibióticos mediante fotocatalisis heterogénea con TiO_2 , se recogieron 4 muestras por cada antibiótico ensayado, con un total de 12 muestras. Para el tratamiento biológico y los potenciales mecanismos involucrados, se recogieron 5 muestras por antibiótico y mecanismo. Algunas muestras no se pudieron coger.



4.4. Determinación del rendimiento de eliminación de los antibióticos.

La cuantificación de los antibióticos se lleva a cabo mediante el equipo HPLC-QTOF-MS. Este equipo proporciona el cromatograma de cada muestra, en el que aparecen como picos separados, en función del tiempo de residencia y su intensidad, los diferentes componentes. Para obtener el porcentaje de eliminación de los antibióticos lo ideal es preparar estándares y realizarlo mediante una técnica de calibrado, pero por razones de tiempo y disponibilidad de los equipos, no es posible realizar este calibrado y se emplea un método aproximado. El área bajo el pico está directamente relacionada con la concentración del analito en la muestra, es decir, es una medida de la cantidad total de analito presente en la muestra. Por lo tanto, el porcentaje de degradación se puede calcular comparando el área bajo el pico del analito, al comenzar y finalizar el tratamiento de degradación. Para calcular el porcentaje de degradación se hace uso de la Ecuación 14. Para poder utilizar esta ecuación se asume que las condiciones de cromatografía y las características del analito no cambian durante el experimento.

$$(\%) = \left(1 - \frac{A_{final}}{A_{inicial}}\right) * 100 \quad \text{Ecuación 14}$$

Donde:

- $A_{inicial}$: es el área bajo el pico del analito antes de comenzar el tratamiento.
- A_{final} : es el área bajo el pico del analito al finalizar el tratamiento.



4.5. Método de identificación de productos de degradación.

Las muestras son inyectadas en el equipo HPLC-QTOF-MS, permitiendo la separación de los analitos en un tiempo de 17 minutos en modo positivo para cada muestra. Al final de la inyección el equipo realiza una búsqueda automática de los compuestos incluidos en la relación de compuestos de su base de datos, y proporciona datos de interés como el tiempo de retención, la masa exacta teórica, la composición elemental exacta y el espectro de masas.

Para identificar los metabolitos se puede realizar de tres maneras.

- 1) Comparando el tiempo de retención del metabolito obtenido con el tiempo de retención de un patrón previamente analizado. Esta metodología no resulta útil debido a que los metabolitos a obtener son desconocidos; por lo tanto, no es posible realizar comparaciones con patrones de dichos metabolitos desconocidos. Además, es una forma poco selectiva de identificación, debido a la gran cantidad de picos que se obtienen en el espectro.
- 2) Comparando el espectro de masas obtenido de cada metabolito con una librería de espectros, y observando si coinciden los fragmentos. El software utilizado por la Universidad de Valladolid no contiene una librería de espectros para los metabolitos, con lo cual de esta forma no se pueden identificar.
- 3) Comparando la masa buscada bibliográficamente con la masa obtenida por el método analítico. Si las masas coinciden, y además también coincide la composición elemental, el compuesto analizado corresponde al compuesto comparado. Este último método es el que se emplea en este proyecto.

El analizador TOF destaca por la medida exacta de los iones del compuesto padre y de sus fragmentos. Tiene una elevada resolución y precisión de la masa exacta, con un margen de error de 7 ppm, lo que proporciona la verificación de la masa elemental exacta. El sistema Q-TOF utilizado para este trabajo fin de grado proporciona valores de masa exacta con errores <7 ppm.

CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Cuantificación de la eliminación.

Para observar la evolución de la eliminación de los antibióticos a lo largo de la duración de los experimentos, se representa la señal medida por el equipo, es decir, el área bajo el pico que está directamente relacionada con la cantidad del componente en función del tiempo de duración de cada experimento. Además, se hace uso de la Ecuación 14 para calcular el porcentaje de degradación de los antibióticos. En el Anexo se recopilan los cromatogramas de todas las muestras analizadas.

En la Figura 17 se observa que mediante fotocátalisis, la TET y el CIP se eliminan más fácilmente que la SDZ. Para la degradación de la TET y el CIP se obtiene un porcentaje del 99%, mientras que el obtenido para la SDZ es del 25%, al cabo de 3 horas. Se ha comprobado que el tratamiento mediante fotocátalisis heterogénea con TiO_2 es muy efectivo para los antibióticos TET y CIP, pero poco para la SDZ.

Zambrano et al. (2022) realizaron un estudio de degradación para la TET, la SDZ y el CIP mediante el mecanismo de fotocátalisis con TiO_2 . Los resultados que se alcanzaron con este tratamiento, en un reactor discontinuo a una temperatura de 25°C y un pH de 8.0, es de 99-100% para la TET y el CIP en un tiempo de 4 h, mientras que la SDZ alcanzó un porcentaje del 99-100 % en 7,1 h. Para la TET y el CIP los resultados que se han obtenido son parecidos, en cambio, para la SDZ se observa una gran diferencia debido a que el ensayo realizado en este trabajo tuvo una menor duración.

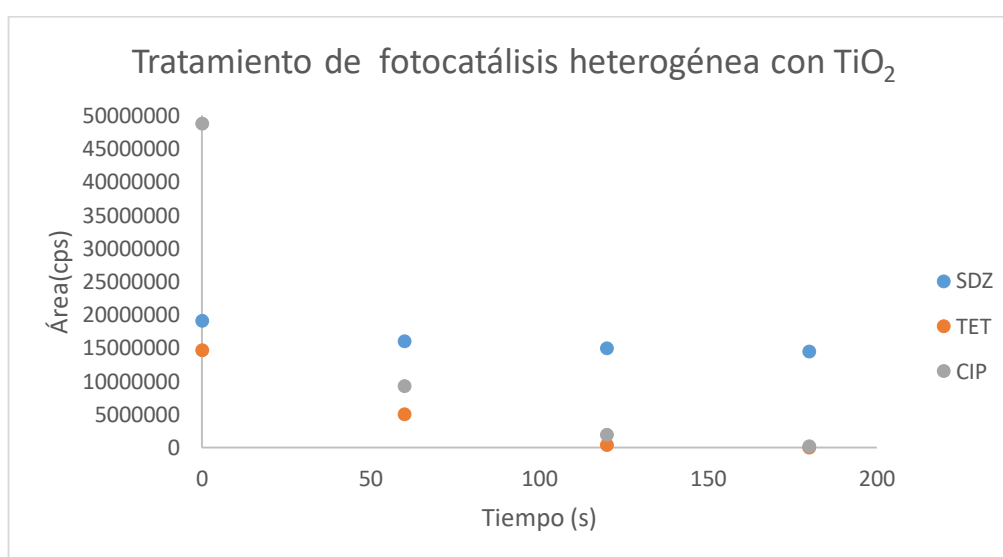


Figura 17. Eliminación de los antibióticos por fotocátalisis.

En la Figura 18 se aprecia una notable eliminación de los tres antibióticos mediante el tratamiento biológico usando una biomasa activa de un consorcio mayoritariamente de microalgas *Chlorella vulgaris* y bacterias, y un medio de cultivo Brunner modificado. Los porcentajes obtenidos durante 96h de experimentación son: 89 % para la SDZ, 99 % para la TET y 67 % para el CIP. Todos los porcentajes son bastante elevados, pero la eliminación del CIP es menos efectiva mediante este tratamiento.

Los resultados obtenidos en este trabajo son comparables con estudios previos. Zambrano et al. (2023) realizaron un tratamiento biológico durante 96 h a unas condiciones de temperatura de 25 °C, iluminación en ciclos de 12 h de luz/12 h de oscuridad. Se usó biomasa activa de un consorcio bacterias-microalgas (*Scenedesmus almeriensis*) en el medio BG11 para la tetraciclina, la sulfadiacina y el ciprofloxacino. Los resultados obtenidos fueron: 52 % para la SDZ, 99 % para la TET y 78 % para el CIP. Debido a que cambia el medio utilizado y las microalgas en el tratamiento, se puede considerar que las microalgas *Scenedesmus almeriensis* presentan más afinidad por el CIP, mientras que las microalgas *Mychonastes homosphaera* y *Chlorella vulgaris* muestran mayor eficacia para la SDZ.

Se observa que el tratamiento fotocatalítico heterogéneo con TiO₂ necesita emplear menos tiempo para alcanzar resultados próximos al tratamiento biológico. Incluso en el tratamiento biológico se obtiene un porcentaje de eliminación menor para el CIP.

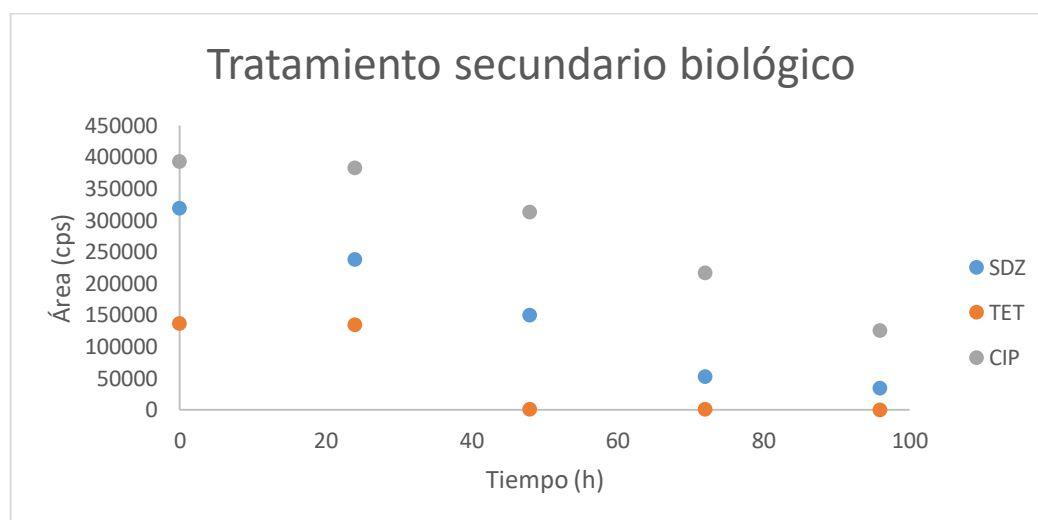


Figura 18. Eliminación de los antibióticos por tratamiento biológico.

En la Figura 19 se muestran los resultados de los ensayos de fotólisis, observándose que la SDZ no se elimina, mientras que la TET y el CIP apenas lo hacen. Los porcentajes obtenidos durante los 4 días de realización de experimentos mediante el mecanismo de fotólisis son: 1.7 % para la SDZ, 12.2 % para la TET y 8.6 % para el CIP. Este mecanismo no tiene tasas altas de eliminación para un periodo corto de tiempo.

Comparando los resultados obtenidos experimentalmente en este trabajo con estudios anteriores sobre el mecanismo de fotólisis se observan semejanzas. Zambrano et al. (2023) realizaron un estudio de degradación durante 4 días. Los resultados que se alcanzaron fueron: la SDZ tuvo un porcentaje de eliminación del 3,94%, la TET 6,83 % y el CIP del 7,29 %. Es decir, observaron que, para completar la eliminación de estos antibióticos, la TET necesitaría 162 días, el CIP 125 días y la SDZ 311 días. Xie et al. (2020) después de 9 días de tratamiento obtuvo un porcentaje de 35,6 % para la SDZ y de 27,1 % para el CIP. Por tanto, este mecanismo por sí solo no alcanza objetivos de eliminación tan eficientes como otros mecanismos.

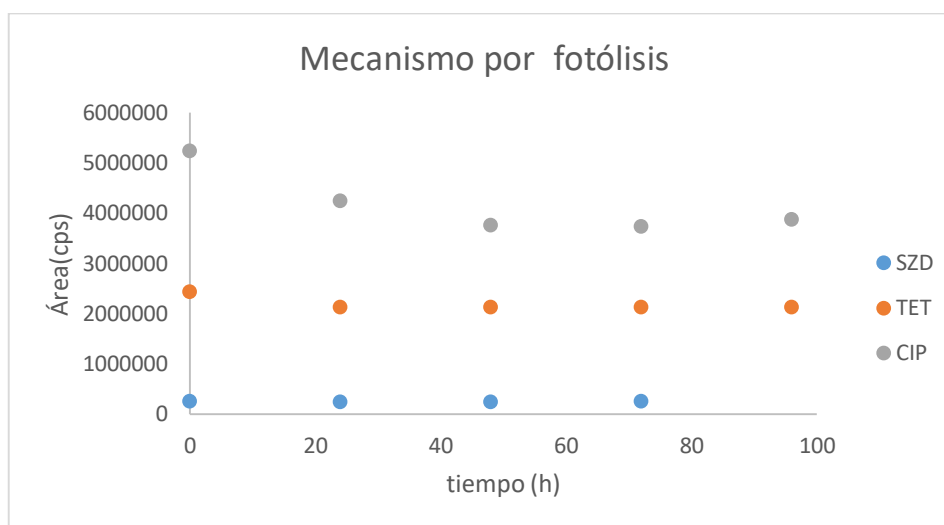


Figura 19. Eliminación de los antibióticos por mecanismo de fotólisis.

En la Figura 20 se muestran los resultados de hidrólisis. Hay una pequeña eliminación del CIP, pero no de la TET ni de la SDZ, por lo que este mecanismo no es significativo en la eliminación de los antibióticos. Los porcentajes de eliminación obtenidos por el mecanismo de hidrólisis durante los 4 días que duran los experimentos son: 2,6 % para la SDZ, 0,6 % para la TET y 6,0 % para la CIP.

Zambrano et al. (2023) realizaron un estudio de degradación durante 96 h y los resultados que se alcanzaron en condiciones de oscuridad fueron: 2,94 % para la SDZ, 1,03 % para la TET y 1,39 % para el CIP. Norvill et al. (2017) indicaron que la hidrólisis no fue significativa para los mecanismos de degradación de la TET. Xie et al. (2020) obtuvo eliminación para la SDZ de 2,4 % y para el CIP de 1,3%. Los resultados experimentales de este trabajo son semejantes a los obtenidos en investigaciones previas.

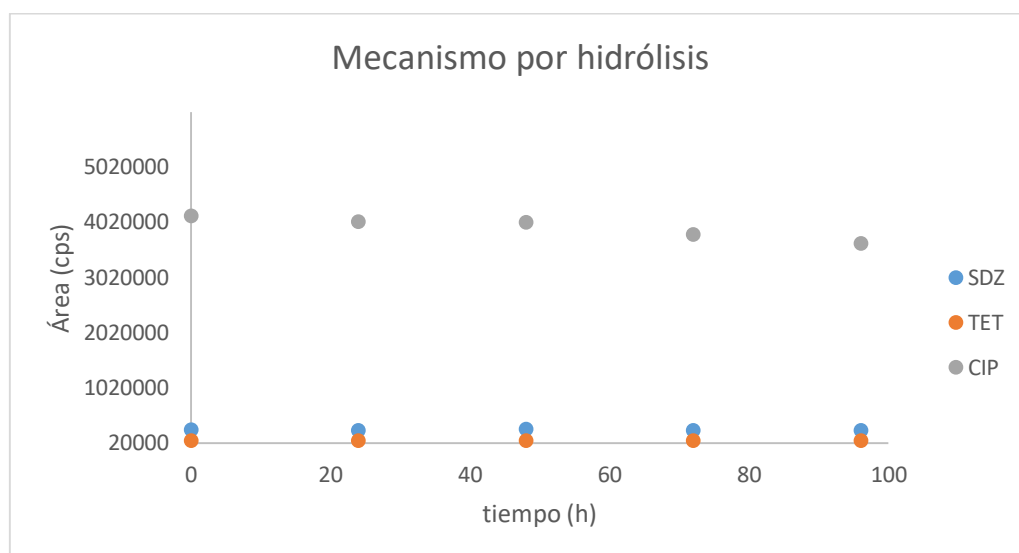


Figura 20. Eliminación de los antibióticos por mecanismo de hidrólisis.

En la Figura 21 se muestran los datos de eliminación de los antibióticos ensayados obtenidos mediante el mecanismo de adsorción. Los porcentajes obtenidos por este mecanismo son: 14 % para la SDZ, 26 % para la TET y 20 % para la CIP. Por lo tanto, podemos concluir que este mecanismo contribuye moderadamente en la eliminación de los antibióticos.

Zambrano et al. (2021) realizaron un estudio de biosorción, con masa liofilizada de un consorcio de microalgas (*Scenedesmus almeriensis*) y bacterias. Los resultados obtenidos para una concentración de 100 µg/L de antibiótico fueron; 26 % para la SDZ, 80 % para la TET, 64 % para el CIP. Norvill et al. (2017) realizaron un estudio para la TET observaron una eliminación del 70 % para la TET a una concentración de 1 mg/L después de 14 h. Xie et al. (2020) estudiaron la eliminación de la SDZ y el CIP a una concentración de 10 g/L con microalgas *Chlamydomonas sp* y los resultados después de 9 días fueron: 0,5 % y 5,5 % respectivamente. Se observa que, la naturaleza del adsorbente juega un papel importante. Los resultados tan diferentes entre los ensayos realizados y los de Zambrano et.al (2021) se debe a la temperatura. La temperatura puede afectar a la cinética de adsorción y a la capacidad de adsorción debido a cambios en la energía de activación de las interacciones entre contaminante y adsorbente.

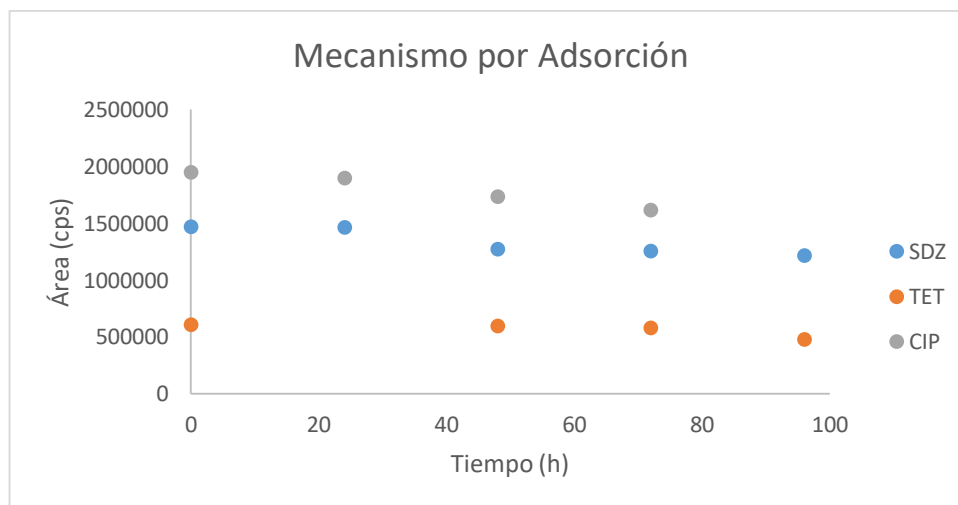


Figura 21. Eliminación de los antibióticos por mecanismo de adsorción.



Si a los porcentajes de eliminación obtenidos en el tratamiento biológico global para cada antibiótico (considerando todos los mecanismos implicados) le restamos los porcentajes obtenidos en los mecanismos de fotólisis, hidrólisis y adsorción, se obtiene el porcentaje correspondiente al mecanismo de biodegradación. Se puede destacar que el mecanismo de biodegradación, teniendo en cuenta que estuvo recibiendo luz durante 24 h al día en vez de 12 h de luz y 12 h de oscuridad, es el que más contribuye a la eliminación biológica de antibióticos, con un porcentaje del 67 % para la SDZ, 57 % para la TET y 32 % para el CIP. Esto es debido a que las microalgas tienen un papel importante en la descomposición de antibióticos a productos más simples.

5.2 Relación de los posibles compuestos de degradación.

Cuando los antibióticos se han eliminado del agua por los diferentes tratamientos, una parte de ellos se degrada, resultando en la formación de metabolitos. Estos metabolitos pueden ser diferentes en estructura y comportamiento del compuesto original. Por lo tanto, deben identificarse y cuantificarse, si es posible, porque podrían presentar incluso mayor toxicidad que los compuestos progenitores

Las muestras obtenidas experimentalmente han sido sometidas a un análisis para poder identificar los productos de degradación. Para ello, se ha realizado una búsqueda bibliográfica con el fin de encontrar los productos que se pueden obtener al someter a la SDZ, la TET y el CIP a los tratamientos mencionados anteriormente. En la Tabla 20 se detalla la relación de posibles metabolitos que se han investigado para introducirlos en la base de datos del equipo analítico.

Tabla 20. Relación de posibles metabolitos sometidos a búsqueda. (Fang et al., 2023; Gandamalla et al., 2021; Gutiérrez et al., 2023; Honarmand et al., 2022; Hunge et al., 2023; Li et al., 2023; Liu et al., 2023; Namrata et al., 2023; Wang et al., 2022; Yang et al., 2021; Xialong et al., 2022; Zhao et al., 2023; Zheng et al., 2023; Castanheira et al., 2023; Li et al., 2022; Xiang et al., 2021; Zhao et al., 2023) .

<u>Compuesto</u>	<u>m/z</u>
Antibiótico: SDZ	
C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₃ S	267,06
C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₄ S	283,05
C ₆ H ₇ NO ₄ S	190,02
C ₁₀ H ₉ N ₂ O ₂ S	236,05
C ₁₀ H ₉ N ₃ O ₃ S	252,04
C ₆ H ₇ NO ₃ S	172,9
C ₄ H ₇ N ₃	96,0
C ₄ H ₄ N ₂ O ₂	112,5
C ₁₀ H ₁₀ N ₃ O ₇ S	318,2
C ₈ H ₇ N ₃ O ₆ S	274,3
C ₈ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	231,1
C ₆ H ₇ NO ₆ S	222,2
C ₄ H ₅ N ₃ O ₃	110,8

Tabla 20. Relación de posibles metabolitos sometidos a búsqueda. (Fang et al., 2023; Gandamalla et al., 2021; Gutiérrez et al., 2023; Honarmand et al., 2022; Hunge et al., 2023; Li et al., 2023; Liu et al., 2023; Namrata et al., 2023; Wang et al., 2022; Yang et al., 2021; Xialong et al., 2022; Zhao et al., 2023; Zheng et al., 2023; Castanheira et al., 2023; Li et al., 2022; Xiang et al., 2021; Zhao et al., 2023) . (Cont)

$C_{10}H_8N_4O_4S$	281,4
$C_8H_8N_4O_8S$	320,6
$C_8H_6N_2O_4$	194,7
$C_{10}H_{10}N_4$	187,09
$C_{10}H_{11}N_4O_2$	219
C_6H_7N	94,13
$C_4H_5N_3O_3S$	175,6
$C_{10}H_{10}N_3O_6S$	301,6
$C_{10}H_7N_4O_4S$	280,2
$C_6H_6NO_3S$	174,0
$C_6H_6O_4S$	175,0
$C_6H_6O_3S$	159,1
$C_7H_{10}N_2O_2S$	187,4
$C_6H_{10}N_4O_2S$	215,2
$C_4H_5N_3O_3S$	176,2
$C_6H_7NO_3$	108,0
$C_7H_{10}N_2O_2S$	187,01
$C_6H_5NO_2S$	156,0
Antibiótico: TET	
$C_{21}H_{23}NO_6$	400,0
$C_{15}H_{17}O_4$	263,0
$C_8H_6O_2$	135,0
$C_{22}H_{28}N_2O_8$	449,0
$C_{21}H_{22}NO_7$	414,0
$C_{19}H_{19}NO_7$	387,0
$C_{22}H_{28}N_2O_9$	467,0
$C_{20}H_{23}N_2O_9$	437,0
$C_3H_5NO_3$	104,0
$C_{21}H_{21}N_2O_7$	415,0
$C_{20}H_{17}NO_7$	397,0
$C_{18}H_{20}O_7$	360,0
$C_{15}H_{13}O_5$	274,0

Tabla 20. Relación de posibles metabolitos sometidos a búsqueda. (Fang et al., 2023; Gandamalla et al., 2021; Gutiérrez et al., 2023; Honarmand et al., 2022; Hunge et al., 2023; Li et al., 2023; Liu et al., 2023; Namrata et al., 2023; Wang et al., 2022; Yang et al., 2021; Xialong et al., 2022; Zhao et al., 2023; Zheng et al., 2023; Castanheira et al., 2023; Li et al., 2022; Xiang et al., 2021; Zhao et al., 2023) . (Cont)

$C_{14}H_{12}O_3$	288,0
$C_9H_8O_2$	149,0
$C_{16}H_{20}O_7$	338,0
$C_{18}H_{15}O_7$	334,0
$C_{17}H_{16}O_6$	318,0
$C_{17}H_{13}O_5$	301,0
$C_{14}H_{16}O_5$	282,0
$C_{13}H_{10}O_5$	249,0
$C_{22}H_{25}N_2O_9$	445,0
$C_{20}H_{19}N_2O_9$	434,0
$C_{19}H_{18}NO_8$	390,0
$C_{19}H_{19}NO_7$	374,0
$C_{11}H_{14}O_4$	209,0
$C_{20}H_{20}N_2O_7$	417,0
$C_{20}H_{19}NO_8$	402,0
$C_{19}H_{18}O_7$	359,0
$C_{20}H_{24}N_2O_{12}$	525,0
$C_{20}H_{18}NO_{14}$	496,0
$C_{19}H_{14}O_{13}$	451,0
$C_{21}H_{23}N_2O_9$	459,0
$C_{21}H_{23}N_4O_8$	431,0
$C_{20}H_{21}N_2O_8$	417,0
$C_{20}H_{16}NO_8$	427,0
$C_{20}H_{17}NO_7$	410,0
Antibiótico: CIP	
$C_{16}H_{18}FN_3O_2$	304,0
$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	319,0
$C_{17}H_{16}FN_3O_5$	362,0
$C_9H_{11}FN_2O_3$	263,0
$C_{11}H_{11}FN_2O_3$	278,0
$C_{12}H_{19}FN_3O_3$	303,0
$C_{13}H_{16}FN_3O_4$	334,0



Tabla 20. Relación de posibles metabolitos sometidos a búsqueda. (Fang et al., 2023; Gandamalla et al., 2021; Gutiérrez et al., 2023; Honarmand et al., 2022; Hunge et al., 2023; Li et al., 2023; Liu et al., 2023; Namrata et al., 2023; Wang et al., 2022; Yang et al., 2021; Xialong et al., 2022; Zhao et al., 2023; Zheng et al., 2023; Castanheira et al., 2023; Li et al., 2022; Xiang et al., 2021; Zhao et al., 2023) . (Cont)

$C_7H_6FNO_2$	156,0
C_6H_6FN	112,0
$C_{16}H_{17}N_3O_3$	314,0
$C_{16}H_{17}N_3O_3$	284,0
$C_{14}H_{16}N_3O_3$	274,0
$C_{17}H_{19}N_3O_4$	330,0
$C_{15}H_{14}FN_3O_3$	306,0
$C_{13}H_{11}FN_2O_3$	262,0
$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	288,0
$C_{11}H_{11}FN_2O_5$	270,0
$C_{11}H_{11}FN_2O_4$	291,0

5.3. Identificación de los productos

Teniendo en cuenta el método de trabajo explicado anteriormente para la identificación de productos y comparando las masas exactas de los compuestos obtenidas en el Q-TOF con las masas de los compuestos buscados bibliográficamente (que se encuentran en la Tabla 20), se obtienen los productos de degradación de este trabajo cuyas características se muestran en la Tabla 21. En el Anexo se encuentran los cromatogramas de los antibióticos y de los metabolitos obtenidos.

La SDZ ($C_{10}H_{10}N_4O_2S$) es identificada con una $m/z=251,06$ en un tiempo de retención de 7,36 min. En el tratamiento de fotocatalisis se obtienen cuatro productos (P1, P2, P3 y P4), todos los productos nombrados en esta sección se encuentran en la Tabla 21, y en el tratamiento biológico, uno (P5). No se obtienen productos de degradación por los mecanismos de fotólisis, hidrólisis y adsorción. El P1 y el P2 aparecen transcurridos 1 hora de reacción, y la intensidad de la señal aumenta con el tiempo, con lo cual a medida que transcurre la reacción aumenta la concentración de estos productos. Con el P3 ocurre a la inversa, la intensidad disminuye, con lo cual hay menos concentración de producto con el paso del tiempo. El P4 aparece transcurrido una hora de reacción, y el P5 aparece al tercer día de reacción.

Los productos de degradación de la SDZ obtenidos experimentalmente en este trabajo también se han contrastado con estudios previos. Fang et al. (2023) obtuvieron los productos: P1, P2 y P5 en la eliminación de SDZ por plasma de descarga de barrera dieléctrica. Zheng et al. (2023), mediante un proceso químico de oxidación de persulfato, obtuvieron los metabolitos P1, P3 y P4. Xiang et al. (2021), mediante un tratamiento de fotocatalisis con TiO_2 , obtuvieron P1, P2, P3 y P4. Castanheira et al. (2023) obtuvieron el metabolito P4 en un proceso de fotodegradación apoyada con sensibilizadores orgánicos.

La TET ($C_{22}H_{24}N_2O_8$) es identificada con una $m/z=445,16$ en un tiempo de retención de 9,27 min. Todos los productos mencionados y sus características se encuentran en la Tabla 21. Con el tratamiento de fotocatalisis se obtiene el producto de degradación P10 que aparece antes de la primera hora de reacción. Además, este metabolito aparece también en el tratamiento biológico de la TET y, específicamente, en los mecanismos de fotólisis e hidrólisis, antes del primer día de reacción. El producto de degradación P11 se aparece por el mecanismo de hidrólisis, transcurrido el primer día de reacción. Adicionalmente, el compuesto de transformación P12 se forma en el tratamiento de fotocatalisis antes de la primera hora de reacción. El mecanismo de adsorción de este antibiótico no dio lugar a ningún metabolito.

Los productos de degradación de la TET obtenidos en este estudio han sido comparados con los obtenidos en estudios previos. Zhao et al. (2023) obtuvieron el P10 mediante un proceso de eliminación de la TET por oxidación con ozono y persulfato. Yang et al. (2021) obtuvieron el P11 y P12 utilizando un proceso de Photo-Fenton con fotocatalizadores de Ce_4O_7/Bi_4Mo_9 .

El CIP ($C_{17}H_{18}FN_3O_3$) es identificado con una $m/z=332,1394$ a un tiempo de retención de 9,29. Todos los productos de degradación del CIP encontrados, y sus características, se encuentran recogidos en la Tabla 21. En el tratamiento de fotocatálisis heterogénea con TiO_2 se obtienen los metabolitos P20 y P21, que aparecen antes de dos horas de reacción, y el P22 que aparece antes de la primera hora de reacción. En el tratamiento biológico se obtienen los intermedios P20 y P23, a los 3 días de reacción. Y específicamente, por el mecanismo de fotólisis se obtienen los metabolitos P20, P22 y P24, que aparecen antes del primer día de reacción; por el mecanismo de hidrólisis se obtiene el P21; mientras que por el mecanismo de adsorción de este antibiótico no se detecta ningún metabolito.

También en estudios previos se han identificado los productos de degradación del CIP obtenidos experimentalmente en este trabajo. Gutiérrez et al. (2023) obtuvieron los compuestos intermedios P22 y P23 mediante oxidación avanzada. Hunge et al. (2023) obtuvieron los compuestos P21 y P24 en la degradación fotocatalítica de aguas residuales usando como catalizador ZnO . Honarmand et al. (2022) obtuvieron los intermedios de degradación P20 y P23 mediante fotodegradación de desechos de cebada y camarones con luz solar y bio-nanocompuestos de Ni/NiO . Como en el caso de la SDZ y la TET, para el CIP tampoco se ha obtenido ningún producto de degradación por el mecanismo de adsorción. Este resultado es indicativo de que el antibiótico se une físicamente a la superficie de la biomasa liofilizada, no produciéndose posteriores reacciones químicas en la superficie. Es decir, el antibiótico no es sometido a reacciones químicas que pueden provocar su degradación durante el mecanismo de adsorción.

Tabla 21. Productos de degradación obtenidos y sus características.

	m/z buscada	Composición elemental buscada	RT (min)	Ion	m/z Q-TOF	Composición elemental Q-TOF	Tratamiento/ Mecanismo
Antibiótico: SDZ (C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S)							
	251,06	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S (SDZ)	7,36	[M+H] ⁺	251,06	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	Fotocatálisis Biológico Adsorción
P1	267,06	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₃ S	5,83	[M+H] ⁺	267,054	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₃ S	Fotocatálisis
P2	283,05	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₄ S	8,3	[M+H] ⁺	283,05	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₄ S	Fotocatálisis
P3	281,4	C ₁₀ H ₈ N ₄ O ₄ S	8,29	[M+H] ⁺	281,41	C ₁₀ H ₈ N ₄ O ₄ S	Fotocatálisis
P4	252,04	C ₁₀ H ₉ N ₃ O ₃ S	8,26	[M+H] ⁺	252,044	C ₁₀ H ₉ N ₃ O ₃ S	Fotocatálisis
P5	187,09	C ₁₀ H ₁₀ N ₄	12,1	[M+H] ⁺	187,09	C ₁₀ H ₁₀ N ₄	Biológico

Antibiótico: TET ($C_{22}H_{24}N_2O_8$)

	445	$C_{22}H_{24}N_2O_8$ (TET)	9,27	[M+H] ⁺	445,16	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	Fotocatálisis Biológico Fotólisis Hidrólisis Adsorción
P10	135	$C_8H_6O_2$	9,26	[M+H] ⁺	135,0441	$C_8H_6O_2$	Fotocatálisis Biológico Fotólisis Hidrólisis
P11	390	$C_{19}H_{18}NO_8$	13,27	[M+H] ⁺	389,111	$C_{19}H_{18}NO_8$	Hidrólisis
P12	374	$C_{19}H_{19}NO_7$	10,33	[M+H] ⁺	372,1072	$C_{19}H_{19}NO_7$	Fotocatálisis

Antibiótico: CIP ($C_{17}H_{18}FN_3O_3$)

	332	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$ (CIP)	9,29	[M+H] ⁺	332,1394	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	Fotocatálisis Biológico Fotólisis Hidrólisis Adsorción
P20	262	$C_{13}H_{11}FN_2O_3$	10,59	[M+H] ⁺	263,0824	$C_{13}H_{11}FN_2O_3$	Fotocatálisis Biológico Fotólisis
P21	362	$C_{17}H_{16}FN_3O_5$	8,415	[M+H] ⁺	362,114	$C_{17}H_{16}FN_3O_5$	Fotocatálisis
P22	319	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	8,973	[M+H] ⁺	320,1403	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	Fotocatálisis Fotólisis
P23	274	$C_{14}H_{16}N_3O_3$	11,079	[M+H] ⁺	275,1254	$C_{14}H_{16}N_3O_3$	Biológico Hidrólisis
P24	330	$C_{17}H_{19}N_3O_4$	9,135	[M+H] ⁺	330,1415	$C_{17}H_{19}N_3O_4$	Fotólisis

5.4 Posibles rutas de degradación

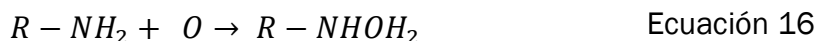
En esta sección se proponen posibles vías de degradación de los tres antibióticos investigados, teniendo en cuenta los productos de degradación identificados en el apartado previo, y recogidos en la Tabla 21.

La SDZ sometida a los tratamientos descritos anteriormente da lugar a 5 productos de degradación. En la Figura 22 se proponen las vías de degradación que darían lugar a estos 5 compuestos. Mediante una reacción de hidroxilación de la SDZ se forman dos productos, es decir, se añade un grupo hidroxilo en la posición del grupo amino para formar un producto monohidroxilado (P1), y un producto dihidroxilado (P2).

1. Hidroxilación para generar un producto monohidroxilado



2. Hidroxilación para generar un producto dihidroxilado



Este último metabolito, P2 sufre un proceso de deshidrogenación mediante el cual se elimina los dos tomos de hidrogeno en la posición del grupo amino para formar el P3.

1. Deshidrogenación grupo amino

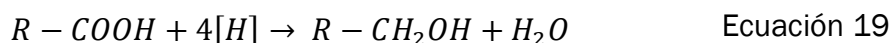


La escisión y oxidación del grupo -CN del anillo del benceno de la SDZ es otra vía de degradación de la SDZ, además se producen reacciones de hidroxilación originando el P4.

1. Oxidación del grupo -CN

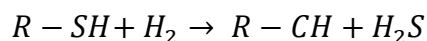


2. Hidroxilación del grupo -COOH



Adicionalmente, la SDZ sufre un proceso de desulfuración, es decir la eliminación de un grupo -SO₂, obteniéndose el intermedio P5.

1. Desulfuración



Ecuación 20

Estudios previos también apoyan las vías de degradación propuestas en este trabajo. Fang et al. (2023) atribuyeron a las reacciones de hidroxilación la formación de los intermedios P1 y P2 mediante un tratamiento de la SDZ con plasma de descarga de barrera dieléctrica, y también concluyeron que se forma P4 mediante la oxidación y rotura del grupo amino del anillo del benceno. Zheng et al. (2023) investigaron las vías de degradación de la SDZ y determinaron que el intermedio P3 se formó mediante reacciones de hidroxilación. Xiang et al. (2021), mediante fotocatalisis con TiO₂, concluyeron que los compuestos P1, P2 y P3 se formaron por reacciones de hidroxilación del grupo amino del anillo bencénico. Así mismo, establecieron que el intermedio P5 se forma por desulfuración, por la adición nucleónica y reordenación del anillo de anilina.

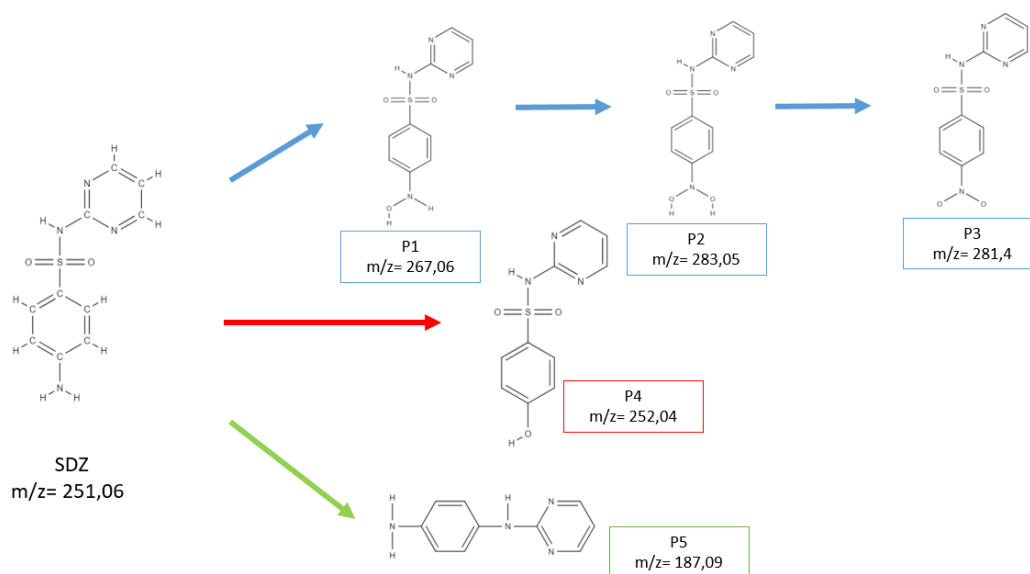
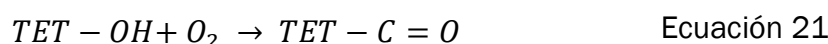


Figura 22. Vías propuestas de degradación de la SDZ.



En la Figura 23 se ilustran las dos vías de degradación de la TET que se proponen, a la vista de los metabolitos identificados en este trabajo. Una de las vías es la oxidación inicial de la TET en la cual los grupos hidroxilos son oxidados a grupos cetonas. Adicionalmente se produce la escisión oxidativa proceso en el cual se rompen los enlaces C-C de los anillos B y C de la TET. Se produce la fragmentación de la TET en compuestos más simples que contienen grupos funcionales como cetonas y aldehídos. Seguidamente, se producen procesos de descaboxilación para eliminar el grupo carboxilo y deshidratación para eliminar moléculas de agua y facilitar la formación de dobles enlaces y anillos aromáticos. Por último, se produce la ciclación para formar un anillo con los fragmentos y la formación del grupo aldehído y cetona en las posiciones adecuadas mediante oxidación originando se el P10.

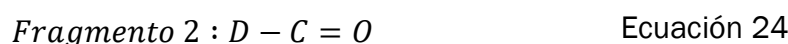
1. Oxidación de la TET



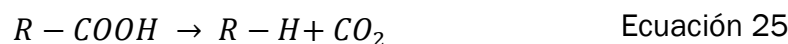
2. Escisión oxidativa



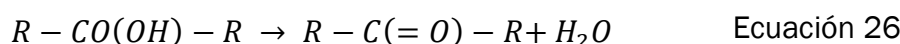
3. Fragmentación de la estructura policíclica



4. Descaboxilación



5. Deshidratación



6. Ciclación

7. Formación del grupo aldehído y cetona

Mediante el proceso de descarboxilación se pierde el grupo cetona (C=O) y también se produce una reacción de desamidación perdiendo el grupo amida del último anillo de la TET. Además, se pierden los dos grupos -CH₃ de la amina terciaria de la molécula de TET formando este producto, P11.

1. Descarboxilación

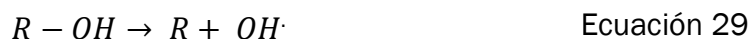


2. Desaminación:



El P12 se forma a partir del producto anterior. Mediante un proceso de deshidroxilación el P11 pierde un grupo (-OH) originando el P12.

1. Proceso de deshidroxilación



Las vías de degradación propuestas en este trabajo para la TET también han sido sugeridas en estudios previos. Así, Zheng et al. (2023) identificaron en un estudio de degradación de la TET el metabolito P10, este se generó a través de un proceso de desacetilación donde el oxígeno atacó la TET inicialmente, formando un producto intermedio que experimentó apertura de anillos y reordenamiento molecular hasta convertirse en P10. Yang et al. (2021) observaron, en un tratamiento Photo-Fenton con catalizadores que se sintetizaron mediante una estrategia de síntesis asistida por sales fundidas para el antibiótico de la TET, que las moléculas de TET podían transformarse en los intermedios P11 y P12 mediante el ataque de especies activas (h⁺, -OH y O₂) el P11 pierde dos grupos metilos(-CH₃) y la aislación del grupo formamida. El P12 se formó por la deshidroxilación del P11.

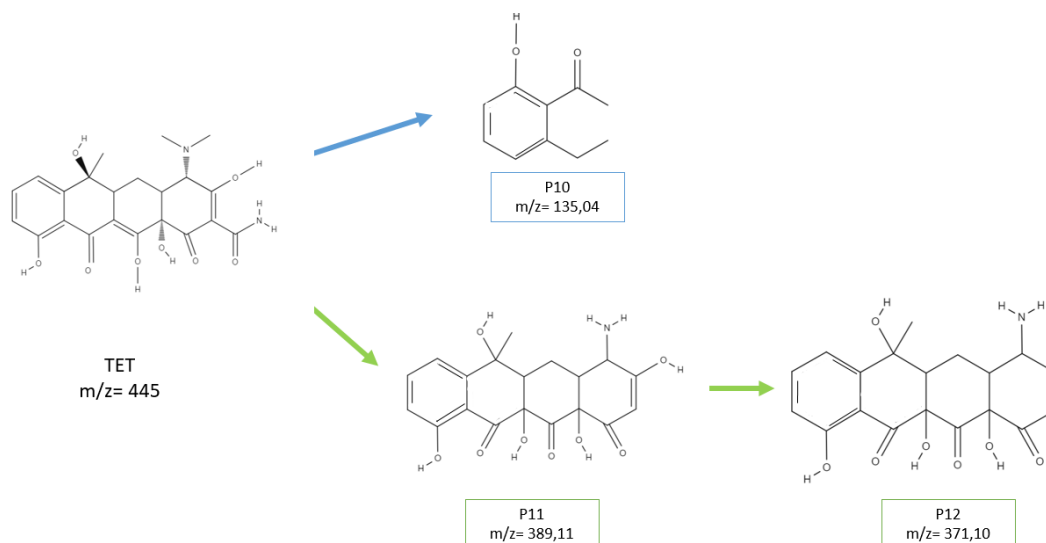


Figura 23. Vías propuestas de degradación de la TET.

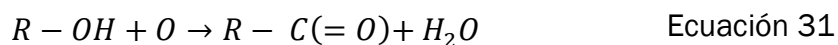
En la Figura 24 se muestran las 4 vías de degradación del CIP que se proponen, en las que aparecen los 5 productos de degradación identificados en este trabajo. En la primera vía, se produce la escisión del anillo de piperazina del CIP y se produce una oxidación escalonada dando lugar al metabolito P21.

1. Desaminación



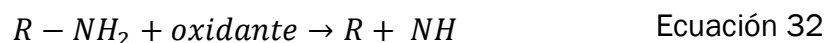
2. Hidroxilación y apertura del anillo

3. Oxidación



El metabolito P21 pierde el nitrógeno secundario y los grupos formaldehídos transformándose en el producto de degradación P20.

1. Pérdida nitrógeno

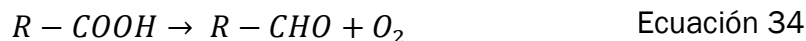


2. Pérdida formaldehídos



Por otro lado, el CIP es sometido a un proceso de descarboxilación e hidroxilación originando el P22.

1. Descarboxilación



2. Hidroxilación

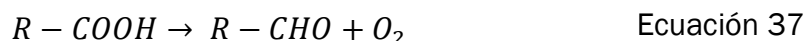


Otra vía de degradación observada puede ser la defluoración del CIP donde se pierde la molécula de flúor. También se produce un proceso de descarboxilación del grupo -COOH. También se produce la escisión del anillo de la piperazina. Finalmente se produce la unión del compuesto CO(NH₂) (NH) denominado carbamoil amina para dar lugar al P23.

1. Defluoración

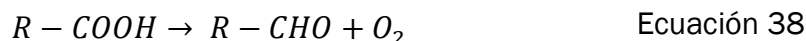


2. Descarboxilación



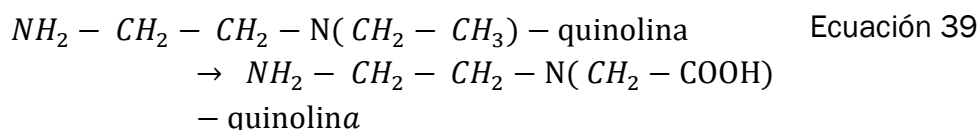
3. Escisión del anillo de la piperazina y unión carbamoilo amina

- Una vez roto el anillo, se tiene el siguiente grupo funcional unido al C-7 de la quinolina: NH₂-CH₂-CH₂-N(CH₂-CH₃)-quinolina

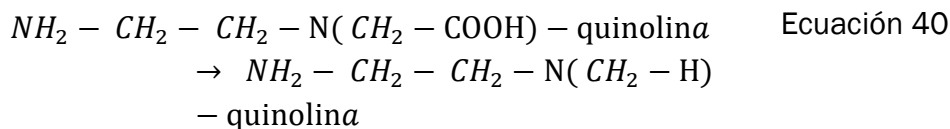


- Ahora tendrá que transformarse ese grupo en NH₂-CH₂-NH-quinolina y finalmente oxidarse a NH₂-CO-NH-quinolina

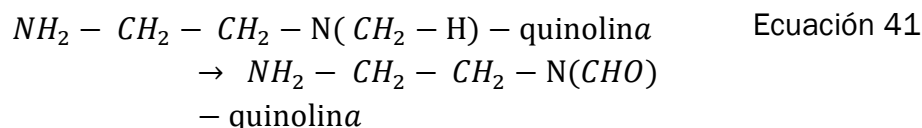
1. Oxidación del grupo etil:



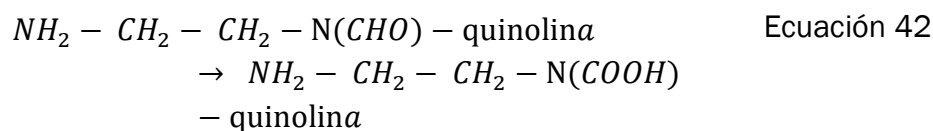
2. Decarboxilación del grupo carboxilo:



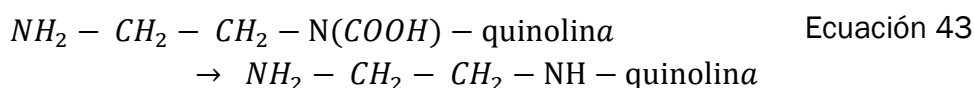
3. Oxidación del grupo terminal -CH₂-H a aldehído:



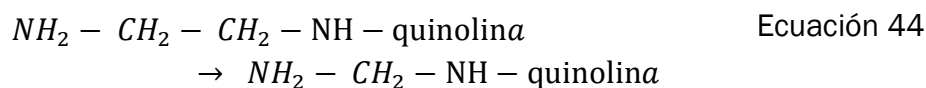
4. Oxidación adicional del aldehído a ácido carboxílico:



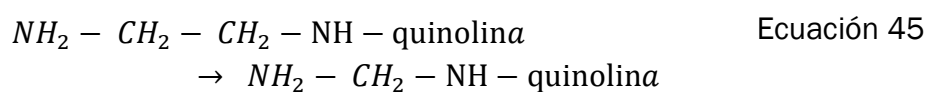
5. Decarboxilación:



6. Escisión de la cadena -CH₂-:

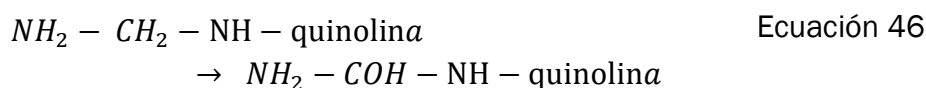


7. Conversión del carboxilo en carbamiloil:

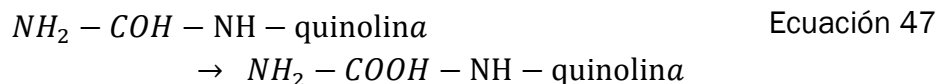


8. Ya solo faltaría pasar de NH₂-CH₂-NH-quinolina a NH₂-CO-NH-quinolina. Una posible ruta de degradación sería:

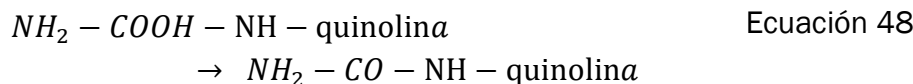
- Oxidación del grupo -CH₂- a -CHO:



- Oxidación del grupo -CHO a -COOH:



- Conversión del carboxilo en carbamoilo:

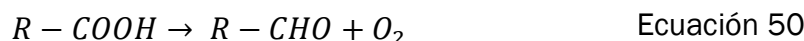


En la última vía observada, el grupo -F del CIP se elimina mediante un proceso de defluoración y posteriormente se produce descarboxilación del grupo carboxilo originando el metabolito P24.

1. Defluoración



2. Descarboxilación



Las vías de degradación propuestas para el CIP en este trabajo son coincidentes con las propuestas en estudios previos. Así, Honarmand et al. (2022) mediante un tratamiento de fotodegradación a partir de desechos de cebada y camarones obtuvieron los productos P21 y P20. En primer lugar, se produjo la rotura del anillo de la piperazina y una escisión oxidativa observándose el P21. Posteriormente, los grupos amida se reducen a amina, y luego se pierde la etilamina obteniendo el P20. Gutiérrez et al. (2023) llevaron a cabo un tratamiento de oxidación catalítica utilizando catalizadores a base de lodos. Por un lado obtuvieron el metabolito P22 mediante la descarboxilación e hidroxilación de la molécula CIP. Por otro lado, obtuvieron los productos P21 por rotura del anillo de la piperazina, y posteriormente, con la pérdida de los grupos formaldehídos y etilamina, se forma el P20.

Hunge et al. (2023) obtuvieron también el metabolito estable P23 después de obtener varios productos intermedios. En primer lugar, el CIP sufre la defluoración, un proceso de descarboxilación y, por último, se produce la escisión del anillo de la piperazina y la formación e unión de la molécula carbamoilo amina transformándose en el metabolito P23. Además, también obtuvieron el metabolito P24 mediante la defluoración del C6 de la quinolina y por la descarboxilación y posterior hidroxilación del C3 de la quinolina.

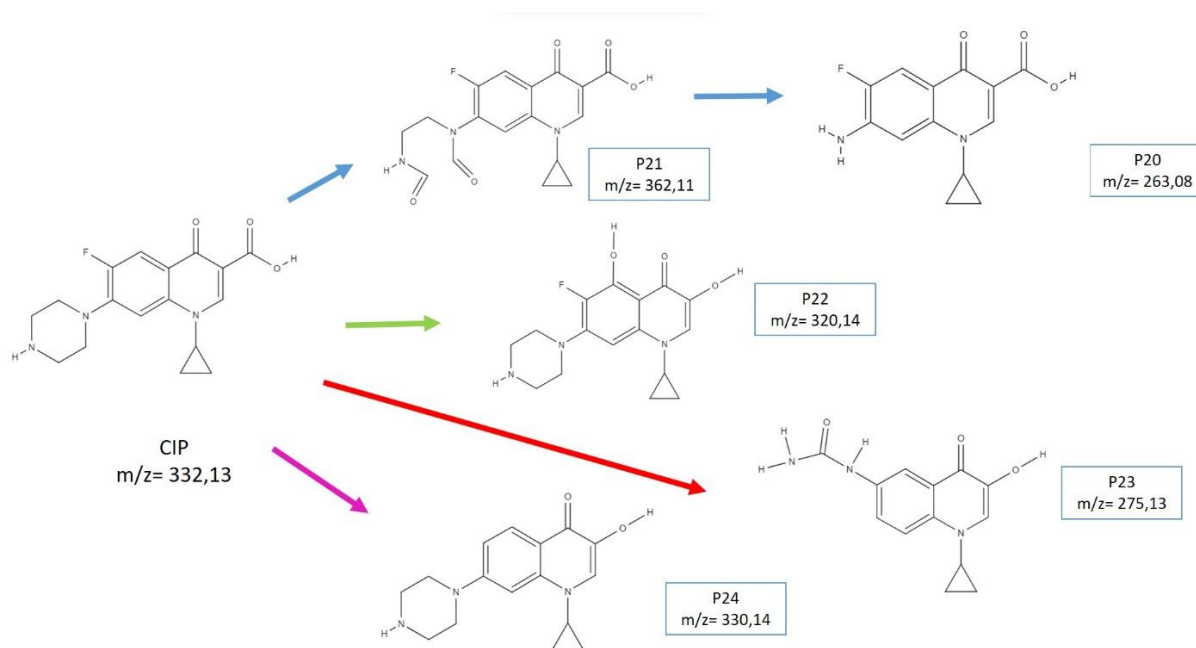


Figura 24. Vías propuestas de degradación del CIP.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

El trabajo experimental llevado a cabo en el laboratorio ha permitido concluir que es posible la degradación de los antibióticos estudiados. La SDZ se degrada por tratamiento biológico con un consorcio de microalgas-bacterias en un 89 % en 5 días, y fotocatalíticamente con TiO_2 en un 25 % en 3 h. Con este último tratamiento para alcanzar un porcentaje del 99 % de eliminación se necesitaría un total de 7 h de experimento. La TET se elimina por los tratamientos de fotocatalisis con un 99 % durante 3 y biológicamente con un 99 % durante 5 días. La CIP se elimina por fotocatalisis un 99 % durante 3 h, y biológicamente, un 67 % durante 5 días.

Las microalgas *Mychonastes homosphaera* y *Chlorella vulgaris* son efectivas para la eliminación de los antibióticos objeto de ensayo, se ha demostrado que la concentración de los antibióticos en presencia de estas microalgas disminuye considerablemente en 96 horas.

El método analítico HPLC-QTOF-MS utilizado en este proyecto resulta ser efectivo, preciso y sensible para la determinación de los antibióticos estudiados a concentraciones del orden de $\mu\text{g/L}$. Con el uso de esta técnica se ha demostrado la eficacia y exactitud del equipo para proporcionar una masa exacta.

Se ha demostrado que los tratamientos de fotocatalisis heterogénea con TiO_2 y biológicos con microalgas y bacterias son efectivos para la degradación de los antibióticos estudiados. Por el contrario, si los antibióticos están sometidos solamente a los mecanismos de fotólisis, hidrólisis, adsorción y biodegradación la eliminación de los antibióticos es baja y lenta. En el tratamiento biológico el mecanismo más efectivo es la biodegradación con un mayor porcentaje de eliminación debido al consorcio de microalgas-bacterias y al estar irradiado por luz durante 24 h, en vez de estar sometido a 12 h de luz y 12 h de oscuridad, dichos porcentajes son 67 % para la SDZ, 57 % para la TET y 32 % para el CIP.

Se han identificado los siguientes metabolitos en los tratamientos fotocatalíticos y biológicos de CIP, SDZ y TET, así como en los mecanismos de hidrólisis, fotólisis, adsorción y biodegradación de estos antibióticos. Los productos obtenidos por la degradación de la SDZ son: $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$, $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$, $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$, $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4$, $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$. Para la TET son: $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2$, $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{NO}_8$ y $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_7$. Por último, para el CIP son: $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}_3$, $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_3$, $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$, $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{FN}_3\text{O}_5$ y $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$. Además, se han propuesto las posibles vías de transformación de los antibióticos estudiados en los metabolitos previamente identificados.

ANEXO. RESULTADOS EXPERIMENTALES

En el anexo se muestra el cromatograma obtenido y el espectro MS de cada muestra que se ha analizado en el HPLC-QTOF-MS. El anexo se encuentra organizado de manera específica, con cada antibiótico dispuesto en orden correspondiente al tratamiento aplicado, seguido de los mecanismos realizados para el tratamiento biológico. Seguidamente después de cada antibiótico, se detallan los productos obtenidos a partir de los tratamientos respectivos.

I. SULFADIACINA Y PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN OBTENIDOS

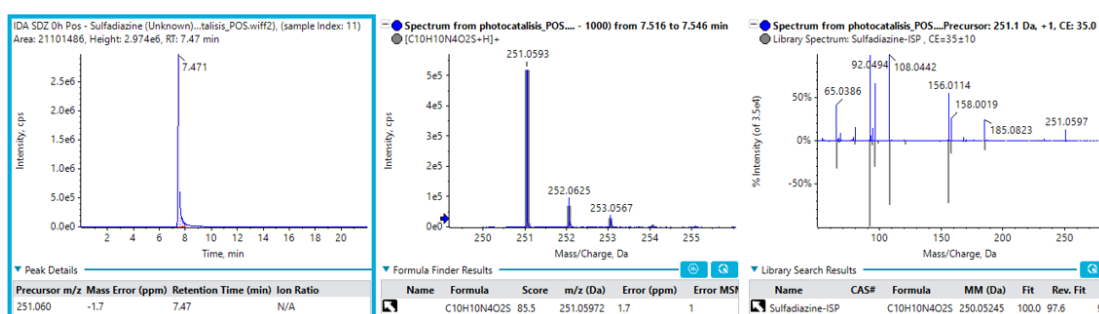


Figura 25. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 0h.

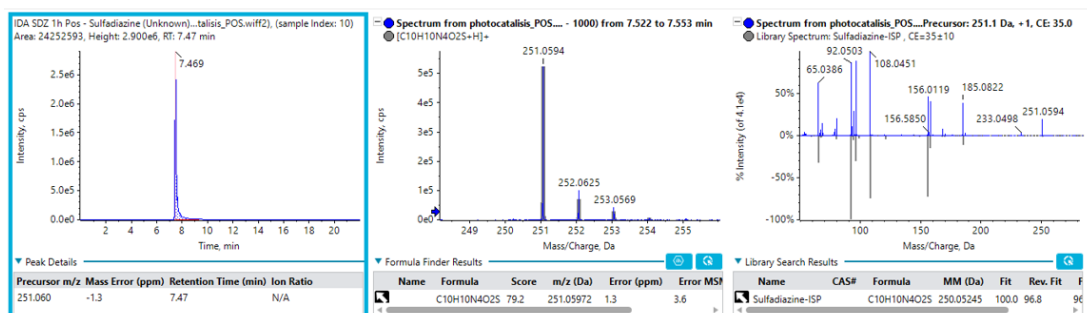


Figura 26. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.

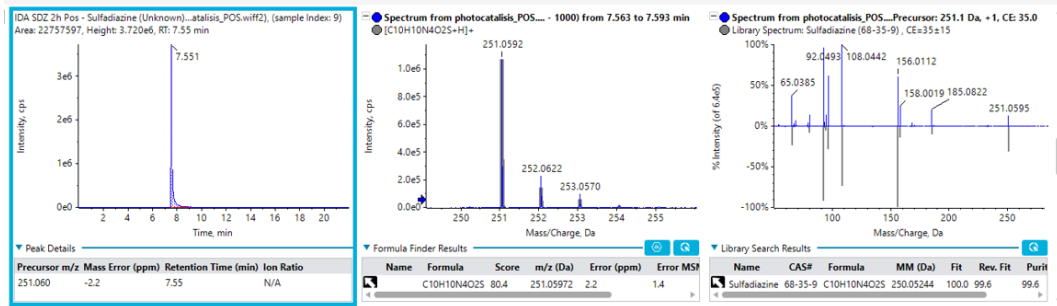


Figura 27. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.

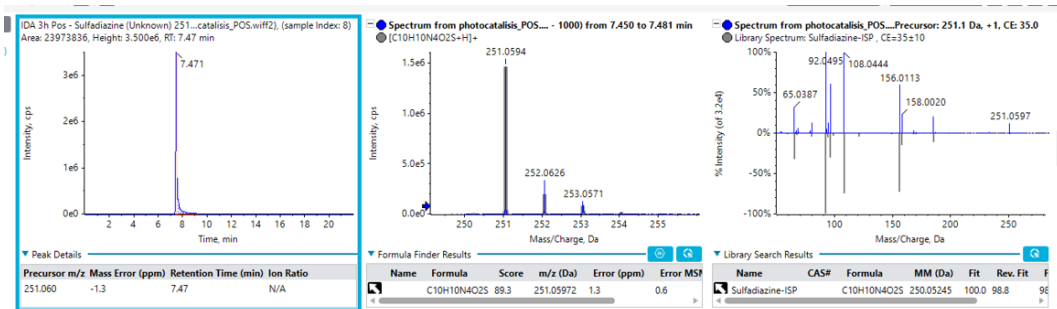


Figura 28. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.

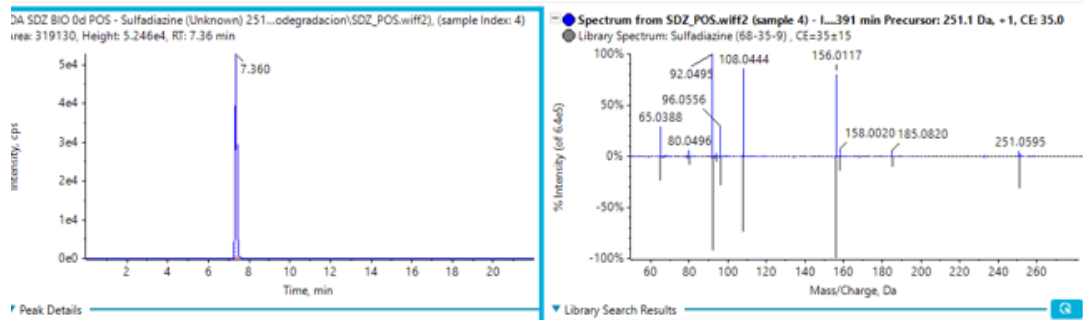


Figura 29. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 0d.

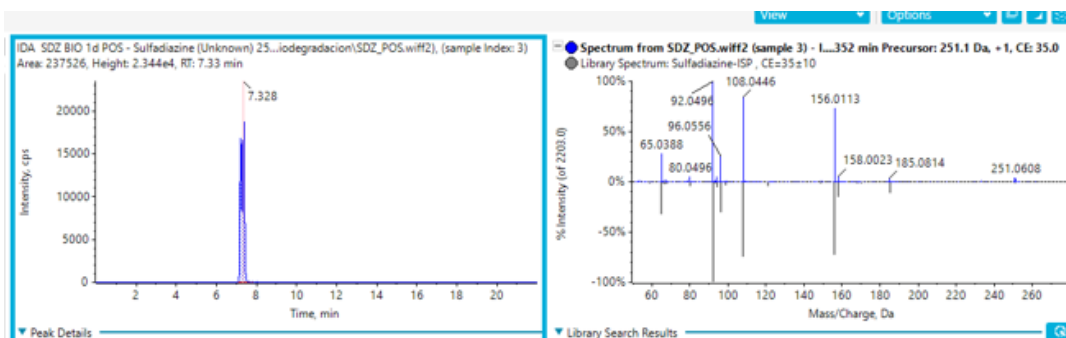


Figura 30. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 2d.

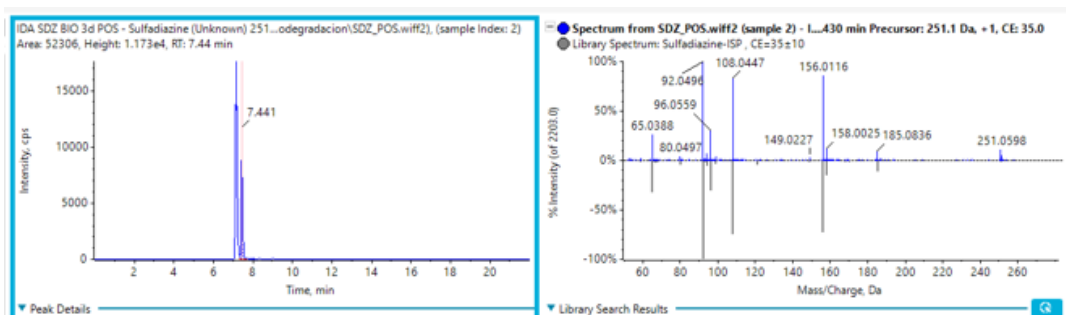


Figura 31. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 3d.

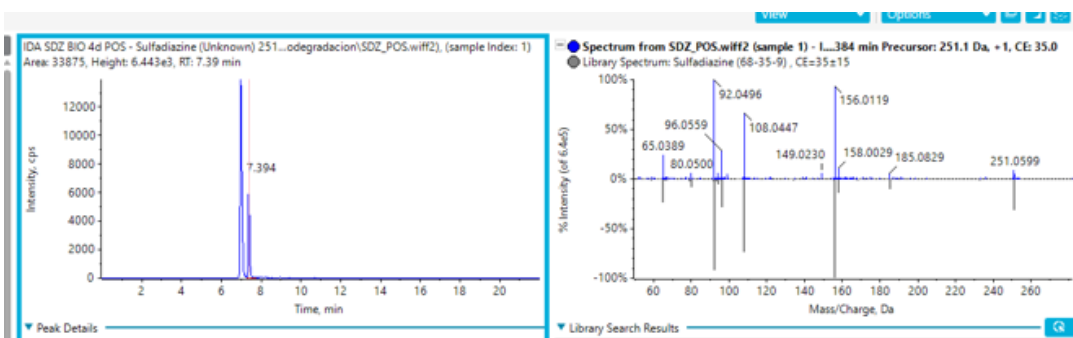


Figura 32. Cromatograma y espectro MS de la SDZ en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 4d.

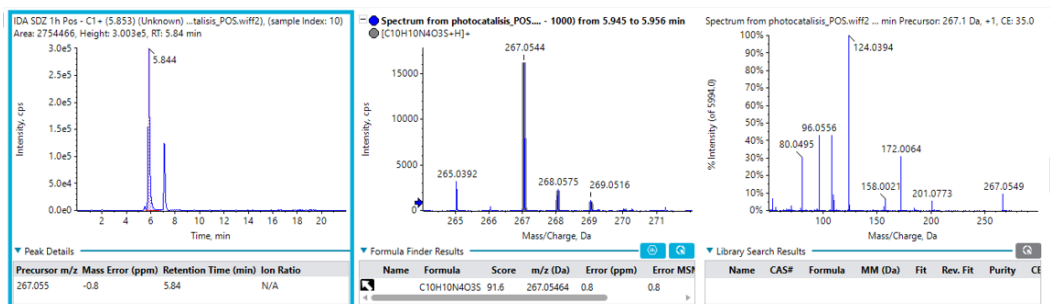


Figura 33. Cromatograma y espectro MS del metabolito P1 del tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.

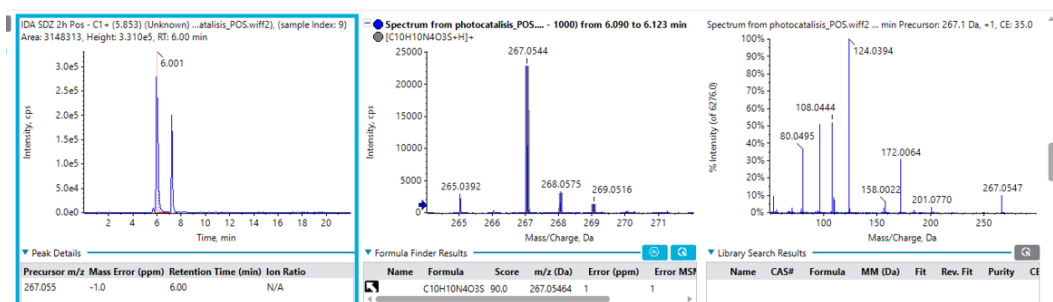


Figura 34. Cromatograma y espectro MS del metabolito P1 del tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.

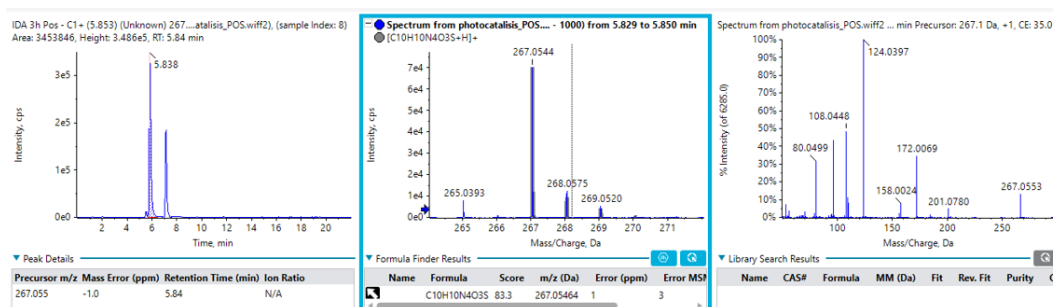


Figura 35. Cromatograma y espectro MS del metabolito P1 del tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.

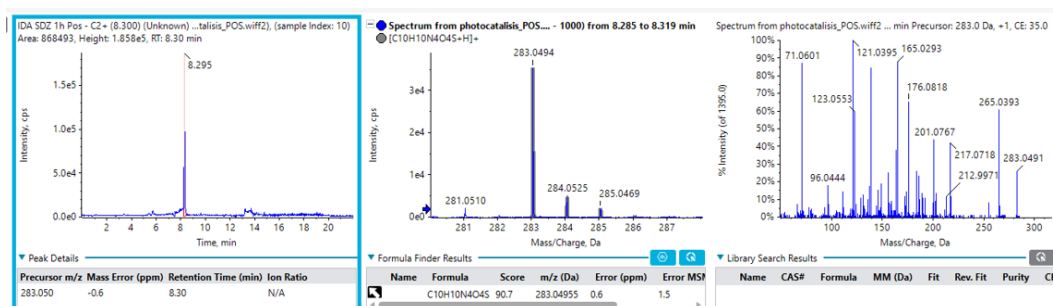


Figura 36. Cromatograma y espectro MS del metabolito del P2 del mecanismo de fotocatalisis a tiempo 1h.

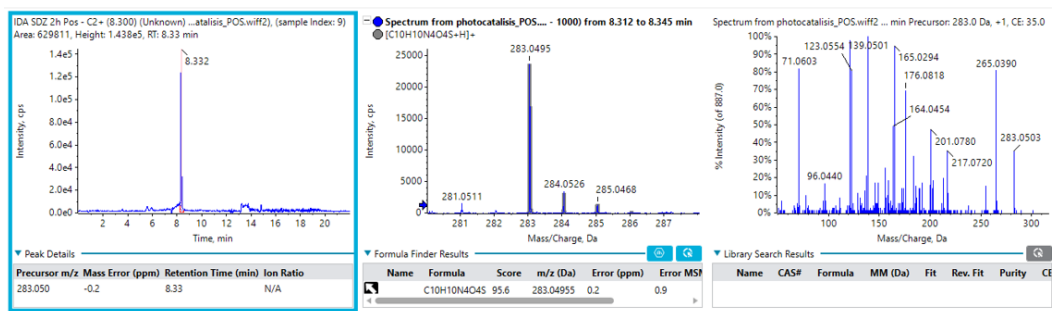


Figura 37. Cromatograma y espectro MS del metabolito P2 del tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.

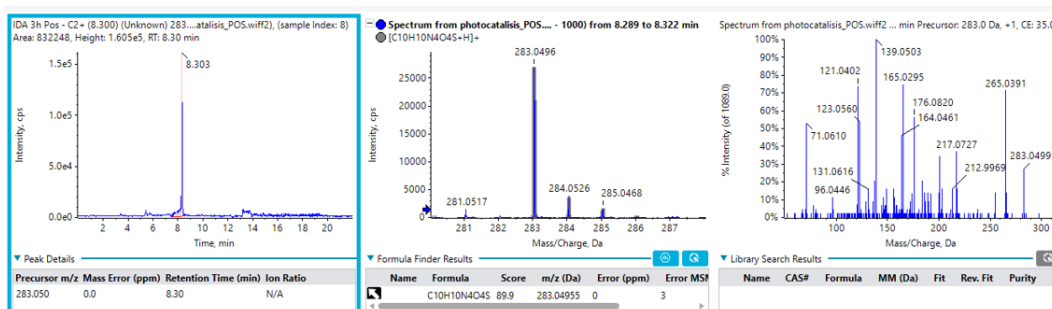


Figura 38. Cromatograma y espectro MS del metabolito P2 del tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.

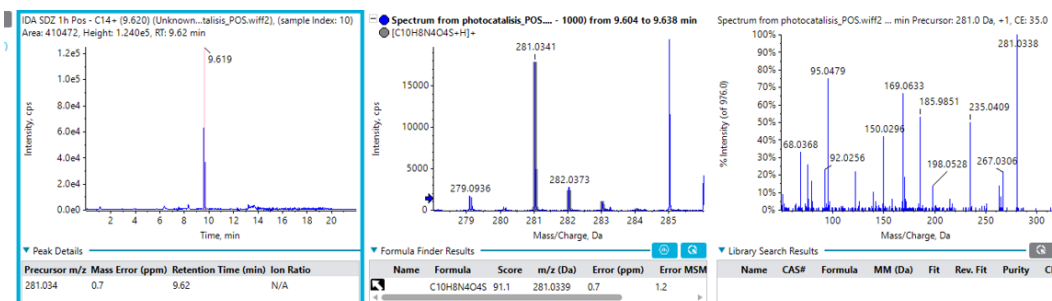


Figura 39. Cromatograma y espectro MS del metabolito P3 del tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.

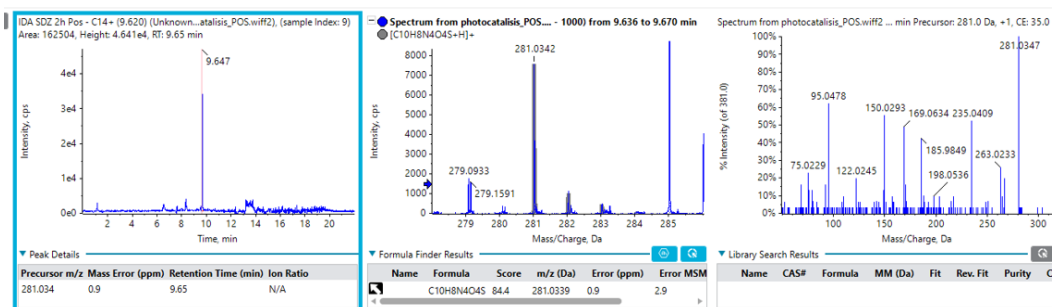


Figura 40. Cromatograma y espectro MS del metabolito del P3 del tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.

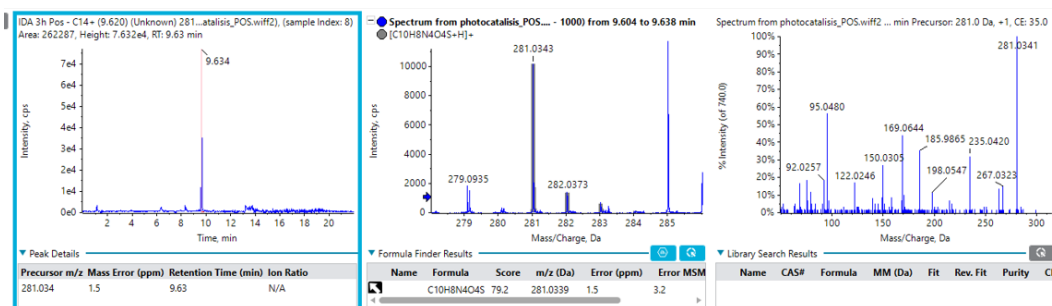


Figura 41. Cromatograma y espectro MS del metabolito P3 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.

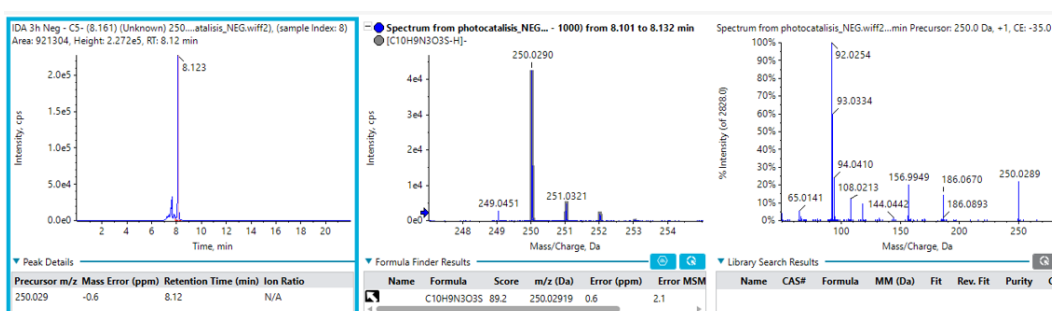


Figura 42. Cromatograma y espectro MS del metabolito P4 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.

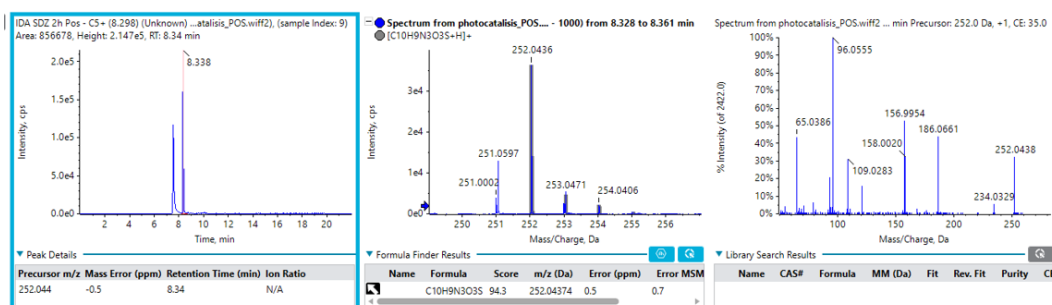


Figura 43. Cromatograma y espectro MS del metabolito P4 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.

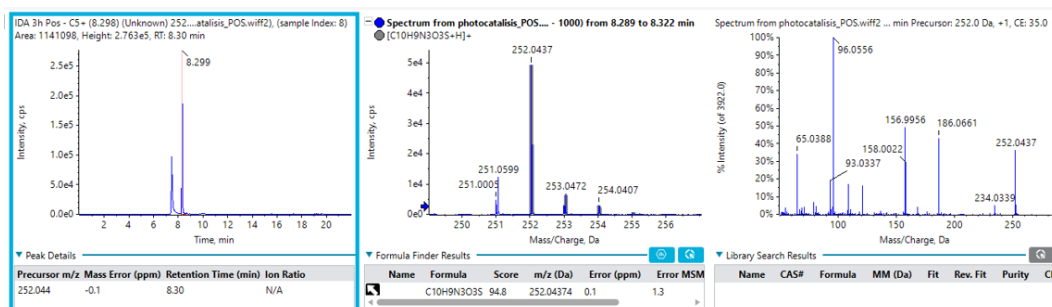


Figura 44. Cromatograma y espectro MS del metabolito P4 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.

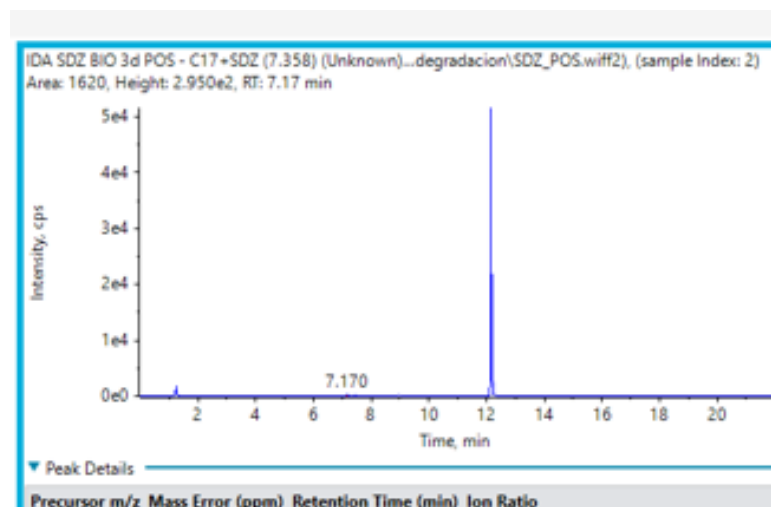


Figura 45. Cromatograma y espectro MS del metabolito P5 tratamiento biológico a tiempo 3d.

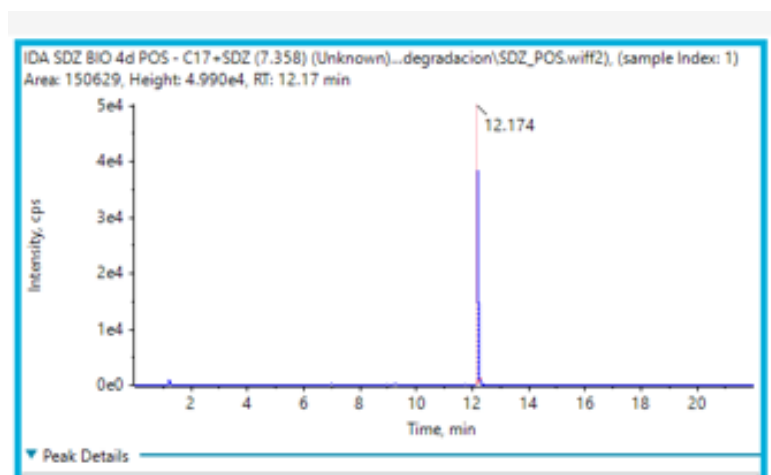


Figura 46. Cromatograma y espectro MS del metabolito P5 tratamiento biológico a tiempo 4d.

II. TETRACICLINA Y PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN OBTENIDOS

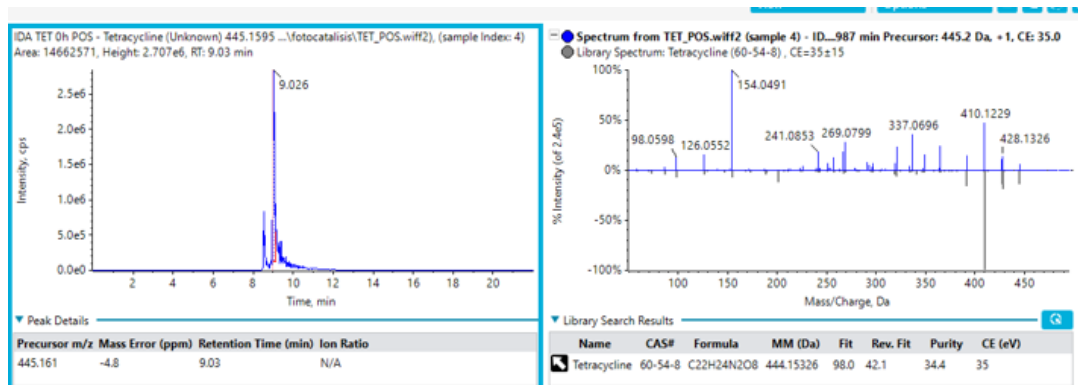


Figura 47. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 0h.

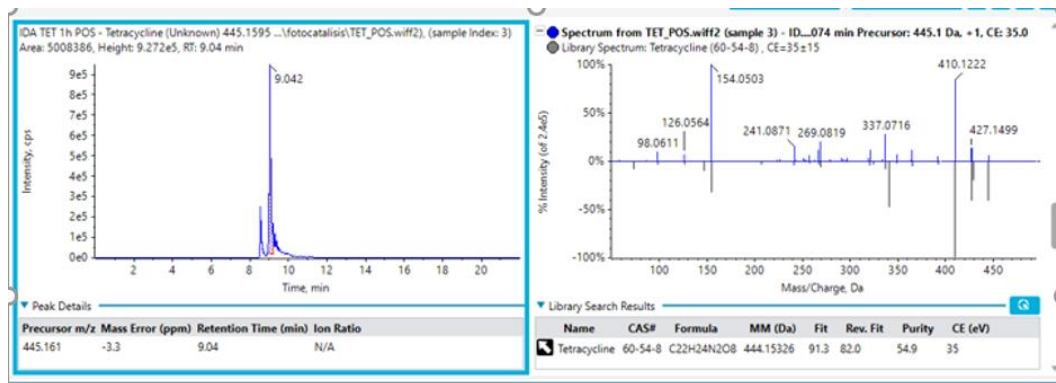


Figura 48. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.

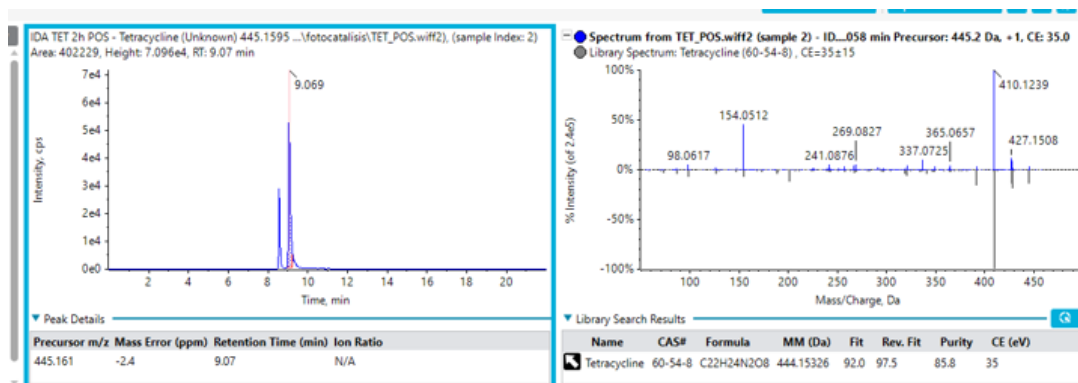


Figura 49. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.

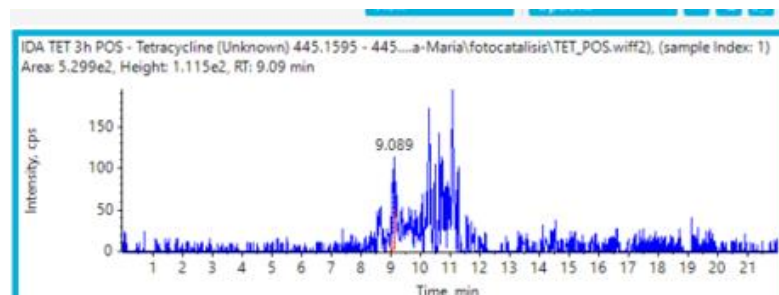


Figura 50. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.

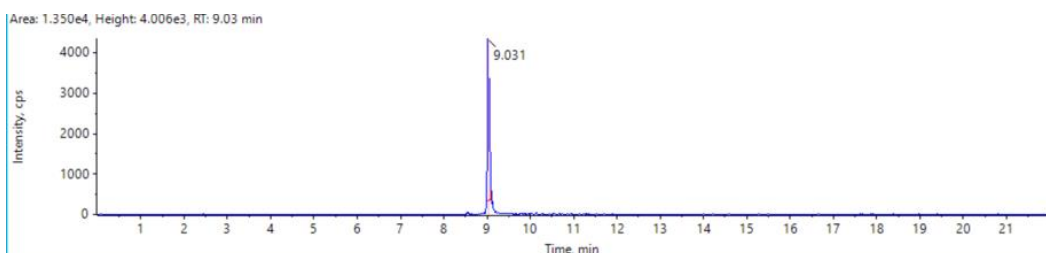


Figura 51. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 0d.

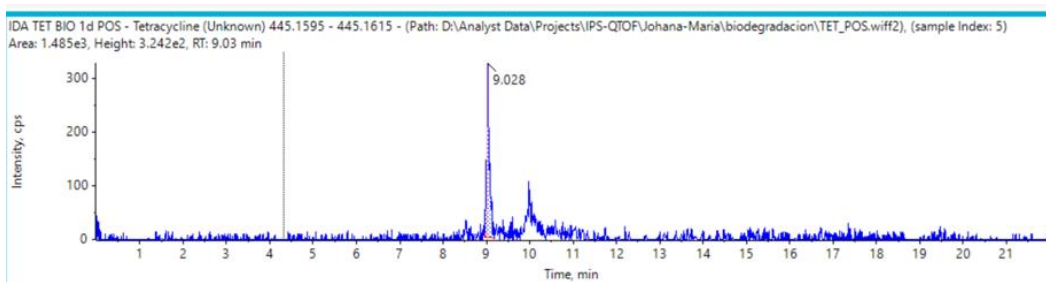


Figura 52. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 1d.

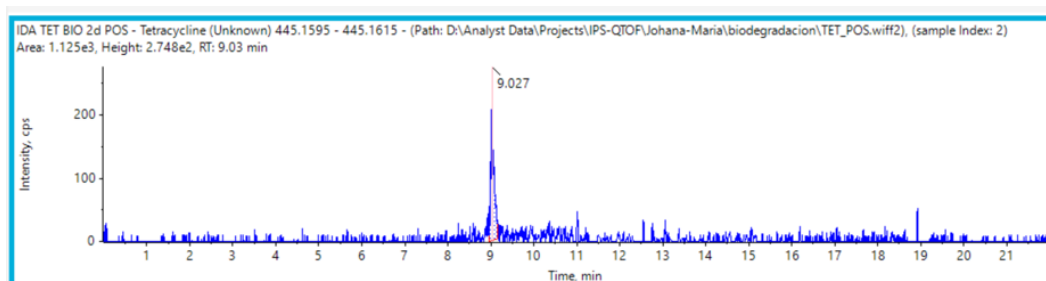


Figura 53. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 2d.

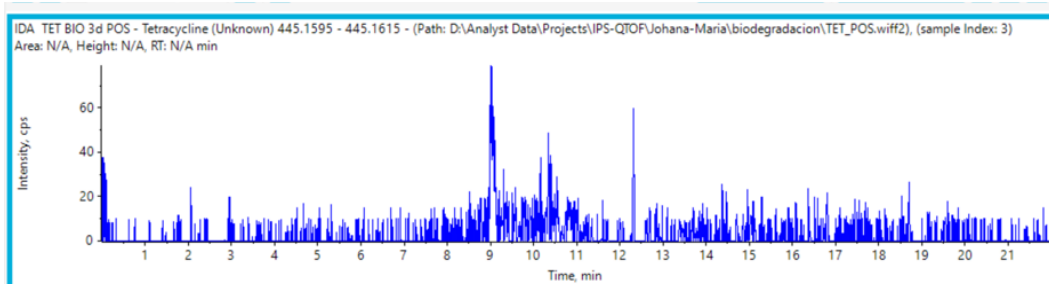


Figura 54. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 3d.

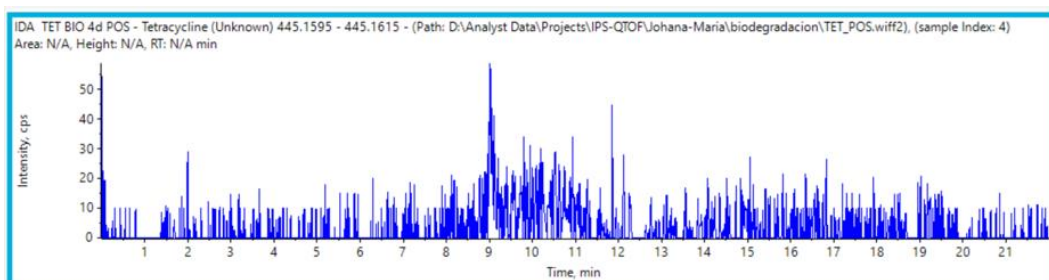


Figura 55. Cromatograma y espectro MS de la TET en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 4d.

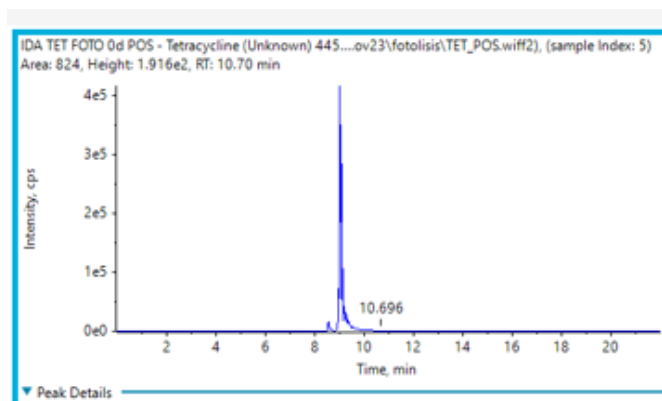


Figura 56. Cromatograma y espectro MS TET mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 0d.

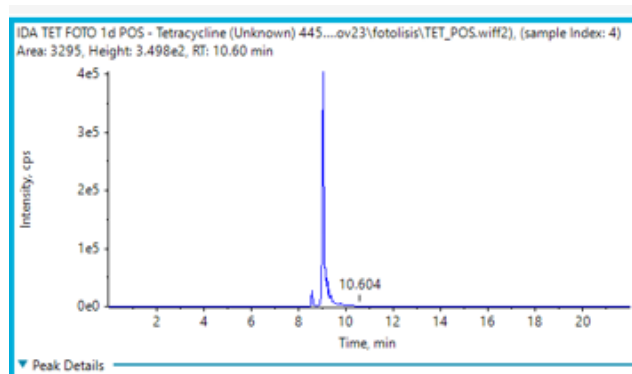


Figura 57. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.

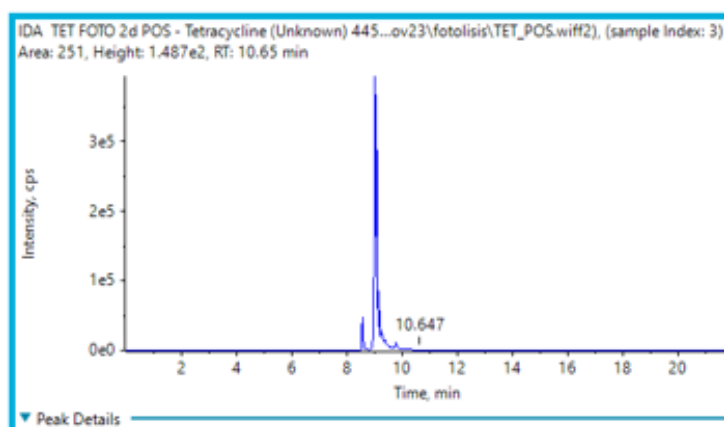


Figura 58. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.

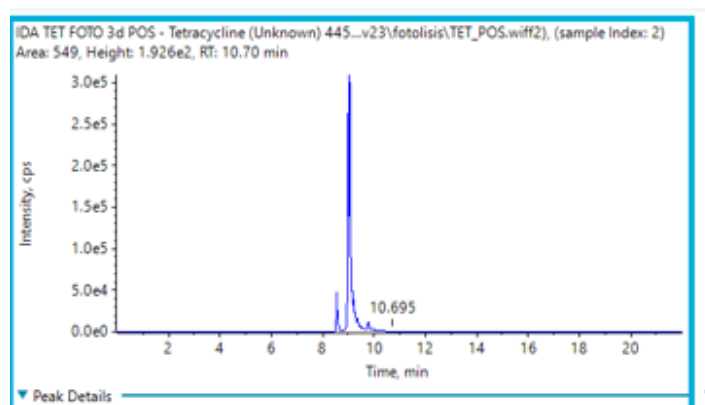


Figura 59. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.

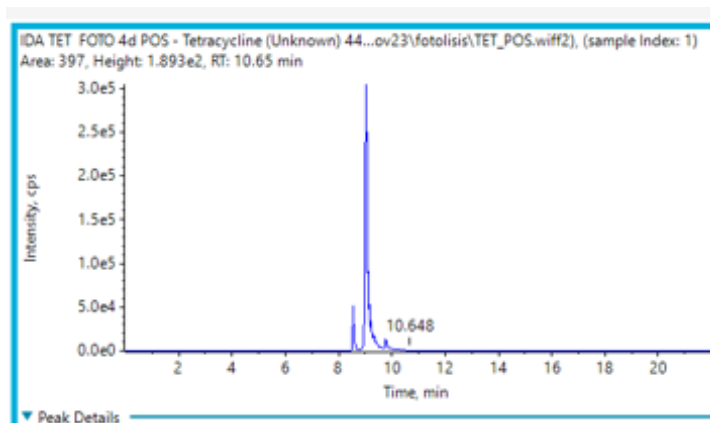


Figura 60. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.

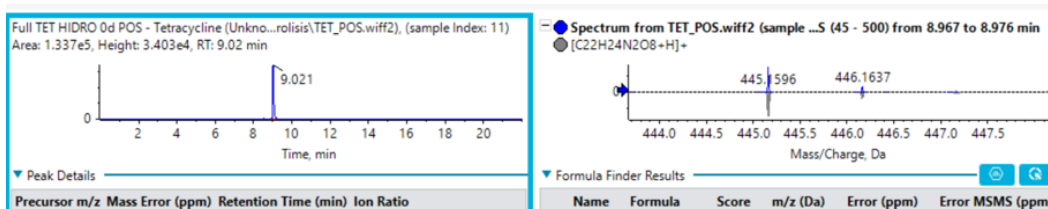


Figura 61. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 0d.

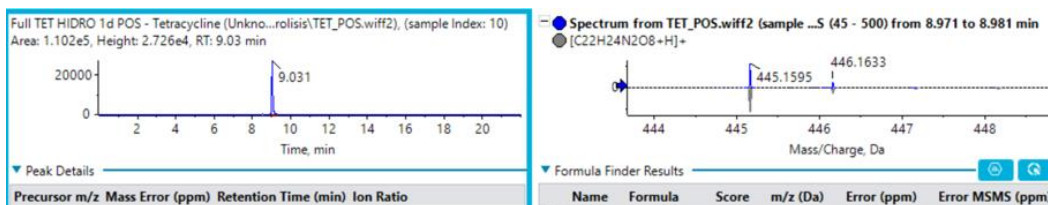


Figura 62. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.

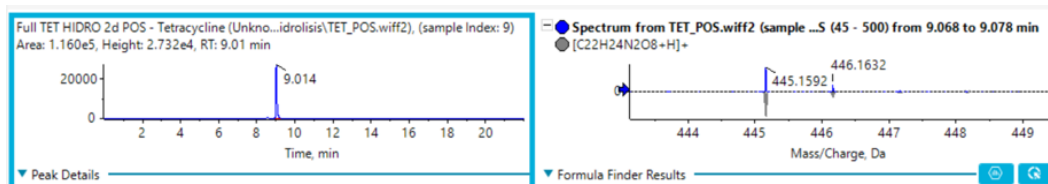


Figura 63. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.

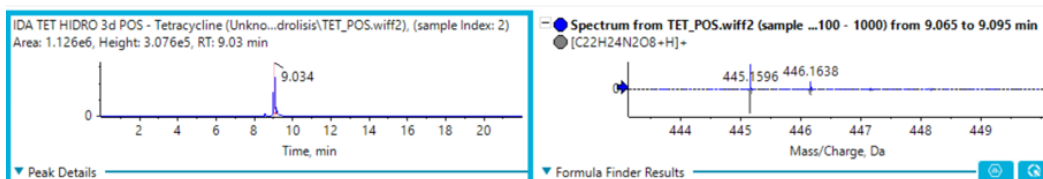


Figura 64. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.

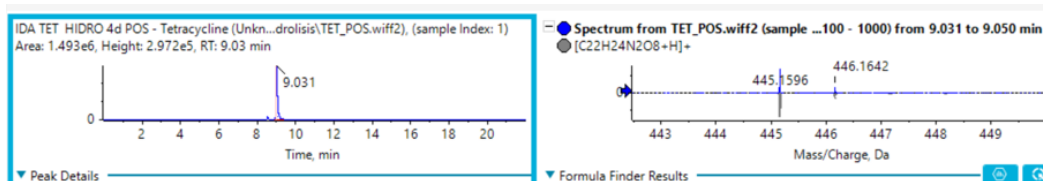


Figura 65. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.

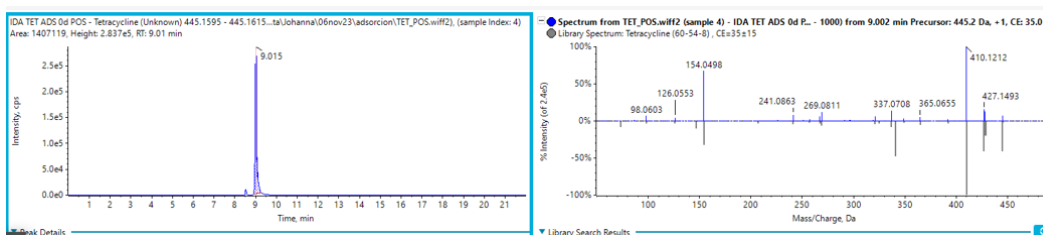


Figura 66. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de adsorción del tratamiento biológico a tiempo 0d.

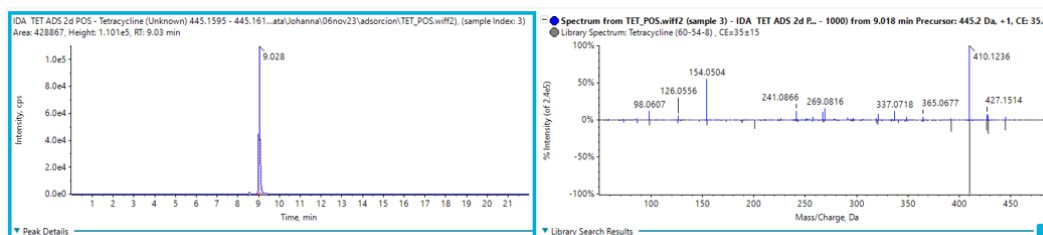


Figura 67. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de adsorción del tratamiento biológico a tiempo 2d.

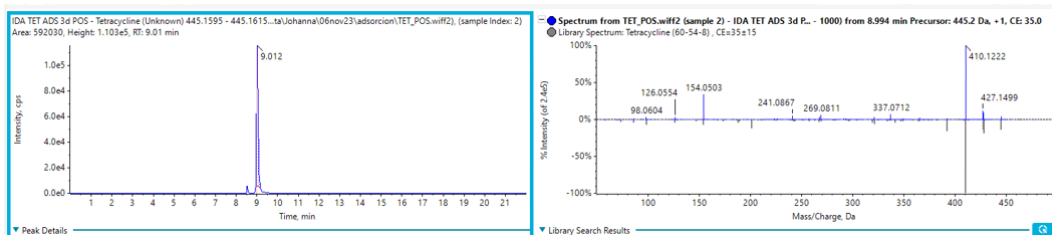


Figura 68. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de adsorción del tratamiento biológico a tiempo 3d.

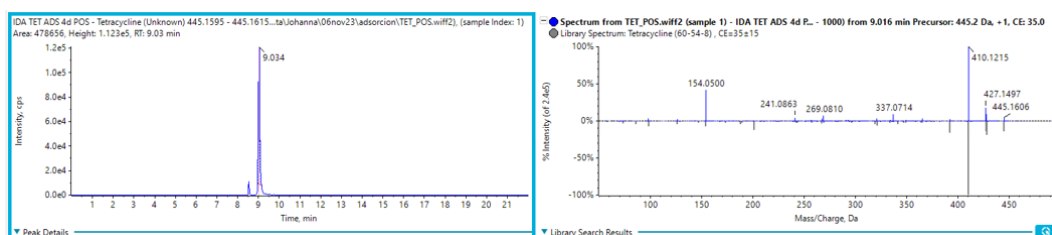


Figura 69. Cromatograma y espectro MS de la TET mecanismo de adsorción del tratamiento biológico a tiempo 4d.

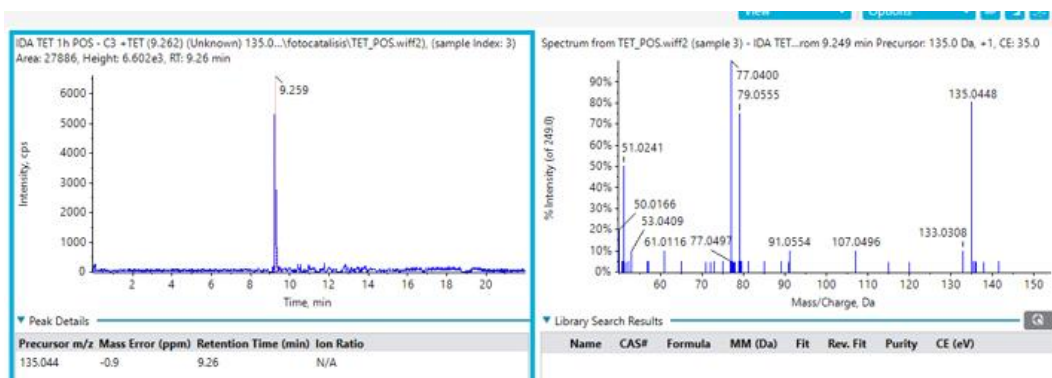


Figura 70. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.

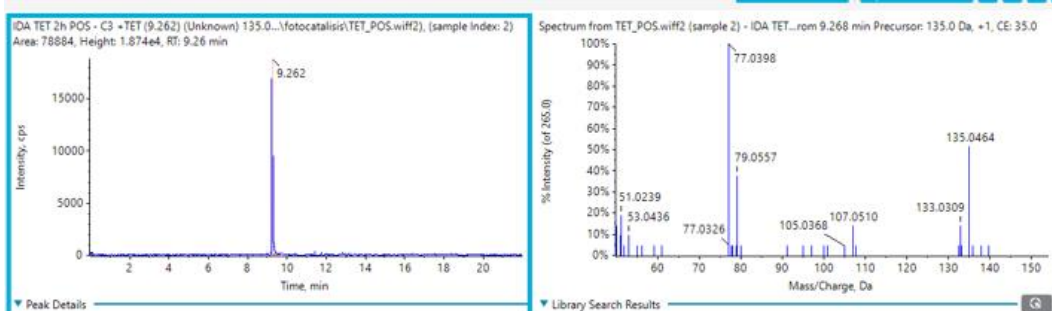


Figura 71. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.

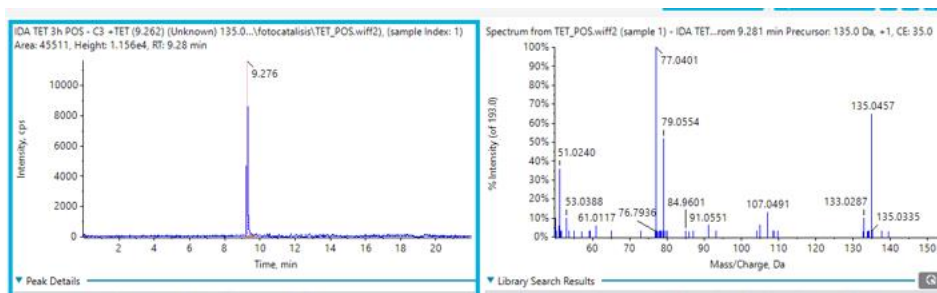


Figura 72. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento de fotocátalisis a tiempo 3h.

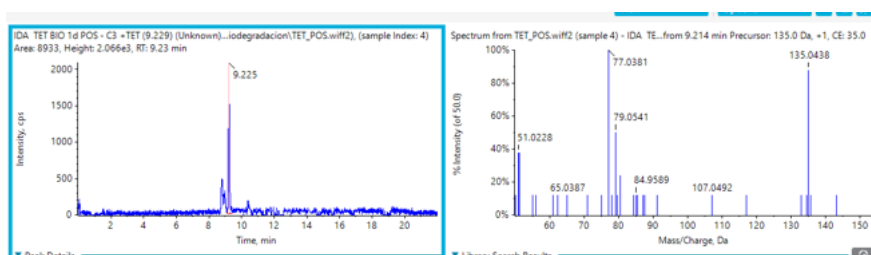


Figura 73. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 1d.

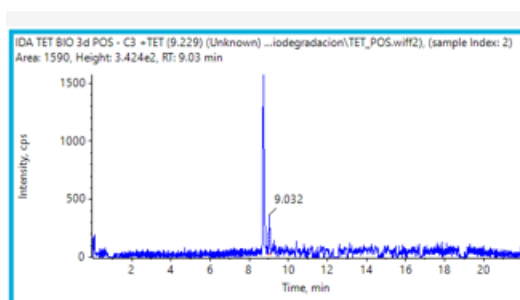


Figura 74. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 3d.

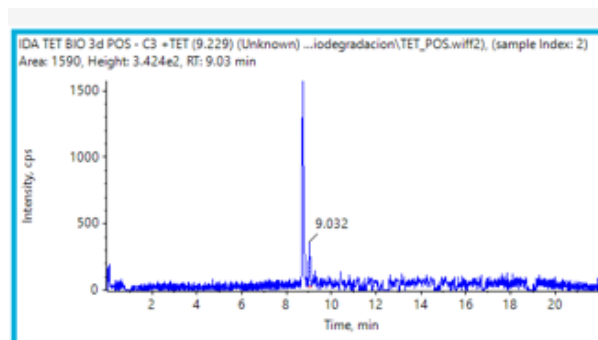


Figura 75. Cromatograma y espectro MS del P10 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 4d.

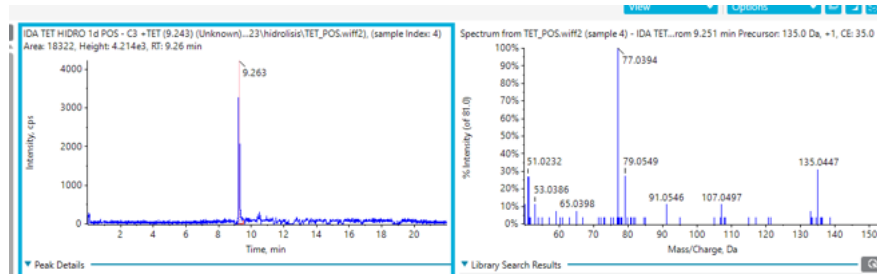


Figura 76. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.

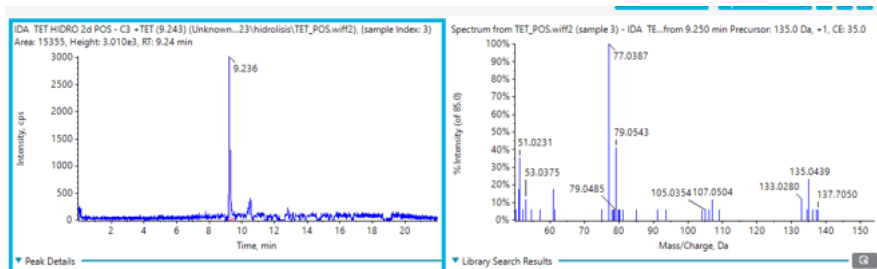


Figura 77. ζ Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.

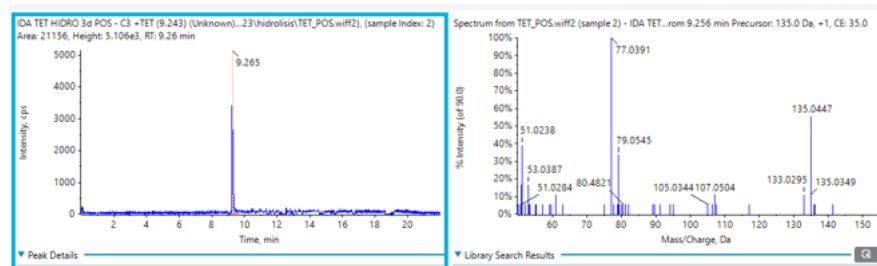


Figura 78. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.

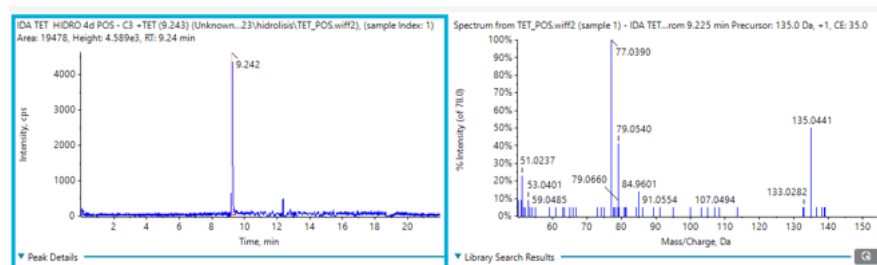


Figura 79. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.

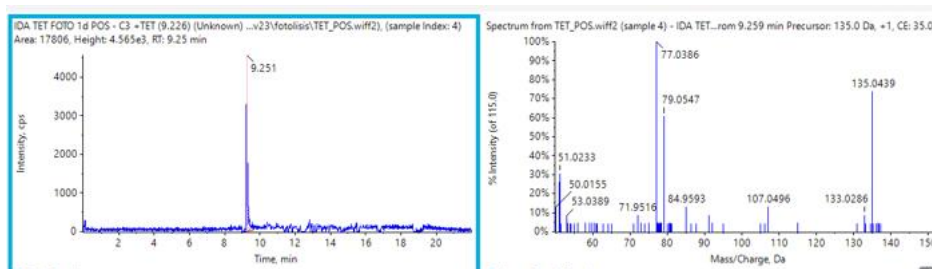


Figura 80. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.

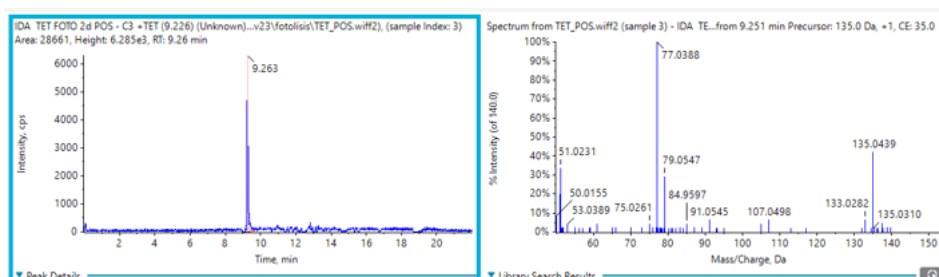


Figura 81. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.

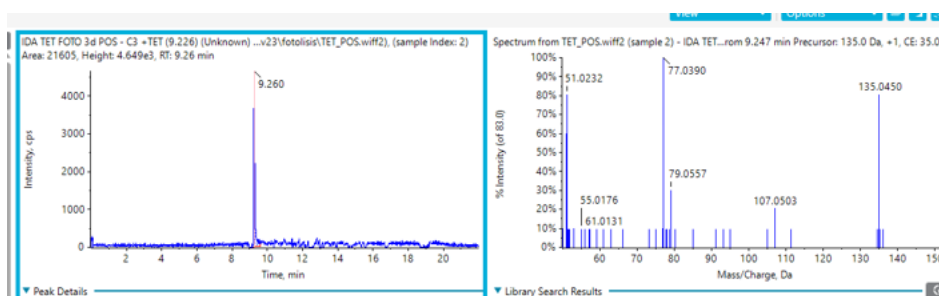


Figura 82. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.

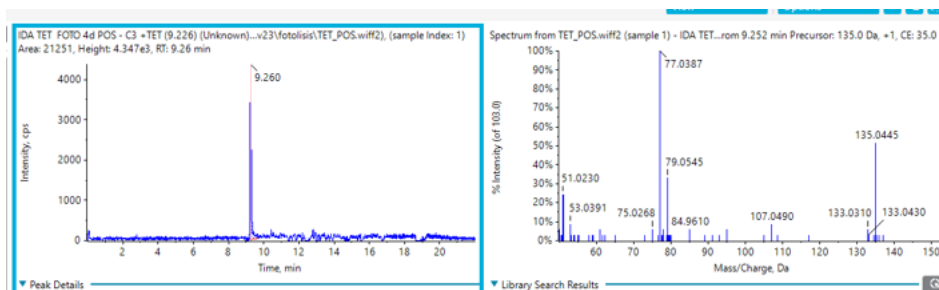


Figura 83. Cromatograma y espectro MS del P10 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.

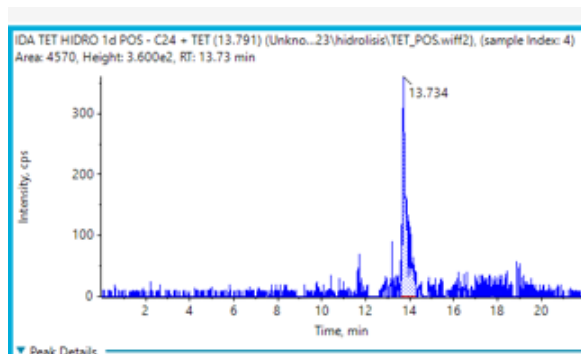


Figura 84. Cromatograma y espectro MS del P11 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.

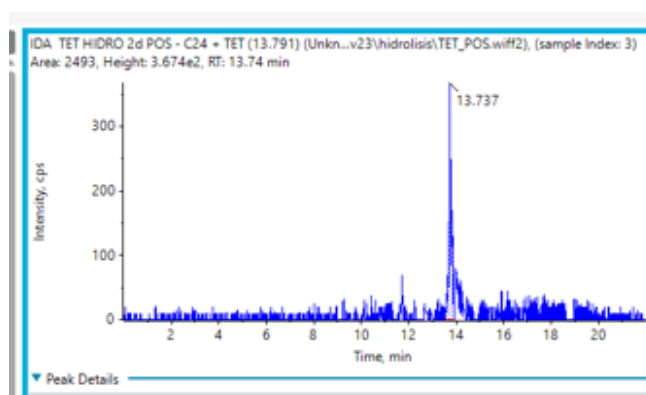


Figura 85. Cromatograma y espectro MS del P11 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.

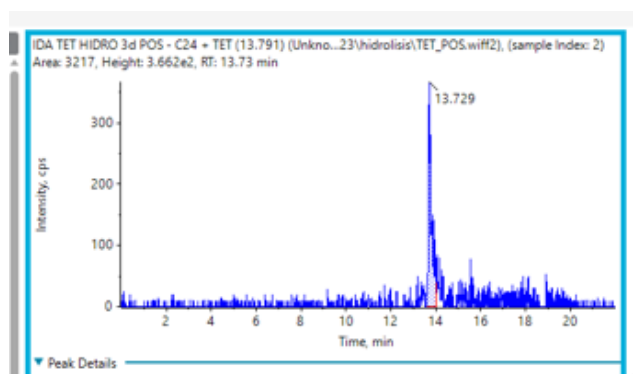


Figura 86. Cromatograma y espectro MS del P11 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.

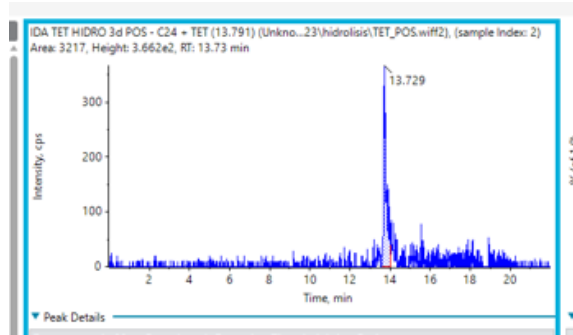


Figura 87. Cromatograma y espectro MS del P11 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.

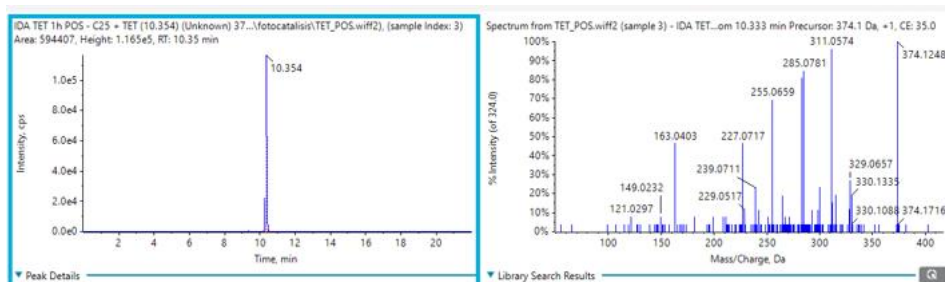


Figura 88. Cromatograma y espectro MS del P12 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.

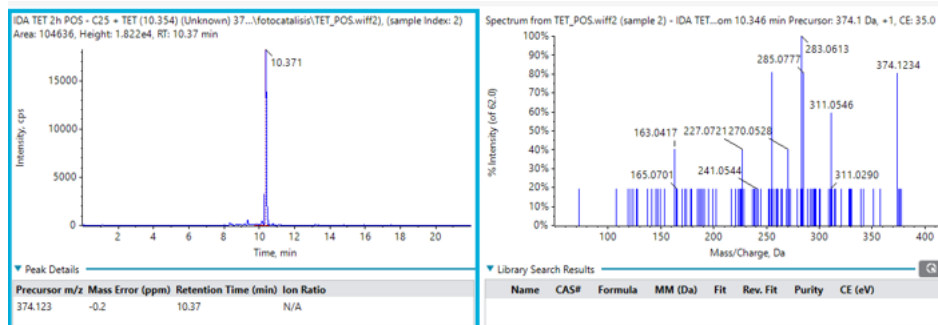


Figura 89. Cromatograma y espectro MS del P12 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.

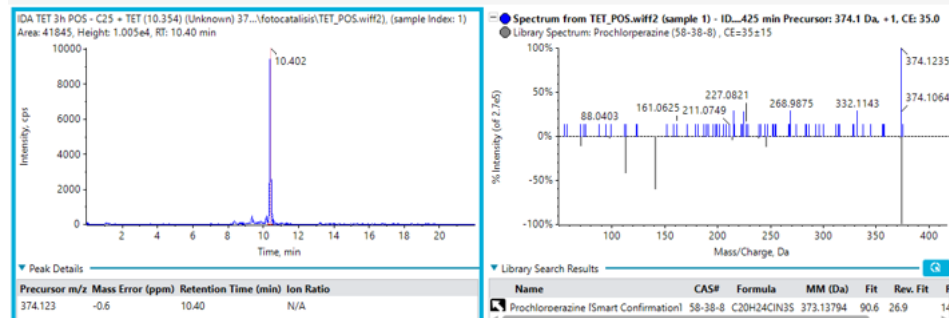


Figura 90. Cromatograma y espectro MS del P12 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.

III. COPROFLOXACINO Y PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN OBTENIDOS

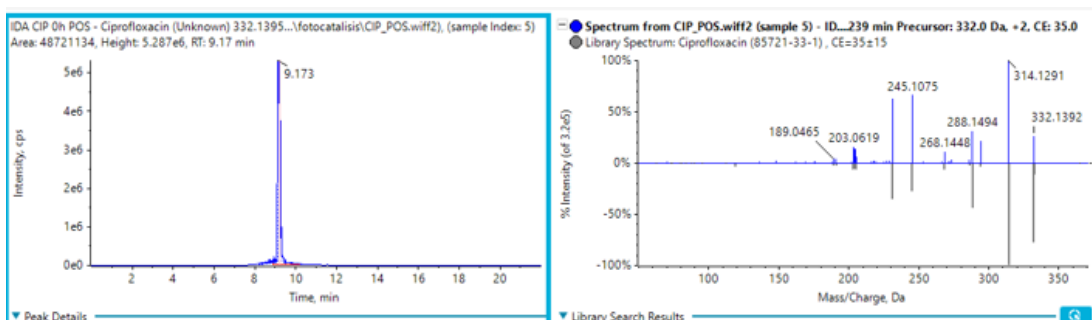


Figura 91. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento de fotocátalisis a tiempo 0h.

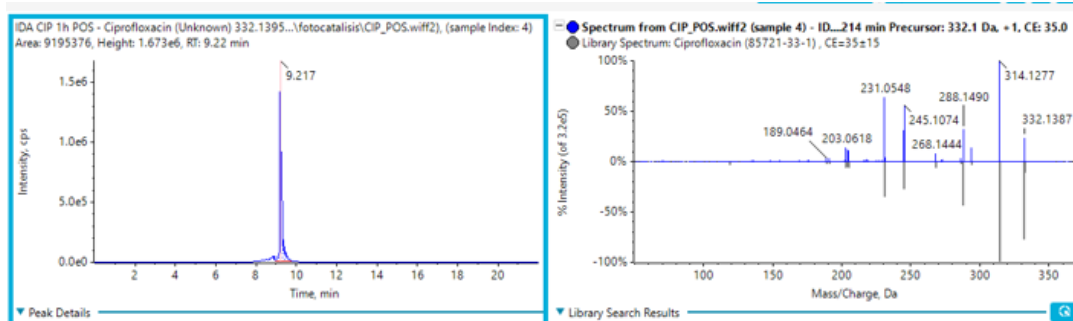


Figura 92. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento de fotocátalisis a tiempo 1h.

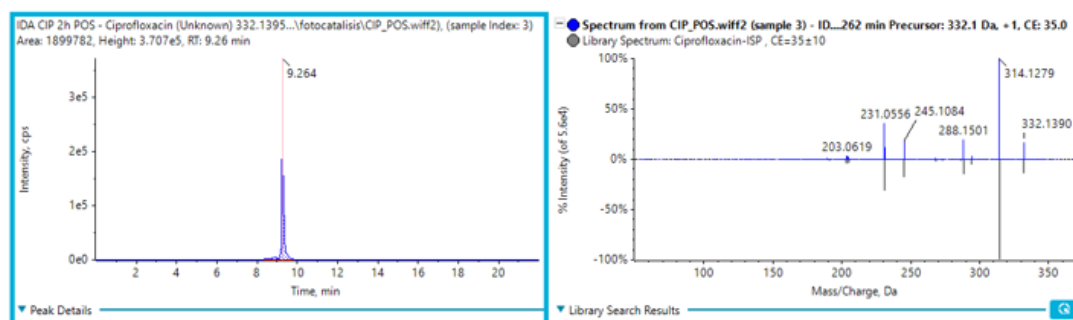


Figura 93. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento de fotocátalisis a tiempo 2h.

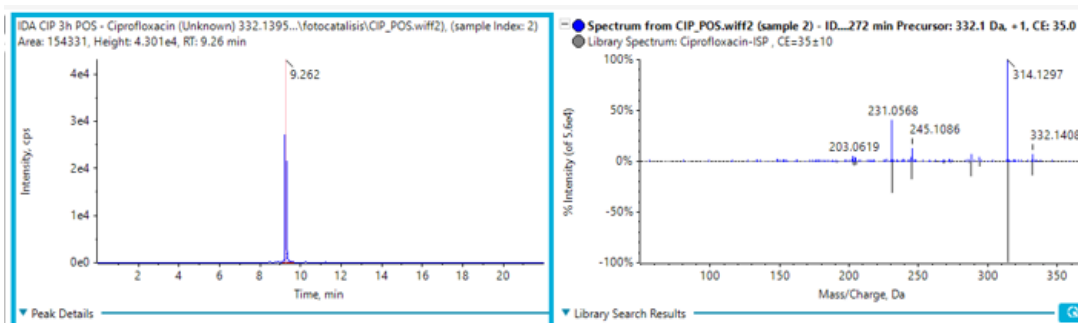


Figura 94. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.

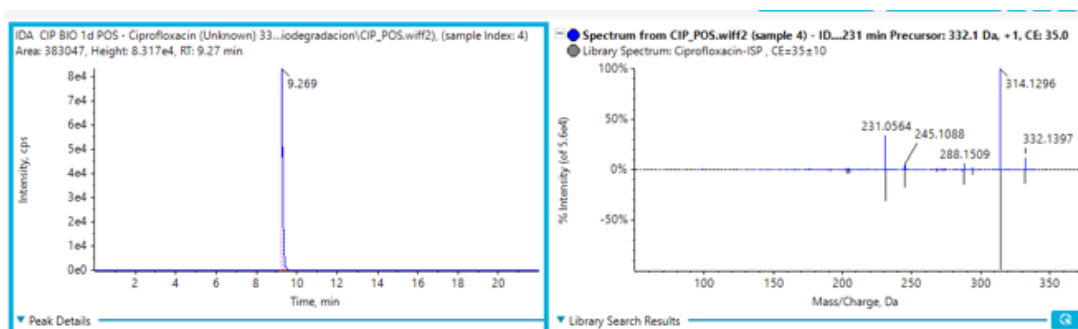


Figura 95. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 0d.

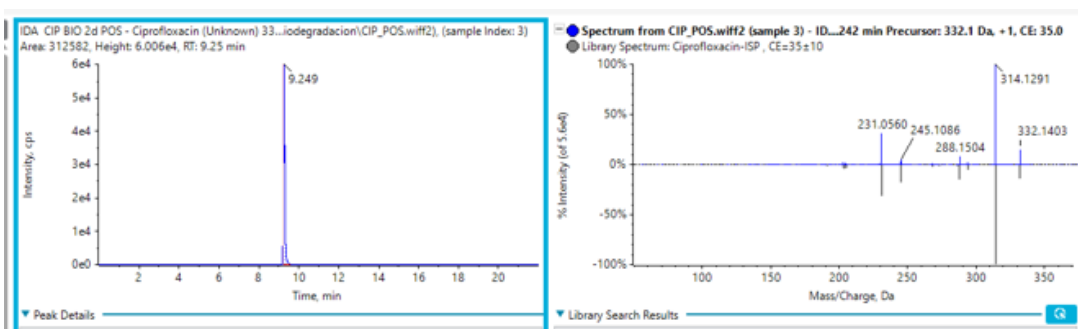


Figura 96. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 2d.

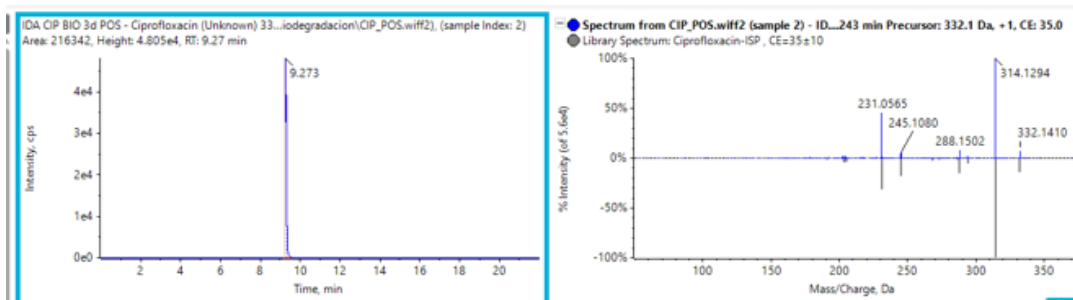


Figura 97. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 3d.

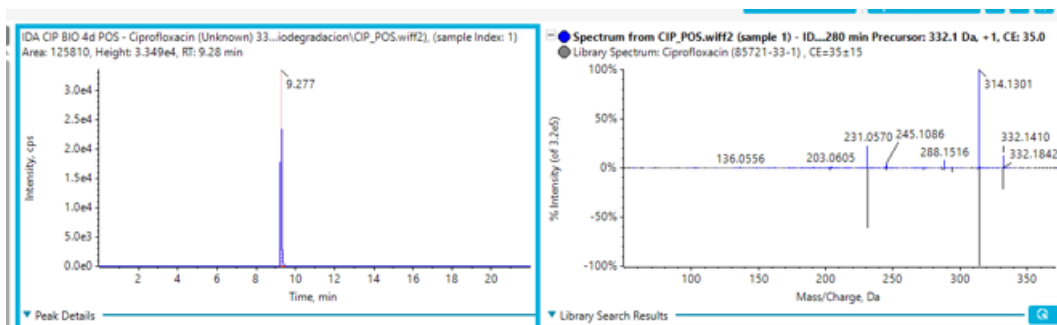


Figura 98. Cromatograma y espectro MS del CIP en el tratamiento biológico con microalgas tiempo 4d.

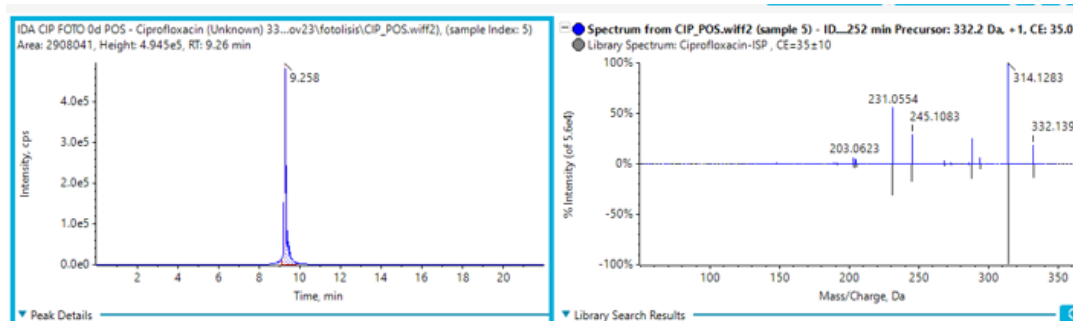


Figura 99. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 0d.

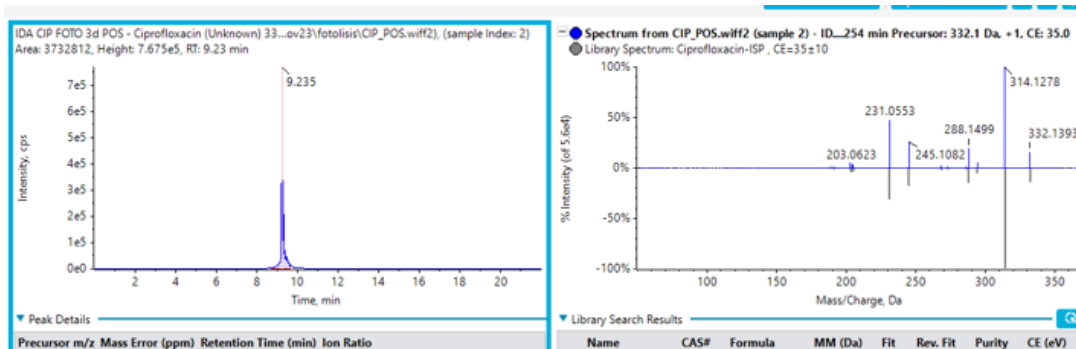


Figura 100. . Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.

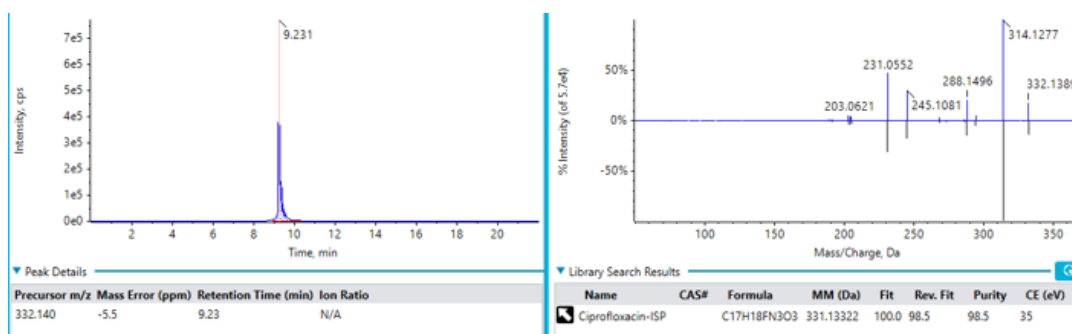


Figura 101. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.

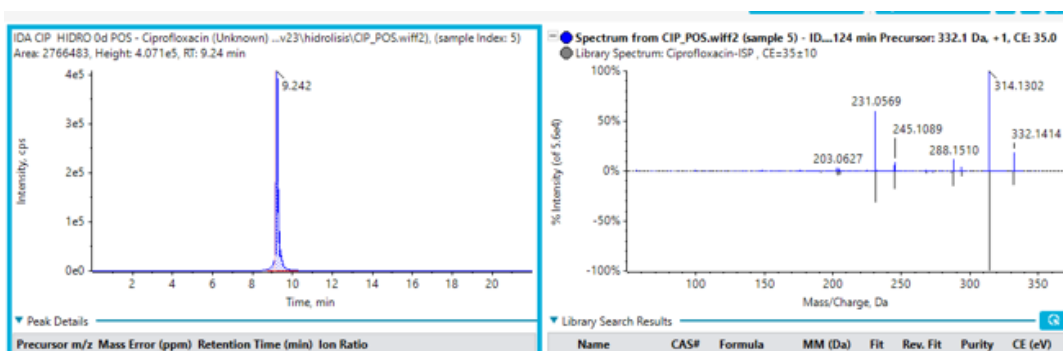


Figura 102. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 0d.

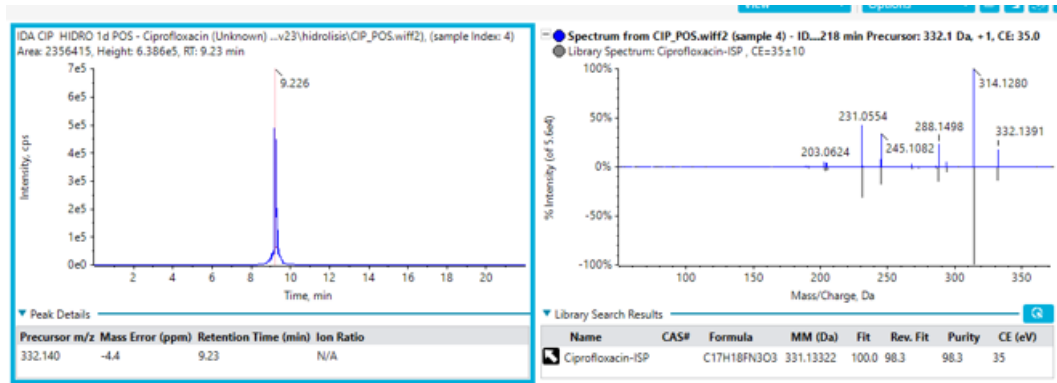


Figura 103. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.

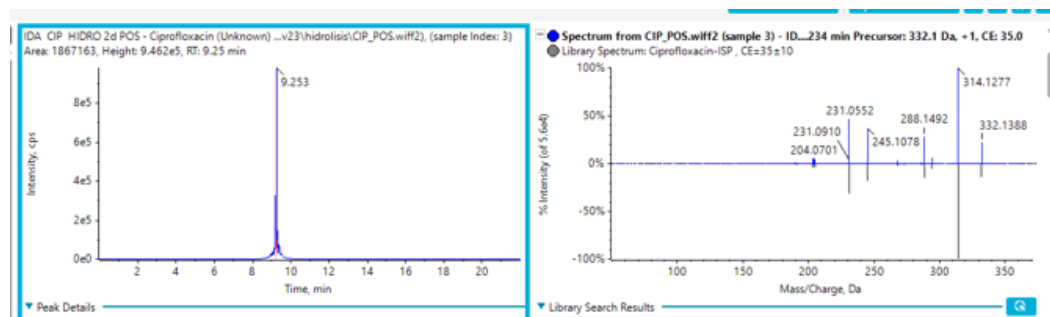


Figura 104. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.

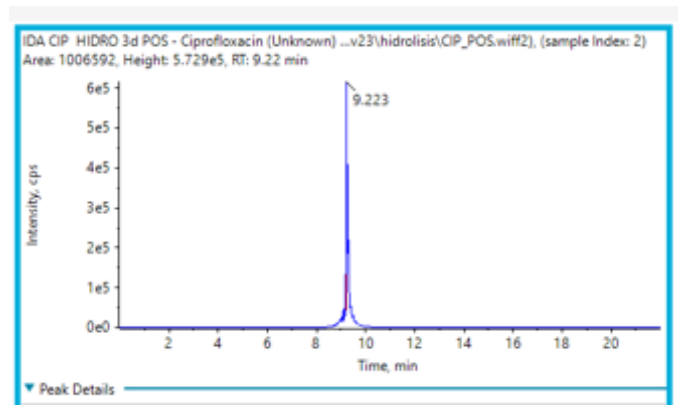


Figura 105. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.

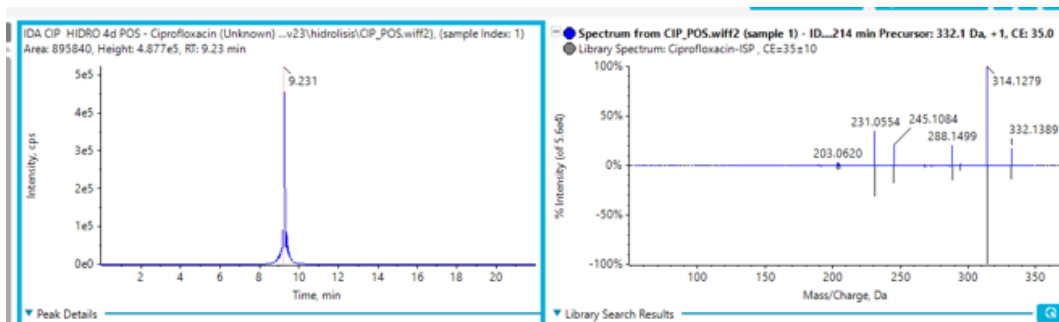


Figura 106. Cromatograma y espectro MS del CIP mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.

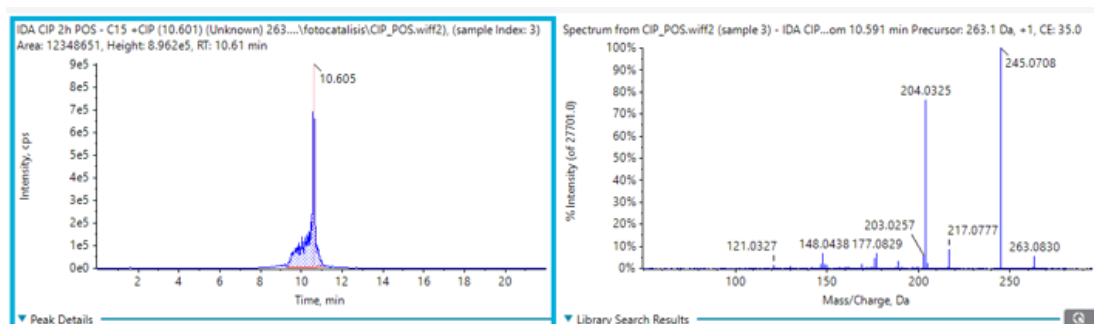


Figura 107. Cromatograma y espectro MS del P20 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.

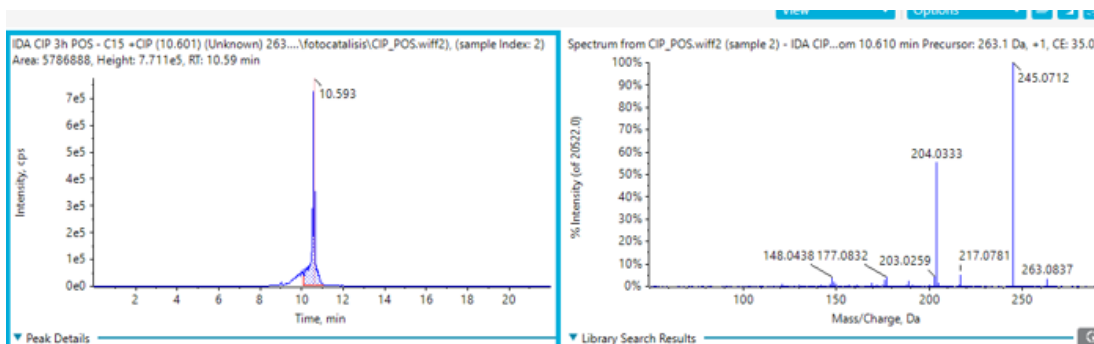


Figura 108. Cromatograma y espectro MS del P20 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.

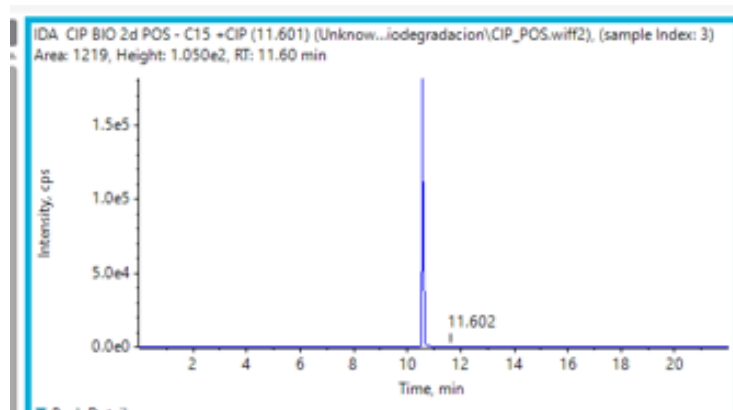


Figura 109. Cromatograma y espectro MS del P20 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 2d.

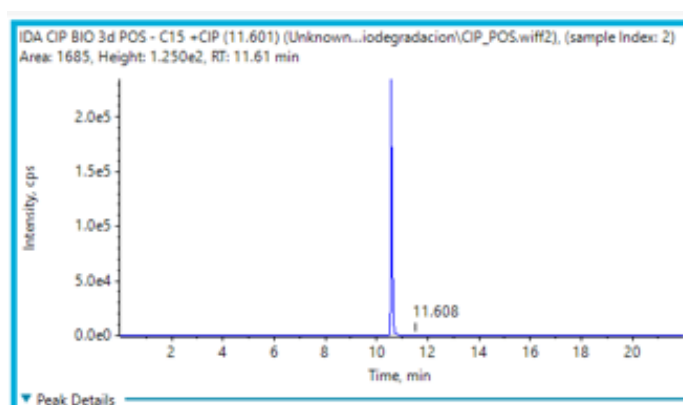


Figura 110. Cromatograma y espectro MS del P20 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 3d.

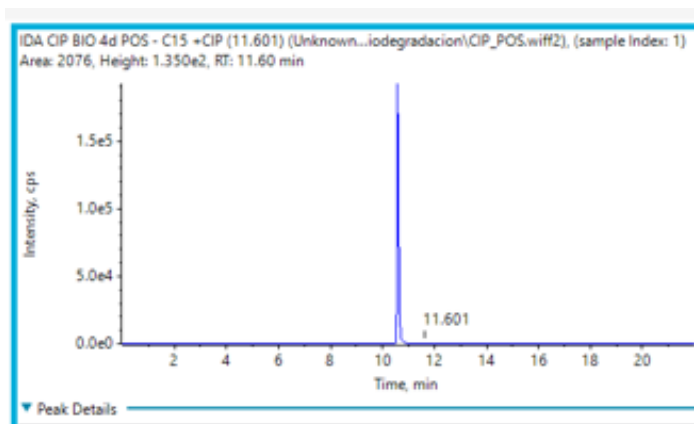


Figura 111. Cromatograma y espectro MS del P20 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 4d.

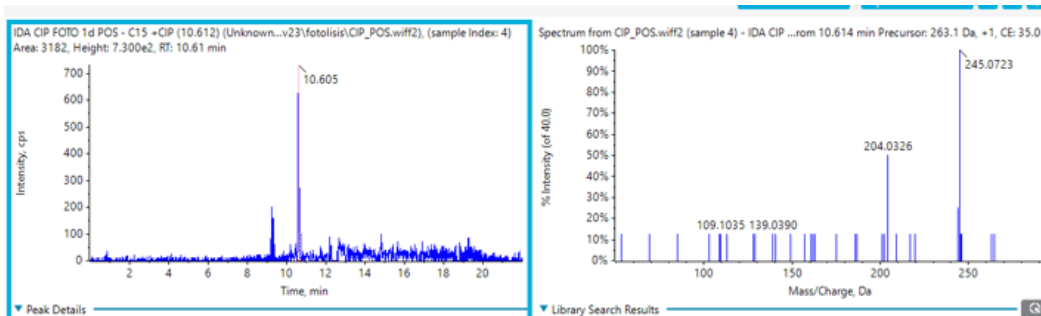


Figura 112. Cromatograma y espectro MS del P20 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.

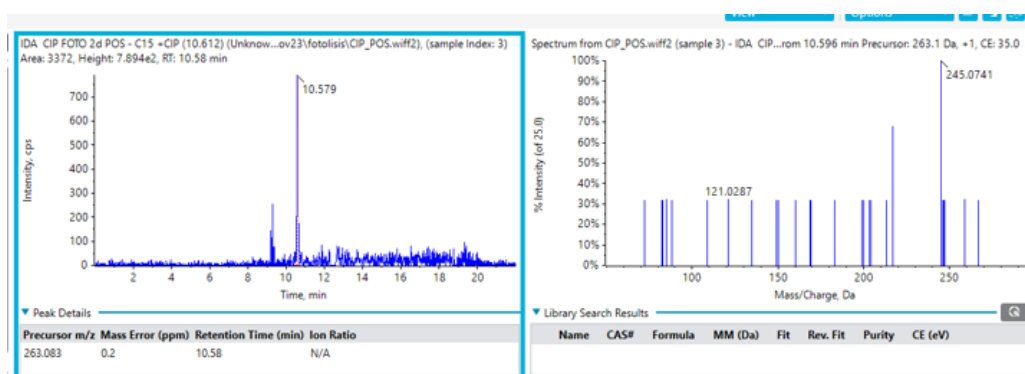


Figura 113. Cromatograma y espectro MS del P20 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.

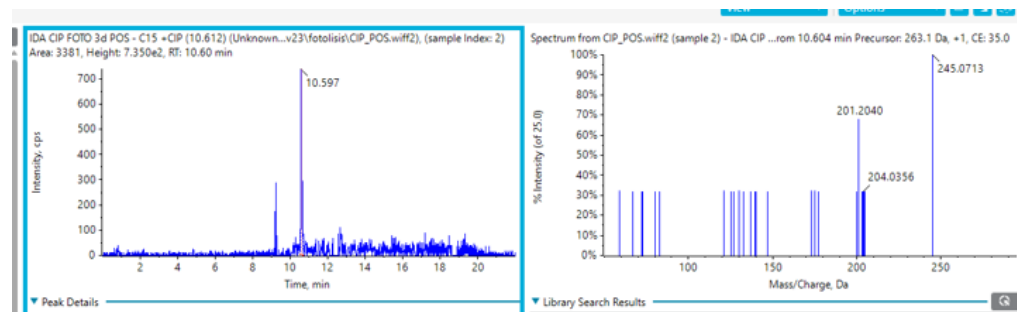


Figura 114. Cromatograma y espectro MS del P20 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.

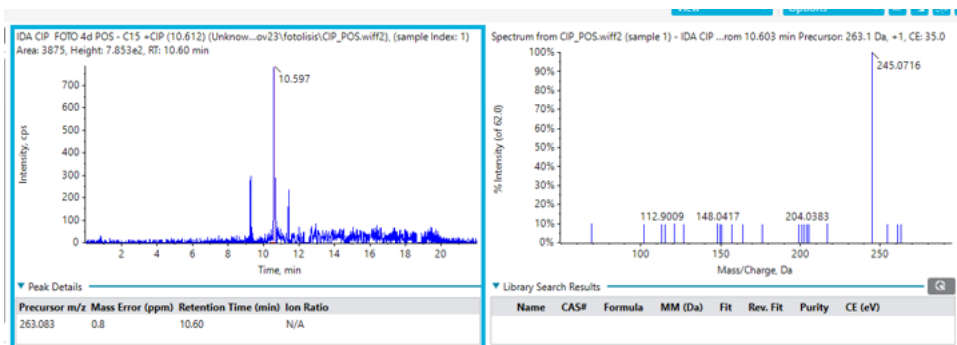


Figura 115. Cromatograma y espectro MS del P20 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.

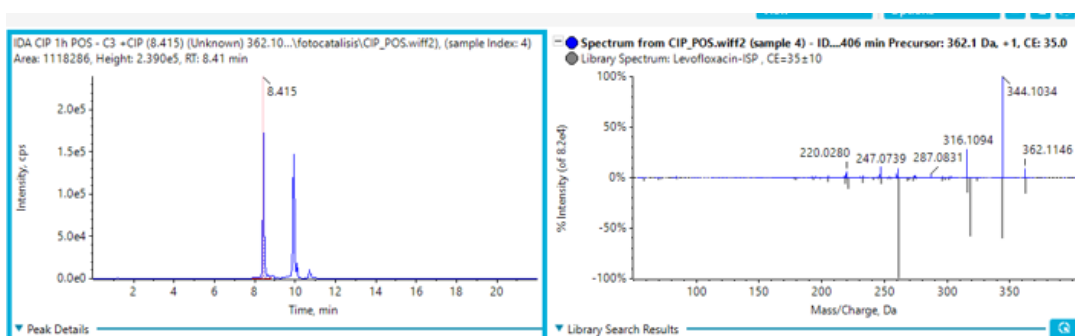


Figura 116. Datos P21 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.

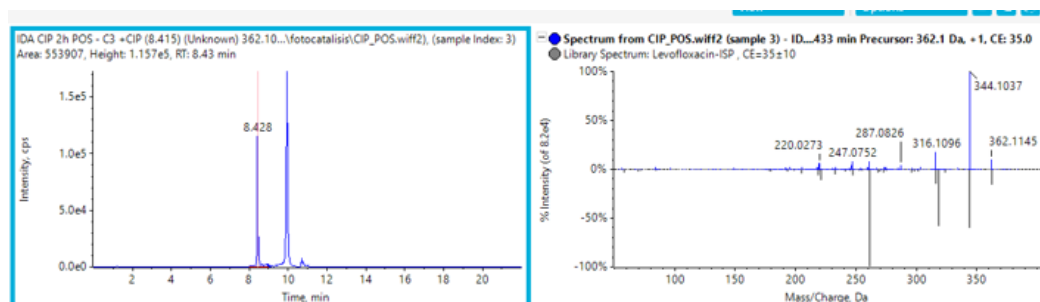


Figura 117. Cromatograma y espectro MS del P21 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.

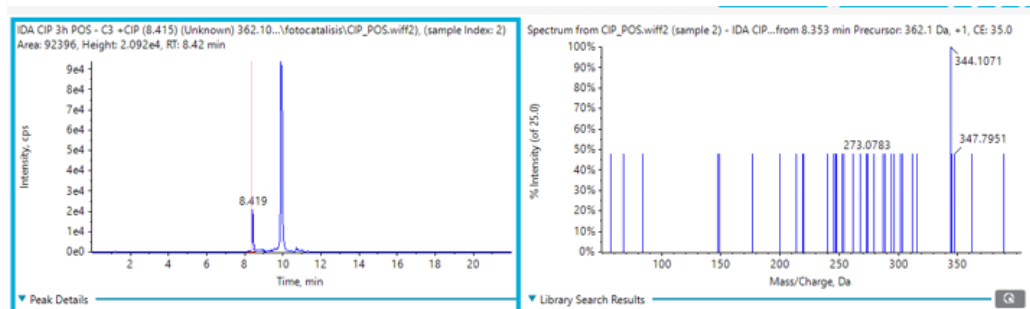


Figura 118. Cromatograma y espectro MS del P21 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.

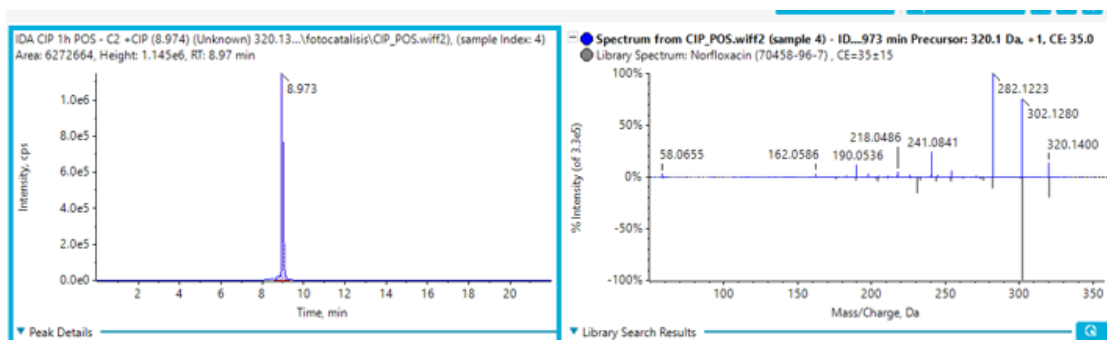


Figura 119. Cromatograma y espectro MS del P22 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 1h.

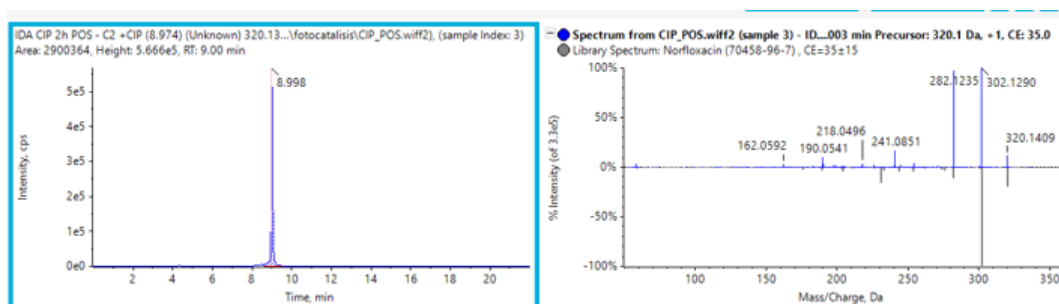


Figura 120. Cromatograma y espectro MS del P22 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 2h.

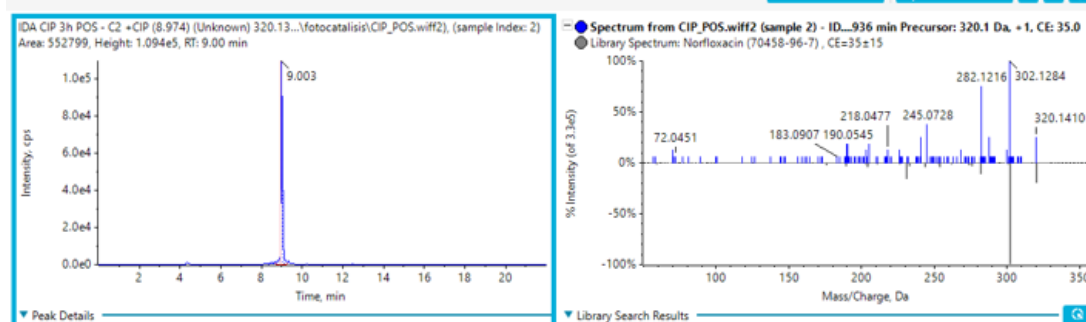


Figura 121. Cromatograma y espectro MS del P22 tratamiento de fotocatalisis a tiempo 3h.

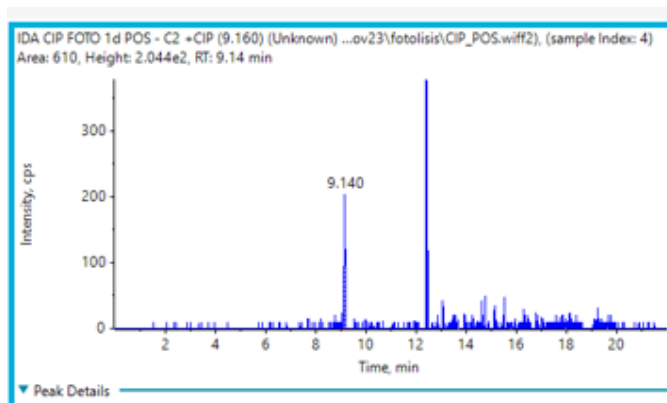


Figura 122. Cromatograma y espectro MS del P22 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.

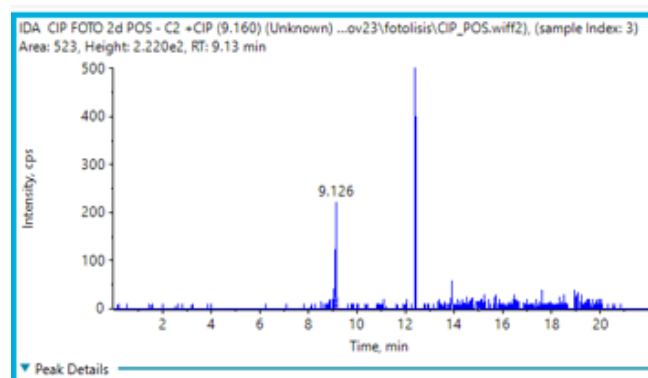


Figura 123. Cromatograma y espectro MS del P22 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.

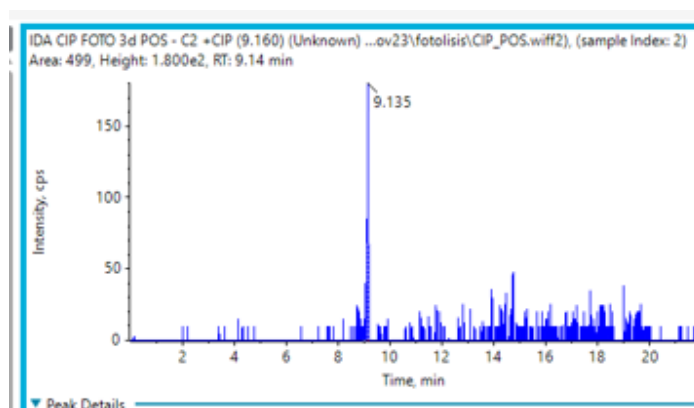


Figura 124. Cromatograma y espectro MS del P22 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.

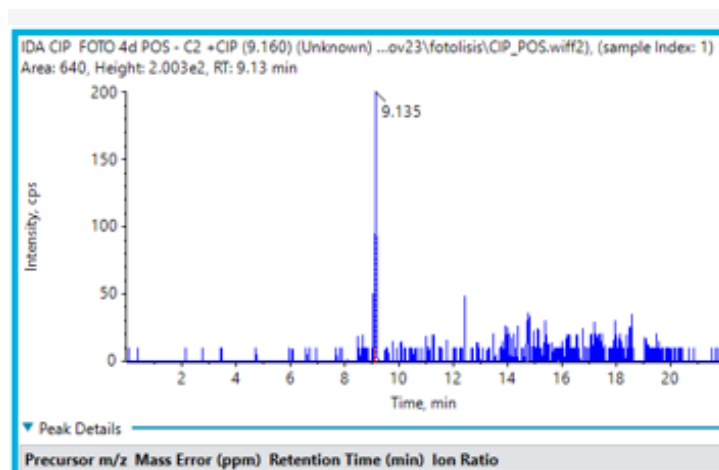


Figura 125. Cromatograma y espectro MS del P22 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.

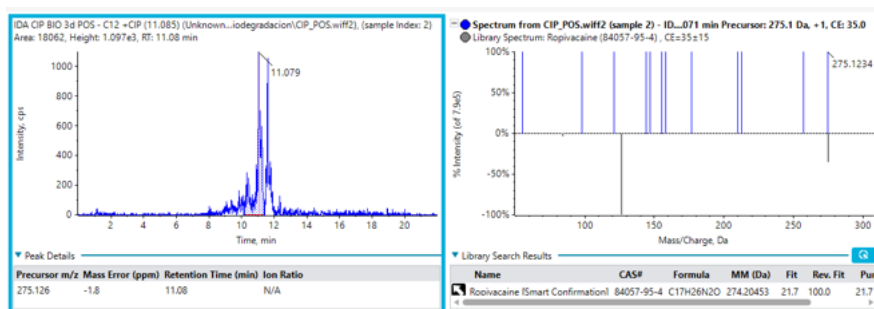


Figura 126. Cromatograma y espectro MS del P23 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 3d.

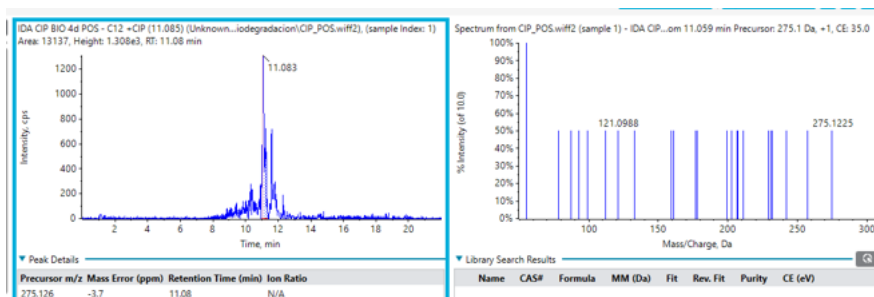


Figura 127. Cromatograma y espectro MS del P23 tratamiento biológico con microalgas a tiempo 4d.

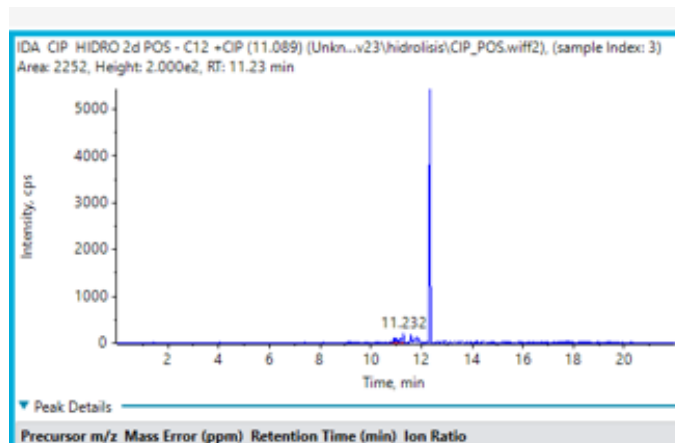


Figura 128. Cromatograma y espectro MS del P23 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.

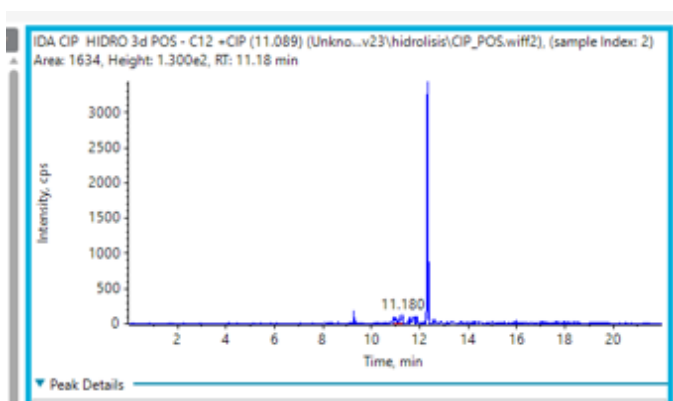


Figura 129. Cromatograma y espectro MS del P23 mecanismo de hidrólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.

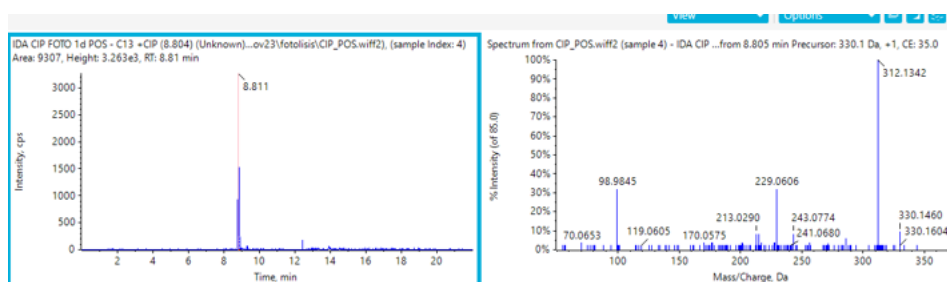


Figura 130. Cromatograma y espectro MS del P24 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 1d.

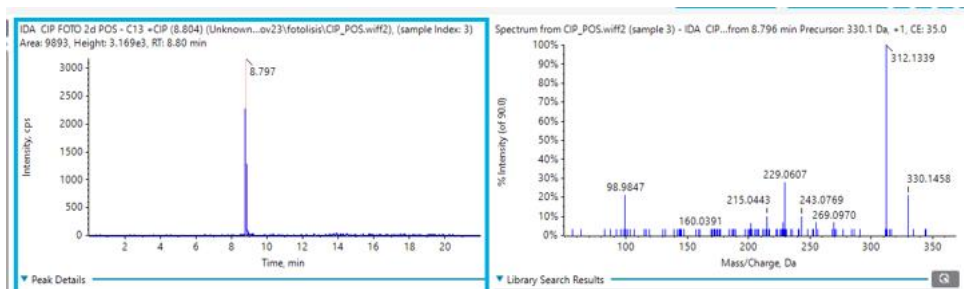


Figura 131. Cromatograma y espectro MS del P24 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 2d.

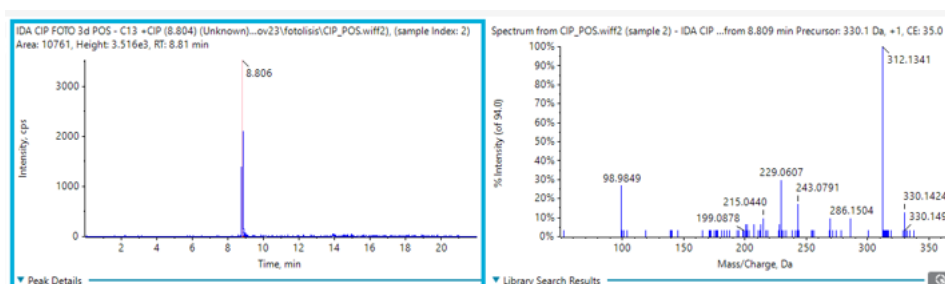


Figura 132. Cromatograma y espectro MS del P24 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 3d.

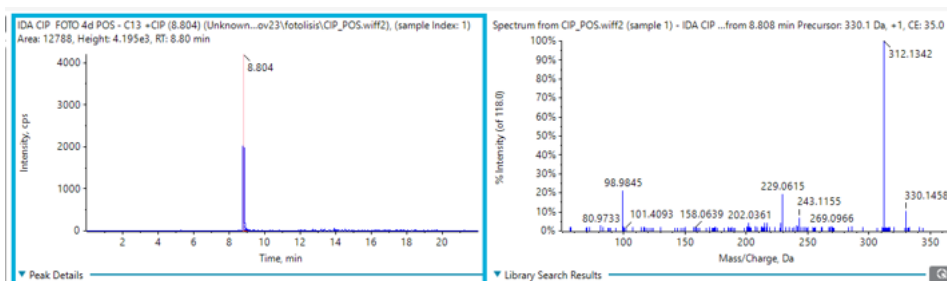


Figura 133. Cromatograma y espectro MS del P24 mecanismo de fotólisis del tratamiento biológico a tiempo 4d.

BIBLIOGRAFÍA

- Abramović S., Biljana F., Uzelac M., Sanja J., Armaković, Gašić U., Dragana D. Četojević-Simin, y Armaković S. 2021. "Experimental and Computational Study of Hydrolysis and Photolysis of Antibiotic Ceftriaxone: Degradation Kinetics, Pathways, and Toxicity." *Science of the Total Environment* 768. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.144991.
- Adamek E., Baran W., y Sobczak A. 2016. "Photocatalytic Degradation of Veterinary Antibiotics: Biodegradability and Antimicrobial Activity of Intermediates." *Process Safety and Environmental Protection* 103:1–9. doi: 10.1016/j.psep.2016.06.015.
- Ahmed M.B., Zhou J.L., Ngo H.H., Guo W., Thomaidis N.S., y Xu J. 2017. "Progress in the Biological and Chemical Treatment Technologies for Emerging Contaminant Removal from Wastewater: A Critical Review." *Journal of Hazardous Materials* 323:274–98. doi: 10.1016/j.jhazmat.2016.04.045.
- Anand G., Pant D., Srivastava V.C., Kumar M., Kumar A., y Goswami M. 2023. "Plant -Microbe Assisted Emerging Contaminants (ECs) Removal and Carbon Cycling." *Bioresource Technology* 385. doi: 10.1016/j.biortech.2023.129395.
- Ángeles R., Vega-Quiel M.J., Batista R., Fernández-Ramos O., Lebrero R., y Muñoz R. 2021. "Influence of Biogas Supply Regime on Photosynthetic Biogas Upgrading Performance in an Enclosed Algal-Bacterial Photobioreactor." *Algal Research* 57. doi: 10.1016/j.algal.2021.102350.
- Balakrishnan A., y Mahendra C. 2023. "Effective Sequestration of Tetracycline from Aqueous Streams Using Metal-Free Chemically Functionalized Porous g-C₃N₄." *Environmental Pollution* 333. doi: 10.1016/j.envpol.2023.122057.
- Baran W., y Adamek E. 2023. "Degradation of Veterinary Antibiotics by Fenton Process: Products Identification and Toxicity Assessment." *Chemosphere* 341. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.139854.

- Barceló D., y López de Alda M.J., 2007.-a Científico-técnico Seguimiento De La Política De Aguas. Fundación Nueva Cultura Del Agua Contaminación y Calidad Química Del Agua: El Problema de Los Contaminantes Emergentes.
- Barris D. 2001. “F (MarcadorDePosición1)”. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-10021983>
- Benancio e., Paredes J.L., Zavaleta L.A. 2022. “Degradación del colorante azul de metileno, mediante fotocatalisis con luz UV y TiO₂, para su aplicación en efluentes de la industria textil” <https://hdl.handle.net/20.500.14292/2263>.
- Boeckel T. P., Brower C., Gilbert M., Grenfell B.T., Levin S.A., Robinson T.P., Teillant A., y Laxminarayan R. 2015. “Global Trends in Antimicrobial Use in Food Animals.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112(18):5649–54. doi: 10.1073/pnas.1503141112.
- Boeckel T. P., Glennon E., Chen D., Gilbert M., Robinson T.P., Grenfell B.T., Levin S.A., Bonhoeffer S., y Laxminarayan R. 2017. “Reducing Antimicrobial Use in Food Animals.” *Science* 357(6358):1350–52.
- Browne, A. J., Chipeta M.G., Haines-Woodhouse G., Kumaran E.P.A., Kashef Hamadani B.H., Zarea S., Henry N.J., Deshpande A., Reiner R.C., Day N.P.J., Lopez A.D., Dunachie S., Moore C.E., Stergachis A., Hay S.I., y Dolecek C. 2021. “Global Antibiotic Consumption and Usage in Humans, 2000–18: A Spatial Modelling Study.” *The Lancet Planetary Health* 5(12): e893–904. doi: 10.1016/S2542-5196(21)00280-1.
- Calderón D. 2012 “dinámica de microcontaminantes orgánicos en aguas de riego agrícola.”
- Castanheira B., Brochsztain S., Otubo L., y Teixeira A.C. 2023. “Periodic Mesoporous Organosilicas Containing Naphthalenediimides as Organic Sensitizers for Sulfadiazine Photodegradation.” *Journal of Hazardous Materials* 443. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.130224.

- Centeno-Bordones G. 2022. “Fotocatálisis: Tecnología Sustentable Para Tratar Materia Orgánica Natural (NOM) y Desinfección Del Agua Potable.” *Agroecología Global. Revista Electrónica de Ciencias Del Agro y Mar* 4(7):68. doi: 10.35381/a.g.v4i7.1870.
- Deyris P.A., Pelissier F., Grison C.M., Hesemann P., Petit E., y Grison C. 2023. “Efficient Removal of Persistent and Emerging Organic Pollutants by Biosorption Using Abundant Biomass Wastes.” *Chemosphere* 313. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.137307.
- Dongle C., Ngo H.H., Guo W., Chang S.W., Nguyen D.D., Liu Y., Wei Q., y Wei D. 2020. “A Critical Review on Antibiotics and Hormones in Swine Wastewater: Water Pollution Problems and Control Approaches.” *Journal of Hazardous Materials* 387.
- Eheneden I., Wang R., y Zhao J.F. 2023. “Antibiotic Removal by Microalgae-Bacteria Consortium: Metabolic Pathways and Microbial Responses.” *Science of the Total Environment* 891. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164489>
- Escorcía J.E., Gómez E., y Arrieta E.E. 2013. Degradación de amoxicilina mediante fotocátalisis solar heterogénea con TiO₂ soportado. <https://repositorio.unicartagena.edu.co/bitstream/handle/11227/64/Degradaci%C3%B3n%20de%20Amoxicilina%20mediante%20fotocat%C3%A1lisis%20solar%20heterog%C3%A9nea%20con%20TiO2%20soportado.pdf?sequence=1>
- Fang C., Shao C., Wang S., Wu Y., Liu C., y Huang Q. 2023. “Simultaneous Removal of Levofloxacin and Sulfadiazine in Water by Dielectric Barrier Discharge (DBD) Plasma: Enhanced Performance and Degradation Mechanism.” *Process Safety and Environmental Protection* 171:459–69. doi: 10.1016/j.psep.2023.01.040.
- Fraga I., Santaballa A., y Canle M. “Reducción de Microcontaminantes Orgánicos Persistentes En Medios Acuáticos: Fotodegradación Directa y Degradación Fotocatalizada de Propranolol En Agua de Mar.” <http://hdl.handle.net/2183/16373>.
- Gaballah M.S., Guo J., Hassanein A., Sobhi M., Philbert M., Zheng Y., y Dong R. 2023. “Improving Removal of Combined Veterinary Antibiotics and Mitigating Their Negative Impacts during Anaerobic Digestion of Swine Manure Using Modified Bentonite.” *Journal of Water Process Engineering* 53. doi: 10.1016/j.jwpe.2023.103877.

- Gandamalla A., Manchala S., Verma A., Fu Y.P., y Shanker V. 2021. "Microwave-Assisted Synthesis of ZnAl-LDH/g-C₃N₄ Composite for Degradation of Antibiotic Ciprofloxacin under Visible-Light Illumination." *Chemosphere* 283. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131182.
- García E., Gracia H., y Baños C. 1997. "características farmacológicas de la ciprofloxacina en medicina veterinaria" http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3272/Garcia_Gonzalez_Enrique.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Garcés L.F., Franco M., Edwin A., Santamaría A., y Julián J. 2004. "Revista Lasallista de Investigación" <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69511013>.
- Gómez M.M., Agüera A. y Gómez M.J. 2018. "Desarrollo y validación de un método analítico mediante LC-QTOF-MS para la caracterización de aguas residuales y estudio de su aplicación en agua de riego para cultivos hortícolas".
- Gutiérrez P, Álvarez S., Larriba M., Gil M.V., Garrido J.M., y García J. 2023. "Efficient Removal of Antibiotic Ciprofloxacin by Catalytic Wet Air Oxidation Using Sewage Sludge-Based Catalysts: Degradation Mechanism by DFT Studies." *Journal of Environmental Chemical Engineering* 11(2). doi: 10.1016/j.jece.2023.109344.
- Haodi F., Hu Y., Tang L., Tian Y., Tian Z., Wei D., Yang M., y Zhang Y. 2023. "New Hydrolysis Products of Oxytetracycline and Their Contribution to Hard COD in Biological Effluents of Antibiotic Production Wastewater." *Chemical Engineering Journal* 471. doi: 10.1016/j.cej.2023.144409.
- Hu X., Gong S., He Q., Wu J.L, y Li N. 2023. "Less Is More: A New Perspective for Toxicity of Emerging Contaminants by Structures, Protein Adducts and Proteomics." *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 167. doi: 10.3390/nano13222967
- Huertas L.X., Bustos M.C. 2023. Modelo Conceptual Para La Caracterización de Los Procesos Involucrados Con La Presencia de Antibióticos En Aguas de La Cuenca Media y Alta Del Río Bogotá. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/84863>.

- Hung C.C., Chiou Y.C., Yang C.L., Wang J.H., Chen W.R., y Whang L.M. 2023. "Biosorption and Biotransformation Behaviours of Veterinary Antibiotics under Aerobic Livestock Wastewater Treatment Processes." *Chemosphere* 335. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.139034.
- Hunge Y. M., Yadav A.A., Kang S.W., Lim S.J., y Kim H. 2023. "Visible Light Activated MoS₂/ZnO Composites for Photocatalytic Degradation of Ciprofloxacin Antibiotic and Hydrogen Production." *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 434. doi: 10.1016/j.jphotochem.2022.114250.
- Honarmand M., Naeimi A, Saleh M., and Ali M. 2022. "Ni/NiO Doped Chitosan-Cellulose Based on the Wastes of Barley and Shrimp for Degradation of Ciprofloxacin Antibiotic." *Journal of Materials Research and Technology* 18:4060–74. doi: 10.1016/j.jmrt.2022.04.046.
- Jara M.A. 2007. "Tetraciclinas: un modelo de resistencia antimicrobiana tetracyclines: a model of antimicrobial resistance. vol. 22." <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/122499>.
- Kovalakova P., Cizmas L., Thomas J. McDonald, Marsalek B., Feng M., y Sharma V.K. 2020. "Occurrence and Toxicity of Antibiotics in the Aquatic Environment: A Review." *Chemosphere* 251. doi : 10.1016/j.chemosphere.2020.126351
- Kümmerer K. 2009. "Antibiotics in the Aquatic Environment - A Review - Part I." *Chemosphere* 75(4):417–34. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>.
- Li H., Cheng B., Zhang J., Zhou X., Chongli Shi, Zeng L, y Wang C. 2023. "Recent Advances in the Application of Bismuth-Based Catalysts for Degrading Environmental Emerging Organic Contaminants through Photocatalysis: A Review." *Journal of Environmental Chemical Engineering* 11(5). <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.110371>.
- Li J., Song Y., Wei Z., Wang F., Zhang X., Zhu H., Sheng S., y Zou H. 2023. "Unique Kinetics Feature and Excellent Photocatalytic Performance of Tetracycline Photodegradation Using Yolk-Shell TiO₂@void@TiO₂:Eu³⁺." *Applied Catalysis A: General* 650. doi: 10.1016/j.apcata.2022.119008.

- Li Q., Huang Y., Pan Z., Ni J., Yang W., Chen J., Zhang Y., y Li J. 2022. "Hollow C, N-TiO₂@C Surface Molecularly Imprinted Microspheres with Visible Light Photocatalytic Regeneration Availability for Targeted Degradation of Sulfadiazine." *Separation and Purification Technology* 299. doi: 10.1016/j.seppur.2022.121814.
- Linfa F., Chen C., Li S.Y., Ye P., Shi Y., Sharma G., Sarkar B., Shaheen S.M., Lee S.S, Xiao R., and Chen X. 2023a. "A Comprehensive and Global Evaluation of Residual Antibiotics in Agricultural Soils: Accumulation, Potential Ecological Risks, and Attenuation Strategies." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 262. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115175
- Liu C., Li B., Liu M., y Mao S. 2022. "Demand, Status, and Prospect of Antibiotics Detection in the Environment." *Sensors and Actuators B: Chemical* 369. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.132383>.
- Liu D., Li K., Zhou L., Lei J., Wang L., Zhang J., y Liu Y. 2023. "N, O Co-Doping Enhanced the Ability of Carbon/Fe Composites for Peroxymonosulfate Activation to Degrade Sulfadiazine: The Advantages of Nitrate Saturated MOFs as Precursors." *Separation and Purification Technology* 314. doi: 10.1016/j.seppur.2023.123556.
- Liu X., Liu Y., Lu S., Guo W., y Xi B. 2018. "Performance and Mechanism into TiO₂/Zeolite Composites for Sulfadiazine Adsorption and Photodegradation." *Chemical Engineering Journal* 350:131–47. doi: 10.1016/j.cej.2018.05.141.
- Luczaj W., Gegotek A., Bielawska K., y Skrzydlewska E. 2017. "Módulo 1 Técnicas de Separación y Espectrometría de Masas En Ciencias de La Vida." https://www.umb.edu.pl/photo/pliki/projekty_umb/aac/aacifesci-e-materials_es.pdf.
- Maroneze, M., Queiroz Zepka L., Guerra J., Queiroz M.I., y Jacob-Lopes E. 2014. "A Tecnologia de Remoção de Fósforo: Gerenciamento Do Elemento Em Resíduos Industriais." *Revista Ambiente e Agua* 9(3):445–58. doi: 10.4136/1980-993X.

- Martínez I., Soto J., y Lahora A. 2020. "Antibiotics as Emerging Pollutants. Ecotoxicological Risk and Control in Wastewater and Reclaimed Water." *Ecosistemas* 29(3). doi: 10.7818/ECOS.2070.
- Mojica E.R, y Aga D.S. 2011. "Antibiotics Pollution in Soil and Water: Potential Ecological and Human Health Issues." doi: 10.1016/B978-0-444-52272-6.00338-X.
- Moorthy A K., Rodriguez C., y Durrant A. 2023. "Optimisation of Ultrasonication Pretreatment on Microalgae *Chlorella Vulgaris* & *Nannochloropsis Oculata* for Lipid Extraction in Biodiesel Production." *Energy* 278. doi: 10.1016/j.energy.2023.128026.
- Namrata R., Kannabiran K., y Mukherjee A. 2023. "Integrated Adsorption and Photocatalytic Degradation Based Removal of Ciprofloxacin and Sulfamethoxazole Antibiotics Using Fc@rGO-ZnO Nanocomposite in Aqueous Systems." *Chemosphere* 333. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.138912.
- Navas A., Muñoz C., Medioambiente M., Carapeto R., García Caballero A., Aguilera C., Cristiana M., Justo I., Cubillo G., Trillo J.L., Alonso L, Irujo L., Gómara V., Santacreu M., García R., Bueno R., Parralo S., y Edita Y.(Junio 2020-Diciembre 2021) " coordinación del plan nacional frente a la resistencia a los antibióticos salud humana a la resistencia a los antibióticos. "
- Nevárez-Martínez M. C., Espinoza-Montero P.J., Quiroz-Chávez F.J., y Ohtani B .2017. *Fotocatálisis: Inicio, Actualidad y Perspectivas a Través Del TiO 2*. Vol. 12.
- Norvill Z.N., Toledo-Cervantes A., Blanco S., Shilton A., Guieysse B., Muñoz R (2017). "La fotodegradación y la sorción gobiernan la eliminación de tetraciclina durante el tratamiento de aguas residuales en estanques de algas" doi: 10.1016/j.biortech.2017.02.011.
- Octavio J., Arriaga S.L., Muñoz R., Berenice M.L., García C., Y Rodríguez R. 2017 "estudio de la degradación de vapores de n-hexano mediante el acoplamiento de fotólisis y fotocátalisis como sistemas de pre y post tratamiento a un biofiltro." <https://ipicyt.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1010/620/3/TDIPICYTS2E72015.pdf>.

- Ortiz S., Pinto G., García P.A., y Irusta R. 2013. "Ranking of Concern, Based on Environmental Indexes, for Pharmaceutical and Personal Care Products: An Application to the Spanish Case." *Journal of Environmental Management* 129:384–97. doi: 10.1016/j.jenvman.2013.06.035.
- Osorio M. 2018 "Aplicación de GC-QTOF-MS a la detección y determinación de compuestos orgánicos semi-volátiles en materia particulada de atmósferas interiores." <https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/26432/1/MARIO%20OSORIO%20ALVAREZ.pdf>.
- Perales-Vela H.V., Velasco R., Gómez E.A., Ofelia M., y Cañizares R.O. 2016. "Streptomycin Affects the Growth and Photochemical Activity of the Alga *Chlorella Vulgaris*." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 132:311–17. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.06.019.
- Pérez S.B., Irusta R., Deban L.M., 2019. Máster en Técnicas Avanzadas en Química. Análisis y Control de Calidad Químicos "Degradación Fotocalítica de Oxitetraciclina con Dióxido de Titanio en Soluciones Acuosas". <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/38446>.
- Qi J., Liu W., Dong Y., Lu Y., Yang C., y Lin H. 2023. "Single Atom Catalysts for Degradation of Antibiotics from Aqueous Environments by Advanced Oxidation Processes: A Review." *Journal of Cleaner Production* 423. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.138688>
- Rabelo R. A. 2023. "Dialnet Bacterias y Hongos Utilizados En La Biodegradación." <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8721230>.
- Ramesh B., Saravanan A., Kumar P.A., Yaashikaa P.R., Thamarai P., Shaji A., and Rangasamy G. 2023. "A Review on Algae Biosorption for the Removal of Hazardous Pollutants from Wastewater: Limiting Factors, Prospects and Recommendations." *Environmental Pollution* 327.
- Rodrigues, M., y Pinto Da Silva Bon E. 2011. "Evaluation of *Chlorella* (Chlorophyta) as Source of Fermentable Sugars via Cell Wall Enzymatic Hydrolysis." *Enzyme Research* 2011(1). doi: 10.4061/2011/405603.

- Roth C. 2022. SECCIÓN 1: Identificación de La Sustancia o La Mezcla y de La Sociedad o La Empresa 1.1 Identificador Del Producto.
- Rout R., Zhang C.T., Puspendu B., y Rao S. 2021. "Treatment Technologies for Emerging Contaminants in Wastewater Treatment Plants: A Review." *Science of the Total Environment* 753. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141990.
- Ruiz S., Farrán A. 2001. Capítulo V: Estudio de Degradación. <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/6423/08cap5.pdf;sequence=8>
- Saadaoui I., Cherif M., Rasheed R., Bounnit T., Al Jabri H., Sayadi S., Hamadou R.B., y Manning S. 2020. "Mychonastes Homosphaera (Chlorophyceae): A Promising Feedstock for High Quality Feed Production in the Arid Environment." *Algal Research* 51. doi: 10.1016/j.algal.2020.102021.
- Sánchez, J. F., J. M. Fernández, F. G. Acién, A. Rueda, J. Pérez-Parra, y E. Molina. 2008. "Influence of Culture Conditions on the Productivity and Lutein Content of the New Strain *Scenedesmus Almeriensis*." *Process Biochemistry* 43(4):398–405. doi: 10.1016/j.procbio.2008.01.004.
- Sarwar T., y Khan S. 2022. "Antibiotics and Antibiotics Resistance Genes in Poultry and Animals' Manure and Their Effects on Environment and Human Health." Pp. 229–58 in *Fate of Biological Contaminants During Recycling of Organic Wastes*. Elsevier.
- Schauss K., Focks A., Heuer H., Kotzerke A., Schmitt H., Thiele-Bruhn S., Smalla K., Wilke B.M., Matthies M., Amelung W., Klasmeier J., and Schloter M. 2009. "Analysis, Fate and Effects of the Antibiotic Sulfadiazine in Soil Ecosystems." *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 28(5):612–18. doi: 10.1016/j.trac.2009.02.009.
- Schmerold I., Geijlswijk I.V., y Gehring R. 2023. "European Regulations on the Use of Antibiotics in Veterinary Medicine." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 189. doi: 10.1016/j.ejps.2023.106473.
- Seong K.K., Yang C.S., y Mok Y.S. 2013. "Degradation of Veterinary Antibiotics by Dielectric Barrier Discharge Plasma." *Chemical Engineering Journal* 219:19–27. doi: 10.1016/j.cej.2012.12.079.

- Sepúlveda-Muñoz, C.A., Hontiyuelo G., Blanco S., Torres-Franco A.F, y Muñoz R. 2022. "Photosynthetic Treatment of Piggery Wastewater in Sequential Purple Phototrophic Bacteria and Microalgae-Bacteria Photobioreactors." *Journal of Water Process Engineering* 47. doi: 10.1016/j.jwpe.2022.102825.
- Shen C., He M., Zhang J., Liu J., Su J., y Dai J. 2023. "Effects of the Coexistence of Antibiotics and Heavy Metals on the Fate of Antibiotic Resistance Genes in Chicken Manure and Surrounding Soils." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 263:115367. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115367.
- Sollic M., Roy-Lachapelle A., Gasser M.O., Coté C., Génereux M., y Sauvé S. 2016. "Fractionation and Analysis of Veterinary Antibiotics and Their Related Degradation Products in Agricultural Soils and Drainage Waters Following Swine Manure Amendment." *Science of the Total Environment* 543:524–35. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.11.061.
- Taheran M., Brar S.K., Verma M., Surampalli R.Y., Zhang T.C., y Valero J.R. 2016. "Membrane Processes for Removal of Pharmaceutically Active Compounds (PhACs) from Water and Wastewaters." *Science of the Total Environment* 547:60–77.
- Talba M., Sharif M., Yusoff F., Meng Y., y Banerjee S. 2018. "Aplicaciones de la microalga *Chlorella vulgaris* en acuicultura". <https://doi.org/10.1111/raq.12320>.
- Vicente D., y Pérez E. 2010. "Tetraciclinas, Sulfamidas y Metronidazol." *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 28(2):122–30. doi: 10.1016/j.eimc.2009.10.002.
- Wang H., Hu C., Wang Y., Zhao Y., Jin C., y Guo L. 2023. "Elucidating Microalgae-Mediated Metabolism for Sulfadiazine Removal Mechanism and Transformation Pathways." *Environmental Pollution* 327. doi: 10.1016/j.envpol.2023.121598.
- Wang J.T., Cai Y.L., Liu X.L., Zhang X.D., Cai F.Y., Cao H.L., Zhong Z., Li Y.F., y Lü J. 2022. "Unveiling the Visible-Light-Driven Photodegradation Pathway and Products Toxicity of Tetracycline in the System of Pt/BiVO₄ Nanosheets." *Journal of Hazardous Materials* 424. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127596.

- Wang Y., Liu J., Kang D., Wu C., y Wu Y. 2017. "Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products from Wastewater Using Algae-Based Technologies: A Review." *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 16(4):717–35.
- Wu P., Hu T., Sun L., y Fan J. 2023. "Efficient Degradation of Sulfadiazine by Photosynthetic Cyanobacteria *Synechocystis* Sp. PCC 6803 Coupling with Recombinant Laccase Strategy." *Chemical Engineering Journal* 474. doi: 10.1016/j.cej.2023.145974.
- Xiang X., Wu L., Zhu J., Li J., Liao X., Huang H., Fan J., y Lv K. 2021. "Photocatalytic Degradation of Sulfadiazine in Suspensions of TiO₂ Nanosheets with Exposed (001) Facets." *Chinese Chemical Letters* 32(10):3215–20. doi: 10.1016/j.ccllet.2021.03.064.
- Xiaolong Y., Jin X., Li M., Yu Y., Zhu M., Tang S., Zhou H., Wang K., Dou R., y Sun J. 2022. "Degradation Mechanism of Tetracycline Using Sulfidated Nanoscale Zerovalent Iron Driven Peroxymonosulfate and Metabolomic Insights into Environmental Risk of Intermediates Products." *Chemical Engineering Journal* 430. doi: 10.1016/j.cej.2021.133141.
- Xie P., Chen C., Zhang C., Su G., Ren N., Ho S.H. (2020) "Revelando el papel de la adsorción en las rutas de eliminación de ciprofloxacino y sulfadiazina en microalgas" doi: 10.1016/j.watres.2020.115475.
- Xiong J.Q., Kurade M.B. y Byong H.J. 2017. "Biodegradation of Levofloxacin by an Acclimated Freshwater Microalga, *Chlorella Vulgaris*." *Chemical Engineering Journal* 313:1251–57. doi: 10.1016/j.cej.2016.11.017.
- Yang G., Liang Y., Xiong Z., Yang J., Wang K., y Zeng Z. 2021. "Molten Salt-Assisted Synthesis of Ce₄O₇/Bi₄MoO₉ Heterojunction Photocatalysts for Photo-Fenton Degradation of Tetracycline: Enhanced Mechanism, Degradation Pathway and Products Toxicity Assessment." *Chemical Engineering Journal* 425. doi: 10.1016/j.cej.2021.130689.
- Yang Q., Yuan G., Ke J., Show P.L., Ge Y., Liu Y., Guo R., y Chen J. 2021. "Antibiotics: An Overview on the Environmental Occurrence, Toxicity, Degradation, and Removal Methods." *Bioengineered* 12(1):7376–7416.

- Yi Q., Zhang Y., Gao Y., Tian Z., y Yang M. 2017. “Anaerobic Treatment of Antibiotic Production Wastewater Pretreated with Enhanced Hydrolysis: Simultaneous Reduction of COD and ARGs.” *Water Research* 110:211–17. doi: 10.1016/j.watres.2016.12.020.
- Zambrano J., García P.A., Hernández F., Botero A.M., Jiménez J.J., y Irusta R. 2023. “Kinetics of the Removal Mechanisms of Veterinary Antibiotics in Synthetic Wastewater Using Microalgae–Bacteria Consortia.” *Environmental Technology and Innovation* 29. doi: 10.1016/j.eti.2023.103031.
- Zambrano J., García P.A., Jiménez J.J., Ciardi M., Bolado S., y Irusta R. 2023. “Removal of Veterinary Antibiotics in Swine Manure Wastewater Using Microalgae–Bacteria Consortia in a Pilot Scale Photobioreactor.” *Environmental Technology and Innovation* 31. doi: 10.1016/j.eti.2023.103190.
- Zambrano J., García P.A., Jiménez J.J., López R., y Irusta R. 2022. “Photolytic and Photocatalytic Removal of a Mixture of Four Veterinary Antibiotics.” *Journal of Water Process Engineering* 48. doi: 10.1016/j.jwpe.2022.102841.
- Zhang M., Zhang S., Xu Z., Lv T., Liu X., Wang L., y Liu B. 2024. “Fluorescence Determination of the Total Amount of Tetracyclines by a Flavonol-Based Supramolecular Sensor.” *Talanta* 266. doi: 10.1016/j.talanta.2023.124982.
- Zhang X., Zuo S., Li S., Shang Y., Du Q., Wang H., Guo W., and Ngo H.H. 2023. “Responses of Biofilm Communities in a Hybrid Moving Bed Biofilm Reactor-Membrane Bioreactor System to Sulfadiazine Antibiotic Exposure.” *Bioresource Technology* 382. doi: 10.1016/j.biortech.2023.129126.
- Zhao F., Li X., Xiong T., Zuo M., Luo L., Qin P., Lei M., Liang Y., Gong X., Zou D., y Wu Z. 2023. “Photocatalytic Degradation of Tetracycline by N-CQDs Modified S-g-C₃N₄ Nanotubes and Its Product Toxicity Evaluation.” *Separation and Purification Technology* 314. doi: 10.1016/j.seppur.2023.123533.
- Zheng H., Ji Y., Li S., Li W., Ma J., y Niu J. 2023. “Ecotoxicity and Resistance Genes Induction Changing of Antibiotic Tetracycline Degradation Products Dominated by Differential Free Radicals.” *Environmental Research* 227. doi: 10.1016/j.envres.2023.115427.

- Zheng H., Zhang Y., Li S., Feng X., Wu Q., Leong Y.K., y Chang J.S. 2023. “Antibiotic Sulfadiazine Degradation by Persulfate Oxidation: Intermediates Dependence of Ecotoxicity and the Induction of Antibiotic Resistance Genes.” *Bioresource Technology* 368. doi: 10.1016/j.biortech.2022.128306.
- Zhou L., Li S., y Li F. 2022. “Damage and Elimination of Soil and Water Antibiotic and Heavy Metal Pollution Caused by Livestock Husbandry.” *Environmental Research* 215.
- Zhou Y., Li X., Chen J., y Wang F. 2023. “Treatment of Antibiotic-Containing Wastewater with Self-Suspended Algae-Bacteria Symbiotic Particles: Removal Performance and Reciprocal Mechanism.” *Chemosphere* 323. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.138240.