

Trabajo fin de grado

Grado en Ciencias ambientales

Degradación de sulfadiazina e inactivación de *Enterococcus sp.* mediante procesos avanzados de oxidación basados en ozono y radicales de sulfato

Sulfadiazine degradation and inactivation of *Enterococcus sp.* by advanced oxidation processes based on ozone and sulfate radicals

Autor

Rubén Moras González

Directora

Natividad Miguel Salcedo

Escuela Politécnica de Huesca

2021

Resumen

Como parte de los Objetivos de Desarrollo Sostenible, la preocupación y la necesidad de depuración del agua supone una realidad imperante hoy en día ante un recurso de naturaleza limitada y variable, esencial para la realidad económica y social de la población, así como necesaria para el mantenimiento de los ecosistemas dependientes de este bien.

Los esfuerzos en investigación relacionados con la contaminación de aguas se centran en la investigación de aquellos compuestos conocidos como Contaminantes Emergentes, agrupados bajo este bloque aquellos compuestos químicos que puedan mostrar efectos adversos para la salud humana y para el medio ambiente, pero de los cuales aún se desconocen riesgos asociados concretos. Los procesos avanzados de oxidación nacen como respuesta ante la aparición de ciertos compuestos difícilmente degradables por medio de las vías convencionales de depuración.

En el presente trabajo se estudia la efectividad del ozono como proceso avanzado de oxidación, y su rendimiento en combinación con sales persulfato, frente a dos compuestos: *Enterococcus sp.* y sulfadiazina. El primero de ellos, una bacteria comúnmente aislada en aguas naturales y depuradas; y el segundo, un antibiótico ampliamente aislado en aguas, ante la problemática ambiental que ambos aspectos presentan en el medio ambiente, como lo es la aparición de resistencia bacteriana ante la presencia de antibióticos o de sus compuestos activos.

Los resultados obtenidos confirman que la ozonización es un proceso eficaz para la eliminación de ambos compuestos, y como su capacidad se ve incrementada ante la presencia de sales persulfato.

Palabras clave

Bacteria, antibiótico, degradación, inactivación, rendimiento, tratamiento.

Abstract

As a part of the Sustainable Development Goals, the concern and need for water purification is a prevailing reality today in view of a resource of limited and variable nature, essential for the economic and social reality of the population, as well as necessary for the maintenance of ecosystems dependent on this good.

Efforts related to water pollution are focused on the investigation of those compounds known as Emerging Pollutants, grouped under this block those chemical compounds that can show adverse effects for human health and for the environment, but of which there are still unaware of specific associated risks. Advanced oxidation processes are born as a response to the appearance of certain difficult compounds that can be degraded through conventional purification routes.

The following work studies the effectivity of ozone as an advanced oxidation process, and its performance in combination with persulfate salts, against two compounds: *Enterococcus sp.* and sulfadiazine. The first of them, a bacterium commonly isolated in natural and purified waters; and the second one, an antibiotic widely isolated in water, due the environmental problems that both aspects present in the environment, such as the appearance of bacterial resistance in presence of antibiotics or their active compounds.

The results obtained confirm that ozonation is an effective process for the elimination of both compounds, and how its capacity is increased in the presence of persulfate sales.

Key words

Bacteria, antibiotic, degradation, inactivation, performance, treatment.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	1
2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS. ANTECEDENTES.....	5
2.1 CONTAMINANTES CONVENCIONALES EN AGUAS.	5
2.2 CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS.	6
2.2.1 <i>Productos farmacéuticos</i>	9
2.2.2 <i>Otros contaminantes emergentes.</i>	12
2.3 TIPOS DE OPERACIONES EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS.	14
2.3.1 <i>Procesos Convencionales.</i>	14
2.3.2 <i>Procesos Avanzados de Oxidación</i>	16
2.3.3.1 Ozonización.....	17
2.3.3.2 Radicales sulfato.....	18
2.3.3.3 Tratamientos combinados.....	19
3. MATERIAL Y MÉTODOS	21
3.1 MUESTRAS.....	21
3.1.1 <i>Preparación de las muestras de Enterococcus sp</i>	21
3.1.2 <i>Preparación de muestras de sulfadiazina</i>	21
3.2 METODOLOGÍA ANALÍTICA	22
3.2.1 <i>Análisis de Enterococcus sp</i>	22
3.2.2 <i>Análisis de sulfadiazina</i>	28
3.2.3 <i>Otros parámetros físico químicos.</i>	29
3.3 APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS.	30
3.3.1 <i>O₃</i>	30
3.3.2 <i>Sales de persulfato.</i>	34
3.3.3 <i>Tratamiento combinado O₃+SO₄⁻</i>	35
3.4 EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS.	36
3.4.1 <i>Inactivación de Enterococcus sp</i>	36
3.4.2 <i>Rendimiento de degradación y mineralización de sulfadiazina.</i>	36
4. RESULTADOS	39
4.1 CALIBRACIÓN DE EQUIPOS.	39
4.2 INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP.	40
4.2.1 <i>Inactivación mediante ozono.</i>	40
4.2.2 <i>Inactivación mediante PS/PMS</i>	43
4.2.3 <i>Inactivación mediante O₃ + PS y O₃ + PMS</i>	43
4.2.4 <i>Influencia de la concentración de PMS en los tratamientos con O₃+PMS</i>	46
4.2.5 <i>Influencia del pH en la inactivación de Enterococcus sp. mediante O₃+PMS.</i>	48
4.3 DEGRADACIÓN DE SULFADIAZINA.	49
4.3.1 <i>Degradación de SDZ mediante ozono</i>	49
4.3.2 <i>Degradación de sulfadiazina mediante PMS.</i>	52
4.3.3 <i>Degradación de SDZ mediante O₃+PMS</i>	53
5. CONCLUSIONES.	57
6. BIBLIOGRAFÍA	59
ANEXO I. CLASIFICACIÓN DE LOS CES.	67
ANEXO II. USOS DE LOS FÁRMACOS MENCIONADOS.....	68
ANEXO III. LISTA DE OBSERVACIÓN DE SUSTANCIAS EN SEGUIMIENTO POR LA UE.....	69
ANEXO IV. FAMILIAS DE ANTIBIÓTICOS CONSUMIDOS EN UE.....	71
ANEXO V. CLASIFICACIÓN DE LOS PAOS.	72

ANEXO VI. RESULTADOS DE LA EXPERIMENTACIÓN.....	73
1. CALIBRACIÓN DEL OZONIZADOR.	73
2. PREPARACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE TIOSULFATO SÓDICO 0.1 N.	73
3. INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP.	75
3.1 <i>Inactivación con ozono.</i>	75
3.2 <i>Inactivación con PS/PMS.</i>	75
3.3 <i>Consumos de ozono.</i>	76
3.4 <i>Inactivación con PMS a diferentes concentraciones.</i>	77
3.5 <i>Consumo de ozono a diferentes concentraciones de PMS.</i>	78
3.6 <i>Inactivación con ajuste de pH.</i>	79
4. DEGRADACIÓN DE SULFADIAZINA.	79
4.1 <i>Degradación con ozono.</i>	79
4.2 <i>Degradación con PMS/O₃.</i>	80

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: DESCRIPCIÓN DE LA SULFADIAZINA	21
TABLA 2: INSTRUMENTAL UTILIZADO EN EL ANÁLISIS DE ENTEROCOCCUS SP.....	22
TABLA 3: REACTIVOS UTILIZADOS EN EL ANÁLISIS DE ENTEROCOCCUS SP.....	23
TABLA 4: CONDICIONES DE INCUBACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP.....	26
TABLA 5: EQUIPAMIENTO UTILIZADO EN EL ANÁLISIS DE SDZ	28
TABLA 6: SALES PERSULFATO ESCOGIDAS PARA LOS ENSAYOS.....	34
TABLA 7: EQUIVALENCIA DE INACTIVACIÓN EN UNIDADES LOGARÍTMICAS.	36
TABLA 8: INFLUENCIA EN LA INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP. DE LAS SALES PERSULFATO	43
TABLA 9: CLASIFICACIÓN DE LOS CONTAMINANTES EMERGENTES 67	
TABLA 10: CLASIFICACIÓN Y USOS DE LOS DIFERENTES FÁRMACOS.....	68
TABLA 11: LISTA DE OBSERVACIÓN DE SUSTANCIAS A EFECTOS DE SEGUIMIENTO A NIVEL DE LA UNIÓN, DE CONFORMIDAD CON EL ARTÍCULO 8 DE LA DIRECTIVA 2008/105/CE.....	69
TABLA 12: LISTA DE OBSERVACIÓN DE SUSTANCIAS A EFECTOS DE SEGUIMIENTO A NIVEL DE LA UNIÓN, DE CONFORMIDAD CON EL ARTÍCULO 8 DE LA DIRECTIVA 2008/105/CE (CONT.)	70
TABLA 13: FAMILIA DE ANTIBIÓTICOS CONSUMIDOS EN UE	71
TABLA 14: RESULTADOS DE CALIBRACIÓN DEL OZONIZADOR	73
TABLA 15: RESULTADOS DE LA ESTANDARIZACIÓN DEL TIOSULFATO SÓDICO.....	74
TABLA 16: RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP. CON O ₃	75
TABLA 17: RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP. CON PMS/O ₃	75
TABLA 18: RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP. CON PS/O ₃	76
TABLA 19: CONSUMO DE OZONO EN OZONIZACIÓN SIMPLE EN INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP.	76
TABLA 20: CONSUMO DE OZONO EN PMS/O ₃ EN INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP.....	76
TABLA 21: CONSUMO DE OZONO EN PS/O ₃ EN INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP.....	77
TABLA 22: RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP. A 0,5 MG/L PMS/O ₃	77
TABLA 23: RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP. A 2 MG/L PMS/O ₃	78
TABLA 24: CONSUMO DE OZONO A 0,5 MG/L PMS/O ₃ EN INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP.	78
TABLA 25: CONSUMO DE OZONO A 2 MG/L PMS/O ₃ EN INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP.	78
TABLA 26: RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP. A 1 MG/L PMS/O ₃ AJUSTANDO PH A LA NEUTRALIDAD	79
TABLA 27: RESULTADOS DE LA DEGRADACIÓN DE SULFADIAZINA CON O ₃	79
TABLA 28: RESULTADOS DE LA DEGRADACIÓN DE SULFADIAZINA CON PMS/ O ₃	81

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: CICLO DEL AGUA.....	2
FIGURA 2: PUBLICACIONES DE LAS ÚLTIMAS DÉCADAS, POR LUSTROS, SOBRE LA PRESENCIA DE CES EN AGUAS RESIDUALES, SUPERFICIALES Y SUBTERRÁNEAS	7
FIGURA 3: FUENTES DE GENERACIÓN DE CES	7
FIGURA 4: IDENTIFICACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP. EN MEDIO SELECTIVO.....	24
FIGURA 5: SIEMBRA POR AGOTAMIENTO.	25
FIGURA 6: SIEMBRA POR EXTENSIÓN.....	25
FIGURA 7: MÉTODO DE FILTRACIÓN POR MEMBRANA	26
FIGURA 8: REPRESENTACIÓN DEL MÉTODO DE DILUCIONES SERIADAS.	27
FIGURA 9: ANALIZADOR DE CARBONO ORGÁNICO TOTAL (TOC A LA DERECHA, AUTOMUESTREADOR A LA IZQUIERDA)	29
FIGURA 10: PHMETRO MODELO CRISON GLP-21	30
FIGURA 11: ESQUEMA DE LA GENERACIÓN DE OZONO POR DESCARGA ELÉCTRICA.....	31
FIGURA 12: ESQUEMA DE LA INSTALACIÓN PARA EL TRATAMIENTO DE MUESTRAS CON OZONO	31
FIGURA 13: ESQUEMA DE LA INSTALACIÓN UTILIZADA PARA LA CALIBRACIÓN DEL EQUIPO.....	32
FIGURA 14: RECTA DE CALIBRADO DEL OZONIZADOR	39
FIGURA 15: RECTA DE CALIBRADO DEL ESPECTROFOTÓMETRO A 254 NM	40
FIGURA 16: INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP MEDIANTE O ₃	40
FIGURA 17: COMPARATIVA DE INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP., P. AERUGINOSA, E. COLI Y C. PERFRINGENS.....	42
FIGURA 19: CONSUMOS DE O ₃ EN LA INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP.....	45
FIGURA 20: COMPARATIVA DE INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP. PARA LOS ENSAYOS CON O ₃ +PMS, A CONCENTRACIONES DE 0,5; 1 Y 2 MG/L DE PMS	46
FIGURA 21: CONSUMOS DE O ₃ MEDIANTE O ₃ +PMS A DISTINTAS DOSIS DE PMS.....	47
FIGURA 22: INFLUENCIA DEL PH EN LA INACTIVACIÓN DE ENTEROCOCCUS SP. MEDIANTE O ₃ +PMS.....	48
FIGURA 23: DEGRADACIÓN DE SDZ Y VARIACIÓN DEL PH MEDIANTE O ₃	49
FIGURA 24: DEGRADACIÓN DE SDZ A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE O ₃	50
FIGURA 25: DEGRADACIÓN DE SDZ A DIFERENTES PH	51
FIGURA 26: DEGRADACIÓN DE SDZ MEDIANTE UV/O ₃ A DIFERENTES PH.....	52
FIGURA 27: DEGRADACIÓN DE SDZ MEDIANTE PMS/O ₃	53
FIGURA 28: CONSUMO DE O ₃ EN LA INACTIVACIÓN DE SDZ MEDIANTE O ₃ Y O ₃ +PMS.....	54
FIGURA 29: SITUACIÓN ACTUAL DE LOS PROCESOS AVANZADOS DE OXIDACIÓN.....	72

Listado de acrónimos

ACRÓNIMO	SIGNIFICADO
ONU	Organización de las Naciones Unidas
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible
CE	Contaminante Emergente
EDAR	Estación de Depuración de Aguas Residuales
ETAP	Estación de Tratamiento de Agua Potable
OMS	Organización Mundial de la Salud
UE	Unión Europea
PNUMA	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>
PAO	Proceso Avanzado de Oxidación
AOP	<i>Advanced Oxidation Processes</i>
IPCS	<i>International Programme on Chemical Safety</i>
DE	Disruptor Endocrino
CCL	<i>Contaminant Candidate List</i>
BFR	<i>Brominated Flame Retardants</i>
CEE	Comunidad Económica Europea
CE	Comunidad Europea
DQO	Demanda Química de Oxígeno
DBO	Demanda Biológica de Oxígeno
SS	Sólidos en Suspensión
JIACRA	<i>Joint Inter-agency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis</i>
ECDC	<i>European Centre for Disease prevention and Control</i>
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
ESVAC	<i>European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption</i>
RBA	Resistencia Bacteriana a los Antibióticos
PRAN	Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
BBD	<i>Boron-Doped Diamond</i>
BRM	Biorreactor de Membrana
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
PCP	Productos de Cuidado Personal
SDZ	Sulfadiazina

1. Introducción y objetivos

A lo largo de los últimos años, la contaminación en los entornos naturales se ha visto incrementada, generando una creciente preocupación ante los posibles riesgos e impactos ecológicos provocados tanto para el bienestar de la población, como para el desarrollo social y económico en sintonía con el medio natural. Con respecto a la contaminación en medios acuáticos, la ONU la define como la presencia de compuestos químicos o de otra naturaleza cuya concentración sea superior a la normal, degradando así la calidad del agua. Al tratarse de un recurso de naturaleza limitada y variable, en cantidad como calidad, es de especial interés su protección. Por ello, España publica en 2018 el “Plan de acción para la implementación de la Agenda 2030” en el que se reflejan los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), siendo el ODS 6 “garantizar la disponibilidad y la gestión sostenible del agua y el saneamiento para todas las personas”, pues el agua es un recurso esencial en la realidad económica, y para el mantenimiento de los ecosistemas.

En las líneas de tratamiento de aguas, tanto naturales como residuales, se han servido habitualmente de procesos biológicos, físicos o químicos con el objetivo de proveer de un agua inocua tanto para el consumo humano como para el medio ambiente general. Con el paso del tiempo, han surgido un nuevo grupo de contaminantes, como lo son aquellos conocidos como Contaminantes Emergentes (CEs). Éstos, cuyo origen es principalmente antropogénico, se originan debido al desarrollo de grandes núcleos de población, y en consecuencia por el aumento de la calidad de vida de las personas. Son agrupados bajo este bloque aquellos compuestos químicos que puedan mostrar efectos adversos para la salud humana y para el medio ambiente, pero de los cuales aún se desconocen riesgos asociados concretos, pues algunos no han sido regulados por la mayoría de los países (Kuster *et al.*, 2008). Algunos de los compuestos que se podrían considerar como CEs son productos de higiene, limpieza, fármacos e incluso drogas. Así lo confirma el estudio de Llamas *et al.*, (2020), llegando a detectar en el río Guadalhorce compuestos como cafeína, antibióticos, repelentes de insectos, protectores solares o productos de limpieza. Algunos de ellos pueden llegar a desarrollar un cuadro epidemiológico derivado de exposiciones a largo plazo (Kümmerer, 2009), como es el caso de presencia de antibióticos en el medio, pudiendo aumentar la presencia de bacterias resistentes (Daughton y Ternes, 1999).

Estos compuestos, y su repercusión, variará en función de la concentración y el lugar en el que se encuentren, teniendo importante efecto en el ciclo del agua. La contaminación de los diferentes compartimentos del ciclo conduce a la alteración de su calidad, siendo su origen múltiple como se ilustra en la *Figura 1* (Barceló y López de Alda, 2008).

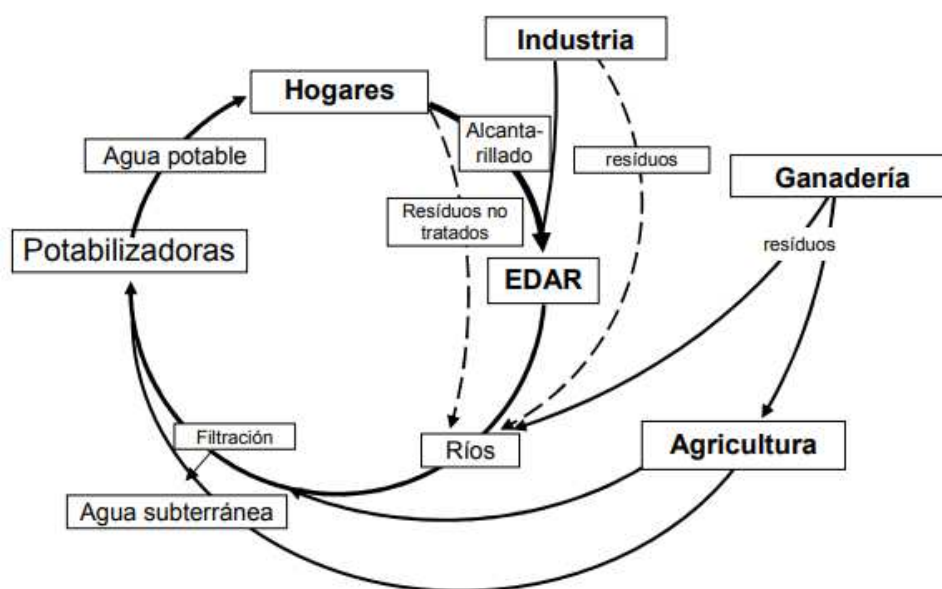


Figura 1: Ciclo del agua. Fuente: Damià Barceló y López de Alda, 2008

En definitiva, los CE son aquellos compuestos relativamente desconocidos, tanto de su presencia como de su posible impacto ambiental. Aunque su presencia en el medio natural no es reciente, la preocupación por sus posibles efectos adversos sí que son de interés por las principales agencias de salud pública y medioambientales, pues puede alterar el medio natural de tal manera que supongan un riesgo para el consumo de agua potable (Knepper *et al.*, 1999), como para la estabilidad de los ecosistemas ante situaciones como la aparición de resistencia bacteriana a los antibióticos, causada principalmente por la ineficiente depuración de estos compuestos así como de sus metabolitos.

Ante la incapacidad de los procesos convencionales de las instalaciones de tratamiento de aguas para dar solución a este problema, se han iniciado investigaciones para el desarrollo de nuevas técnicas en la eliminación y reducción de contaminantes, conocidas como Procesos Avanzados de Oxidación (PAO, o AOP en inglés). Glaze *et al.*, (1987) los definía como aquellos tratamientos físico químicos, realizados a temperatura y presión ambiental, especializados en la generación de radicales hidroxilo, altamente reactivos y no selectivos, capaces de degradar compuestos orgánicos, de

manera *in situ*. Para mejorar su eficacia, se está investigando la combinación de los PAOs con diversos reactivos como catalizadores, UV, sales de persulfato, peróxido de hidrógeno, ozono...

Por ello, el objetivo general de este proyecto es estudiar el uso y aplicación de procesos avanzados de oxidación basados en ozono y sales de persulfato en la eliminación de bacterias y antibióticos. En concreto, se utilizará *Enterococcus sp.* como sustancia representativa de las bacterias y sulfadiazina como antibiótico, ambas sustancias comúnmente detectadas en aguas naturales y residuales.

A continuación, se describen los objetivos específicos aplicados a este fin:

1. Estudio de la inactivación de *Enterococcus sp.* y degradación de sulfadiazina mediante tratamientos basados en O₃
2. Estudio de la inactivación de *Enterococcus sp.* y degradación de sulfadiazina mediante tratamientos basados en sales de persulfato
3. Estudio de la inactivación de *Enterococcus sp.* y degradación de sulfadiazina mediante tratamientos basados en O₃ combinados con sales de persulfato, estudiando las posibles sinergias entre ambos tratamientos.
4. Estudiar la influencia de distintas condiciones de operación en los tratamientos aplicados: pH, tipo y concentración de reactivos en la inactivación *Enterococcus sp.* y degradación de sulfadiazina

El presente estudio se engloba dentro de las líneas de investigación desarrolladas por el grupo de investigación Agua y Salud Ambiental, perteneciente al Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón.

2. Fundamentos teóricos. Antecedentes

Se define como contaminación del agua la alteración, generalmente debida a la actividad humana, de sus características naturales. En concreto, se habla de contaminación cuando las condiciones del agua se ven empeoradas, o existe un riesgo potencial en el uso de las mismas. Es por ello que, aunque el ciclo del agua presente una gran capacidad de regeneración, se habla de contaminación cuando se excede dicha capacidad.

En los siguientes apartados se clasifican y explican algunos de los contaminantes de los cursos de agua, estableciéndose un criterio entre los convencionales; y aquellos cuya preocupación es más reciente, y de los cuales se dispone de limitada información al respecto, como lo son los contaminantes emergentes.

2.1 Contaminantes convencionales en aguas.

Comúnmente, los contaminantes convencionales pueden ser clasificados como naturales o artificiales. Los primeros dependen principalmente de las características de las zonas por las que el cauce del agua discurre. Las sustancias más características son las conocidas como sales minerales, sustancias inorgánicas ionizadas disueltas en el agua como lo son el calcio, magnesio, sodio u otros. Aunque en elevadas concentraciones resultan nocivos para la salud, su eliminación es sencilla.

Por otra parte, los artificiales provienen de fuentes no naturales, producidas a consecuencia de las actividades humanas que resultan peligrosas para los organismos y para el medio ambiente si no se depuran. Éstos pueden clasificarse en ocho grupos:

- a) **Microorganismos patógenos:** se encuentran diferentes tipos de bacterias, virus, protozoos u otros organismos patógenos que transmiten diferentes enfermedades. Algunos de los microorganismos patógenos que habitualmente se utilizan como indicativo de contaminación es la presencia de bacterias coliformes, o de la *E. coli*.
- b) **Sustancias químicas orgánicas:** se engloban todos aquellos compuestos susceptibles de ser degradados por bacterias aeróbicas, en particular por la aportación de contaminación fecal.
- c) **Sustancias químicas inorgánicas:** se incluyen ácidos, sales y metales tóxicos como el plomo y el mercurio.

- d) **Nutrientes inorgánicos:** bajo este grupo se incluyen compuestos de nitrógeno y fósforo, sustancias utilizadas comúnmente en agricultura para el desarrollo vegetal pero que en agua provocan un crecimiento desmesurado de algas y otros microorganismos, conocido como eutrofización.
- e) **Compuestos orgánicos recalcitrantes:** como lo son el petróleo, la gasolina, plásticos, disolventes o detergentes que, al tratarse de productos fabricados por el hombre con estructuras complejas, permanecen largos periodos de tiempo al ser difícilmente degradados por los microorganismos.
- f) **Sedimentos y materiales suspendidos:** se hace referencia tanto las partículas arrastradas del suelo como cualquier otro material. Su presencia es origen de turbidez en el agua, generando problemas de vida para algunos organismos, así como episodios de colmatación.
- g) **Contaminación térmica:** la emisión de aguas a una mayor o menor temperatura disminuye la capacidad de la misma para contener oxígeno disuelto en ella.

2.2 Contaminantes Emergentes en aguas.

Se trata de microcontaminantes de origen sintético o natural capaces de provocar efectos adversos sobre los ecosistemas y sobre la salud humana. La preocupación y el número de estudios sobre los CE es cada vez mayor. Existen un gran número de organizaciones que reconocen la importancia de dichos contaminantes como problema exponencial: Organización Mundial de la Salud (OMS), Unión Europea (UE), Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), la Agencia de Protección medioambiental de Estados Unidos (EPA), el Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS), así como toda la comunidad científica (González, 2013). Pero, al tratarse, la mayoría de ellas, de sustancias desconocidas o no reconocidas, no poseen regulación, pese a que son producidas e introducidas continuamente en el medio ambiente.

Las líneas principales de investigación se centran en la presencia y sus impactos en el medio ambiente y para la salud humana, y las posibilidades de remoción y eliminación. La tesis de González (2013) muestra la tendencia y evolución de los estudios realizados a lo largo de los años, tal y como se observa en la *Figura 2*:

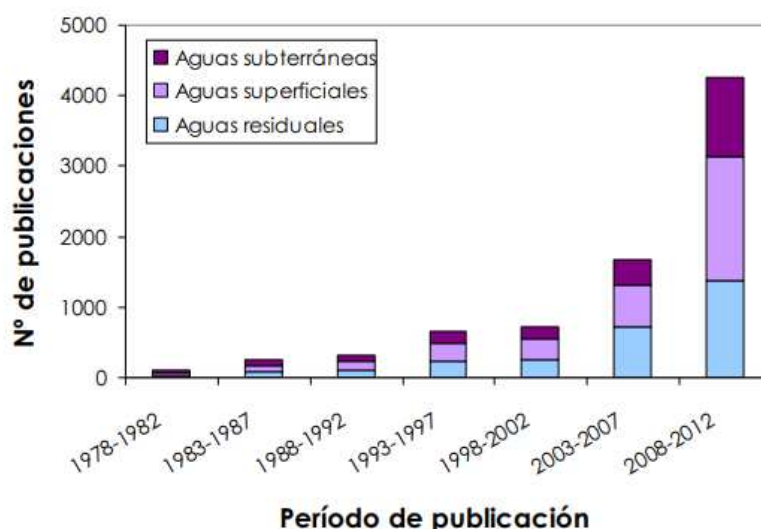


Figura 2: Publicaciones de las últimas décadas, por lustros, sobre la presencia de CE en aguas residuales, superficiales y subterráneas (González, 2013)

La principal fuente de CE son las aguas residuales, más concretamente, la falta de depuración que reciben, como se plantea en la *Figura 3*, pues las plantas de depuración actuales no cuentan con una tecnología suficiente para tratar y degradar estas sustancias que, junto a sus metabolitos¹, acaban en los cursos naturales (Petrovic *et al.*, 2003). Las plantas de depuración actuales, adaptadas a la eliminación de aquellos parámetros convencionales, encuentran su capacidad limitada en la eliminación de estos CE (Prados, 2010; Ratola *et al.*, 2012).



Figura 3: Fuentes de generación de CE (Pal *et al.*, 2010)

¹ Es cualquier sustancia producida durante el metabolismo (digestión u otros procesos químicos corporales). El término metabolito también se puede referir al producto que queda después de la descomposición de un fármaco por parte del cuerpo

Existe un amplio abanico de CEs, que se muestran en el *Anexo I*, junto a los posibles efectos sobre la salud que provocan. Son considerados como los más importantes aquellos que requieren una atención mayor por la escasez de datos, por las vías de exposición y por las evidencias de los impactos y efectos que generan en el medio (López, 2016).

Las evidencias ecotóxicas de estos compuestos se definen en la “*Commission of the European Communities*” (1992), siendo clasificadas a tenor de los resultados obtenidos en experimentos con el organismo *Daphnia magna*:

- a) **Sustancias muy tóxicas:** concentraciones <1 mg/L
- b) **Tóxicas:** concentraciones cercanas a 10 mg/L y,
- c) **Nocivas:** concentraciones situadas entre 10-100 mg/L

Una de las vías de exposición de mayor interés son aquellos contaminantes que actúan como disruptores endocrinos (DEs), afectando principalmente al sistema endocrino², modificando o bloqueando las funciones hormonales, pudiendo aparecer situaciones de feminización o hermafroditismo de los organismos, disminución de la fertilidad y de la eficacia de su apareamiento, o incrementando la tasa de aparición de diferentes tipos de cáncer (Clemente *et al.*, 2013).

Las posibles vías de introducción y aparición en los medios naturales se dan por vías directas e indirectas:

- a) **Directas:** principalmente a través de los fangos y efluentes provenientes de las Estaciones de Depuración de Aguas Residuales (EDARs).
- b) **Indirectas:** provenientes de filtraciones y emisarios de los abonos utilizados en agricultura, piensos para la ganadería, deyecciones y restos de tratamientos y medicamentos usados en este ámbito (Barceló y López, 2008).

Una vez en el medio natural, los CEs pueden experimentar cambios estructurales a causa de procesos bióticos o no, como lo son la hidrólisis, biotransformación y la fotólisis³; o generando en su degradación sustancias más tóxicas, e incluso más bioacumulables, que sus precursores (Escobar, 2019).

² Conjunto de órganos y tejidos del organismo que secretan hormonas.

³ Mecanismos de descomposición de sustancias orgánicas por acción del agua, radiación u otros.

A continuación, se describirán algunos de los principales compuestos englobados dentro de los CEs, tratando en profundidad la repercusión que generan los compuestos farmacológicos en relación al antibiótico estudiado en este trabajo.

2.2.1 Productos farmacéuticos

Los productos farmacéuticos engloban un amplio grupo de compuestos químicos, cuyas consecuencias ambientales han sido de interés en los últimos años. Tras su administración, éstos son metabolizados y excretados pudiendo alcanzar los sistemas acuáticos en pequeñas cantidades (Ankley *et al.*, 2007; Ikehata *et al.*, 2006).

La primera constancia de su presencia fue en los años 70 tras identificar ácido clofíbrico, un metabolito activo de varios reguladores de lípidos, en aguas residuales de EEUU; aunque no fue hasta 20 años después cuando se comenzó a investigar, y actualmente no cuenta con normativa ambiental ni estándares de vertimiento (Tejada *et al.*, 2014).

Los productos farmacéuticos son un grupo compuesto por un gran abanico de sustancias, de las cuales se detalla a continuación aquellas más comunes e importantes que han sido detectadas y analizadas en los cursos naturales de aguas (Tejada *et al.*, 2014). Los diferentes usos de los fármacos mencionados en este trabajo se exponen en el *Anexo II*.

- **Analgésicos.**

Representan una parte importante del consumo mundial, considerados como los de mayor automedicación, destinadas principalmente al tratamiento de inflamaciones y dolor, para aliviar los síntomas de fiebre (Fent *et al.*, 2006). Uno de los compuestos más consumidos, el paracetamol, en ambientes acuáticos puede provocar lesión hepática, nefrotoxicidad⁴ y complicaciones gastrointestinales (Olaleye y Rocha, 2008).

- **Reguladores de lípidos y betabloqueadores.**

Los betabloqueadores bloquean los receptores presentes en el corazón, disminuyendo el ritmo cardíaco con el objetivo de combatir la hipertensión arterial, arritmias, anginas de pecho, etc. Los antilípidos se utilizan principalmente para bajar los niveles de colesterol en sangre.

⁴ Lesiones localizadas en el riñón, más concretamente en su unidad estructural, las nefronas.

Ambos tipos de compuestos han sido detectados y analizados en aguas residuales por Correia *et al.*, 2015. Se ha demostrado que, en presencia de la fauna, afecta a la capacidad de los peces para intercambiar los niveles de oxígeno (Owen *et al.*, 2007).

- **Antipiréticos y antidepresivos.**

Son medicamentos destinados a aumentar la actividad de ciertos neurotransmisores, reduciendo el funcionamiento de ciertas áreas del cerebro, induciendo al paciente en una somnolencia y relajación muscular (Colerangle y Roy, 1997).

Por parte de la Universidad de Monash, en Australia, se estudió cómo el antidepresivo fluoxetina comprometía la resiliencia de las poblaciones ictiológicas al reducir las diferencias en el comportamiento de los propios individuos (Polverino *et al.*, 2021).

- **Antibióticos.**

Son los compuestos que mayor interés suscitan, consumiéndose a nivel europeo en cantidades que se asemejan a la de los pesticidas (Jones *et al.*, 2001).

Aquellos más perjudiciales se encuentran englobados en el grupo de los citostáticos, destinados al tratamiento del cáncer, que en el medio natural puede provocar episodios de carcinogenicidad, mutagenicidad y teratogenicidad⁵ (Rodríguez *et al.*, 2004). Los medicamentos prescritos en medicina veterinaria hacia actividades como acuicultura, ganadería o avicultura acaparan gran parte de los desechos a la red de agua.

Como la Directiva Marco del Agua no aborda estas nuevas inquietudes, la Comisión Europea realizó una evaluación de la misma y publicó los informes “*Evaluation of the Urban Waste Water Treatment*” y “*European Union Strategic Approach to Pharmaceuticals in the Environment*” (European Commission, 2019a; 2019b). En ellos se establece la necesidad de recopilar información para evaluar los riesgos medioambientales y para la salud humana que provocan estos contaminantes. Por ello, algunos antibióticos, así como otros compuestos de interés emergente, se introdujeron en la lista de observación de sustancias en seguimiento⁶ a nivel de la Unión

⁵ Que causa daño y, en un sentido estricto, malformaciones en el feto durante cualquiera de sus etapas de desarrollo.

⁶ Análisis y seguimiento de sustancias que pueden acabar clasificadas como prioritarias.

Europea, como se puede observar en el *Anexo III*, aprobada por la Decisión de Ejecución 2018/840 de la Comisión de 5 de junio de 2018 en conformidad con la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo.

En cuanto al consumo de antibióticos en salud humana y sanidad animal, según el informe JIACRA (*Joint Inter-agency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis*) elaborado por el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC), la Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria (EFSA) y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), se pueden conocer los antibióticos y familias de antibióticos más consumidos. En concreto, se trata de betalactámicos, glucopéptidos y aminoglucósidos, familias de antibióticos que se muestran en el *anexo IV*.

En sanidad animal y según el último informe ESVAC (*European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption*) disponible, realizado por la EMA, es España el país europeo que presenta mayores ventas de antibióticos (seguido de Italia y Alemania), siendo las tetraciclinas, betalactámicos-penicilinas y lincosamidas los grupos de antibióticos más vendidos y que representan el 70% del total. Es el sector ganadero uno de los mayores consumidores de antibióticos, encabezado por las explotaciones de porcino (Binh *et al.*, 2018; Shi *et al.*, 2020).

Estudios como Boyd *et al.*, (2003) y Kim *et al.*, (2007) han detectado estos contaminantes en aguas superficiales a causa de una degradación incompleta; así como los estudios de Drewes *et al.*, (2002), Mompelat *et al.*, (2009) y Stackelberg *et al.*, (2004) demostraron la presencia de estos antibióticos y otros contaminantes en las aguas potables. Se ha demostrado que algunos antibióticos producen efectos adversos sobre organismos acuáticos como las algas, inhibiendo su desarrollo y crecimiento (Zuccato *et al.*, 2006). Sin embargo, son tantos los tipos de antibióticos utilizados hoy en día que el posible efecto que pueden producir en distintos organismos es todavía desconocido. Debido al uso excesivo de los antibióticos, el problema fundamental es la aparición de resistencia bacteriana (RBA) a una exposición continuada o crónica, desarrollando la capacidad para sobrevivir a diferentes concentraciones de antibiótico (Alós, 2015).

A lo largo de los años son muchas las bacterias que han desarrollado resistencia a antibióticos. Ejemplo de ello son las cepas de *Staphylococcus aureus*, resistentes a la penicilina y algunos macrólidos; cepas de *Enterococcus* y *Pseudomonas*, resistentes a algunos betalactámicos, glucopéptidos y aminoglucósidos; y más concretamente, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y varias *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* entre ellas, resistentes a los carbapenemes y a algunas cefalosporinas,

considerados como patógenos prioritarios de nivel crítico, y *Campylobacter* y *Salmonella sp.* resistentes a las fluoroquinolonas y considerados como patógenos prioritarios de nivel alto para la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos según la Organización Mundial de la Salud, en su informe de 2016 (O.M.S., 2016). Debido a la confirmada presencia de antibióticos en las aguas, y la grave problemática asociada a nivel mundial, se decide trabajar en este trabajo con un antibiótico y una bacteria como sustancias objeto de estudio.

2.2.2 Otros contaminantes emergentes.

- **Hormonales esteroides**

Tanto naturales como sintéticas son las encargadas de controlar el sistema endocrino e inmunológico, que en medio natural pueden actuar como DEs.

En ambientes acuáticos generan alteraciones endocrinas documentadas, que pueden derivar a casos de hermafroditismo en peces, o en el desarrollo de órganos sexuales deformados en reptiles. El estudio en invertebrados no ha suscitado gran interés pese a representar el 95% de las especies presentes, y cuyas consecuencias se centran principalmente en las evidencias causadas en el desarrollo reproductivo y de fecundidad (Matozzo *et al.*, 2008).

- **Pesticidas y biocidas**

Se trata de sustancias tóxicas destinadas a la prevención y mitigación de plagas y organismos no deseados. Son el grupo del cual se tiene un mayor conocimiento acogidos a una legislación minuciosa. La amplia bibliografía respecto a su problemática ambiental ha determinado la inclusión de muchos de estos compuestos en la lista de contaminantes candidatos (*Contaminants Candidate List, CCL*) por la USEPA. Un ejemplo actual sucede con el uso de glifosato, un herbicida ampliamente utilizado y regulado ya por muchos países. La degradación bacteriana del glifosato produce amino metilfosfónico (AMPA), del cual se ha comprobado su repercusión sobre la salud, centrados en la hemólisis y el daño a la membrana celular a nivel de laboratorio (Grandcoin *et al.*, 2017).

- **Productos de cuidado higiénico y personal**

Algunos de los más comunes son los perfumes, la protección solar o los repelentes de insectos, pasta de dientes, cosméticos, detergentes... Su presencia genera resistencia microbiana y biocida, alterando los receptores biológicos de la actividad estrogénica, o un incremento del poder cancerígeno en roedores (Bolong *et al.*, 2009).

Comúnmente son conocidos como Productos de Cuidado Personal (PCP), que por su naturaleza lipofílica los hace proclive a acumularse en sedimentos o en el tejido lipídico de organismos vivos (Molins, 2017).

- **Parafinas cloradas**

Utilizadas principalmente en el sector textil como plastificantes en cauchos, plásticos, tintes, adhesivos y revestimientos. Clasificadas como agentes muy tóxicos en organismos acuáticos, con una preocupante bioacumulación persistente (Barceló y López, 2008). Presenta un fuerte carácter lipofílico, habiéndose aislado en mamíferos, aves y peces, principalmente en tejido adiposo.

- **Surfactantes**

Son productos usados en limpieza, como detergentes o agentes espumantes; aislándose en industrias como papel y de celulosa, en combustibles y lubricantes (Gil *et al.*, 2012). En medios acuáticos reducen la dureza superficial del agua y pueden tener efectos cancerígenos (Farré *et al.*, 2008).

- **Drogas ilícitas**

Se trata de un problema tanto poblacional como medioambiental, produciendo graves efectos sobre el medio tanto por su presencia, como por la aparición de sus metabolitos. Éstas entran en la red de agua tanto en su forma inalterada, como sus metabolitos a partir de las excreciones, sudor u otras razones (Pal *et al.*, 2013).

- **Retardantes de llama bromados**

Conocidos por sus siglas BFRs, entre los que destacan el bisfenol A, se emplean para una amplia variedad de productos comerciales como tejidos, muebles, aparatos electrónicos, etc. De ellos se destaca su capacidad tóxica como disruptor endocrino, cancerígeno y como neurotóxico (Barceló y López, 2008).

- **Compuestos perfluorados**

Los detergentes perfluorados es un caso de un compuesto ampliamente distribuidos por su uso industrial en numerosos sectores. Se ha detectado y aislado en sangre e hígado humano, así como en hígado y grasa animal, y aguas subterráneas y superficiales (Villagrasa *et al.*, 2006). Existe consenso en la urgencia por conocer e investigar las vías de introducción al medio ambiente, así como las vías de exposición en humanos.

2.3 Tipos de operaciones en el tratamiento de aguas.

En los siguientes apartados se describirán las operaciones básicas principales en potabilizadoras y depuradoras para tratar y eliminar los posibles contaminantes recogidos en la legislación vigente (B.O.E., 2003; D.O.C.E., 1991); así como los procesos avanzados de oxidación recientemente destinados a la eliminación de los compuestos emergentes anteriormente mencionados.

2.3.1 Procesos Convencionales.

Procesos físicos

Son englobados en este apartado todos aquellos procesos en los que, aquellas sustancias implicadas, no cambian su composición a lo largo del tratamiento.

- **Desbaste**

Consiste en la eliminación de aquellos denominados sólidos gruesos, quedando retenidos en rejillas o tamices. La separación de sólidos grandes evita los daños y obstrucciones en las bombas o cualquier otro elemento de posteriores sistemas.

- **Desarenado – desengrasado.**

Por contraparte, la eliminación de los sólidos sedimentables se realiza en los denominados desarenadores, donde la velocidad de circulación del agua se ve reducida facilitando la deposición de dichos sólidos. Éstos suelen combinarse en la eliminación de las grasas, pues ante la reducción de velocidad del agua éstas tienden a acumularse en la superficie.

- **Homogenización de caudales**

Operación cuya función es regular el caudal y la contaminación del agua para que sea constante en las operaciones posteriores.

- **Sedimentación**

Es la separación, en los sedimentadores, de los componentes del agua en dos fases: los sólidos suspendidos que formarán los fangos, depositados por gravedad debido a su peso; y la líquida formada por el agua y los compuestos en disolución.

- **Flotación**

Se encuentra como una alternativa a la sedimentación. Puede ser un proceso asistido mediante un aireador, obligando a ascender los sólidos a la superficie de donde son retirados.

- **Filtración**

El siguiente proceso permite la eliminación eficiente de sólidos en suspensión pasando la corriente de agua a través de lechos filtrantes, generalmente compuestos por material granular, por medio de diferentes membranas que variarán en función del compuesto a eliminar.

Procesos químicos

En este apartado se engloban todos aquellos procesos en los que la eliminación del contaminante se realiza mediante la adición de reactivos químicos y que, por tanto, el contaminante a eliminar sufre un cambio en su composición, pudiendo ser fácilmente retirado.

- **Precipitación química**

Consiste en la adición de productos químicos alterando el estado físico de las sustancias disueltas o en suspensión. Se compone de tres fases principales: la coagulación, la floculación y la sedimentación.

La coagulación, como primer paso, consiste en la adición de ciertos reactivos, siendo los más comunes el sulfato de aluminio, el sulfato ferroso, o el hidróxido cálcico, con la finalidad de facilitar la aglomeración de los contaminantes a eliminar. En su segunda fase, la floculación, se basa en la unión de los flóculos ya formados, aumentando su volumen progresivamente, con la finalidad de aumentar su velocidad de sedimentación para su posterior retirada.

- **Oxidación - Desinfección**

Consiste en la eliminación de sustancias por vía química mediante agentes oxidantes. Cobra especialmente interés cuando las sustancias a eliminar son organismos vectores de enfermedades (desinfección), como bacterias, virus y quistes de amebas (Sans, 1999).

Procesos biológicos

El principal objetivo de esta fase es la estabilización y eliminación de la materia orgánica presente en las aguas mediante el uso de una variedad de microorganismos. El funcionamiento se basa en el crecimiento de los organismos haciendo uso de la materia orgánica presente, a consecuencia aumentan el tejido celular precipitando en el reactor por decantación. Los microorganismos más utilizados son bacterias, algas, rotíferos, protozoos, hongos y crustáceos (Sans, 1999).

2.3.2 Procesos Avanzados de Oxidación

Ante la aparición de compuestos que persisten a los procesos mencionados anteriormente, nacen los PAOs como respuesta para dar solución a este problema. En una aproximación inicial, Glaze *et al.*, (1987) definía a los PAOs como todos aquellos tratamientos físico-químicos de aguas realizados a presión y temperatura ambiental, en el cual se necesita generar radicales hidroxilos que reaccionarían con los compuestos orgánicos del medio. Estos radicales son agentes oxidantes de gran rendimiento, pues son altamente reactivos, no son selectivos, y fáciles de producir.

Históricamente, el cloro ha sido el recurso principal en la labor de oxidación - desinfección. Sin embargo, las investigaciones llevadas a cabo por Rook y Bellar (1974) describían la formación de subproductos organoclorados de naturaleza nociva para la salud humana (Maldonado, 2012). Es por ello que, fruto de las limitaciones existentes en los procesos de desinfección convencionales, se investigaron alternativas viables, dando lugar a los PAOs, especializados en la generación de especies radicalarias oxidativas poco selectivas, que en su acción no produjesen ningún subproducto peligroso. Estas especies radicalarias, principalmente se conforman de especies reactivas de oxígeno (ROS), capaces de influir en la desinfección o conseguir la total mineralización de algunos compuestos (Glaze *et al.*, 1987). Los principales radicales formados son los hidroxilos (OH^\cdot), superóxidos (O_2^\cdot), hidropéroxido (HO_2^\cdot) y moléculas de peróxido de oxígeno (Maldonado, 2012).

La actual tendencia observada es la combinación o hibridación de los procesos que integran estos métodos, con el fin de mejorar la eficacia en la degradación de los contaminantes, o en la reducción de problemas individuales que presentan. Los principales estudios se centran en la eficacia de mineralización de ciertos compuestos como los aromáticos, farmacéuticos o pesticidas. En contraposición, existe la preocupación de formación de metabolitos o subproductos que pueden llegar a ser más

tóxicos, e incluso resistentes a la degradación química, como sucede con el uso del ozono en la eliminación de ciertos CEs (Homem y Santos, 2011).

Las actuales investigaciones se centran en llevar a cabo los PAOs con una gran variedad de reactivos, que dan lugar a un amplio abanico de procesos que se introducen en el *Anexo V*. A continuación, se presentan los procesos avanzados que han sido objeto de estudio en este trabajo.

2.3.3.1 Ozonización.

El ozono es un elemento conocido por su indispensable contribución en la filtración de la radiación ultravioleta del sol. Pero otra de las facetas del ozono es su capacidad de actuar en los procesos de degradación y tratamientos de desinfección, pues es uno de los compuestos químicos más oxidantes, que incluso supera la capacidad del cloro. Además de su eficiente poder oxidante, es remarcable la capacidad de no generar subproductos organohalogenados cancerígenos al reaccionar con materia orgánica, salvo en presencia de bromuros en el medio (von Gunten, 2003).

Su actividad es selectiva, en concreto degrada principalmente los grupos funcionales ricos en electrones, reaccionando de manera directa con toda sustancia orgánica pero lentamente; o modificando las condiciones hacia un medio alcalino, haciendo que el proceso pueda acelerarse y deja de ser selectivo (Liu *et al.*, 2007). Ello le confiere una capacidad óptima en los procesos de eliminación de olores, color y sabor, entre otros factores, para las aguas potables o residuales, así como la oxidación de hierro, manganeso, sulfuros, fenoles; o evitar el asentamiento de larvas acuáticas, como podría suceder con el mejillón cebra y la almeja asiática (EPA, 1999).

Es por ello que su uso en la eliminación de CEs es totalmente viable, así como lo es su viabilidad económica, estimándose en 0,01 – 0,05 €/m³ (Davis, 1970); pero tanto su uso como su costo se optimizan al combinarlo con otras técnicas utilizadas en la desinfección. A continuación, se describe la ozonización llevada a cabo en este estudio, así como una breve descripción de las posibles combinaciones existentes a este fin:

La efectividad del ozono depende en gran medida de la naturaleza de la matriz acuosa. En función de las condiciones del medio, el ozono puede reaccionar a través de dos vías, que se conocen como directa e indirecta. Por vía directa, actúa el ozono molecular favorecido por pH ácidos. Si el medio fuese alcalino, actuaría la vía indirecta, favoreciendo la formación de especies radicalarias producto de la descomposición del

ozono, pero lastrado por la presencia de lo que se conocen como “secuestradores” (*scavengers*), que reaccionan con los compuestos radicalarios.

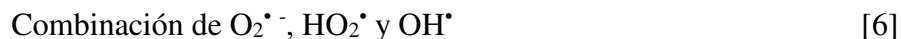
Fueron los estudios por parte de Staehelin *et al.*, (1985) y Tomiyasu *et al.*, (1985) en los que se describió el proceso de formación de los radicales por medio de tres fases diferenciadas. En primera parte, tenía lugar un proceso de iniciación en el que rápidamente el ozono se descompone como se puede ver en las *reacciones 1-3*:



En la segunda fase, de propagación, los productos continúan reaccionando con el ozono suministrado, como muestran la *reacción 4 y 5*:



Por último, tiene lugar la fase de terminación como se observa en la *reacción 6*, en la que se da una combinación de los radicales formados participarán en la degradación activa de los compuestos orgánicos:



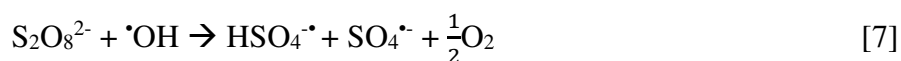
A un pH 8, la vida media del ozono es inferior a una hora, por lo que su uso se desaconseja como desinfectante residual en la red de distribución de agua potable (Gracia *et al.*, 1999).

2.3.3.2 Radicales sulfato.

Los PAOs centrados en los radicales sulfato se han extendido últimamente por su gran capacidad de reactividad frente a compuestos orgánicos y su alta selectividad, ante compuestos como pesticidas, cianotoxinas y ácidos alifáticos y aromáticos (Yang *et al.*, 2015). Generalmente, estos radicales se obtienen mediante la activación de los precursores utilizados como los iones peroximonosulfato, HSO_5^- (PMS), y los persulfato, $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ (PS). Para su activación es necesaria la participación de ciertos reactivos, como la radiación, ultrasonidos, medios alcalinos, oxidantes, o junto a metales de transición.

Presentan una serie de ventajas a comparación con los otros PAOs, como es un mayor potencial oxidativo, menor selectividad y mayor eficiencia en la eliminación de compuestos con presencia de enlaces insaturados (Wang y Wang, 2018). Ello se debe a que la participación de estas sales, se incrementa en gran medida la formación de radicales oxidativos que intervienen en el proceso. Los estudios por parte de Deniere *et al.*, 2018 y Yang *et al.*, 2016 describieron las vías por las que estos radicales se formaban.

Por su parte, la investigación de Yang *et al.*, (2016) estableció las reacciones ocurridas con el PS y la formación de los radicales de sulfato tras su activación, como se observa en las *reacciones 7-9*:



Las condiciones ambientales como temperatura, pH y la composición de la matriz del agua repercuten en gran medida sobre la activación PS y PMS y, por ende, sobre la eliminación de los compuestos orgánicos. En aguas naturales, la presencia de iones carbonato, bicarbonato, fosfato, nitrato y nitrito actuaron negativamente sobre los radicales de sulfato, así como la materia orgánica, presente en elevada concentración en aguas residuales, actúa como *scavenger* del sistema

2.3.3.3 Tratamientos combinados.

Como se ha mencionado, los PAOs actúan mediante un mecanismo básico de generación de radicales libres. Por consiguiente, la combinación de algunos de estos procesos avanzados dará lugar a la generación de una mayor concentración de éstos mismos, por lo que aumentará la velocidad de las reacciones ocurridas. Asimismo, las carencias de algunos procesos pueden ser eliminados por las características de los otros. Como se ejemplifica en el *Anexo V*, puede existir un amplio abanico de posibles combinaciones, estableciéndose una línea divisoria entre aquellos que se realizan bajo una fuente de radiación o no. En combinación con el ozono se pueden distinguir los siguientes procesos combinados:

- **Sistema peroxona:** Se trata de la combinación de la ozonización con peróxido de hidrógeno. Al igual que sucede con la ozonización alcalina, su rendimiento se basa en la vía radicalaria.

- **Ozonización catalítica:** Se trata de la combinación y el uso de catalizadores que facilitan y aumentan la producción de los radicales reactivos. Para ello se recurre al uso de metales de transición.
- **UV-O₃:** En este caso, la adición de UV incrementa la velocidad de las reacciones fotoquímicas de la materia orgánica, que puede complementarse del mismo modo junto al sistema peroxona.
- **Sales persulfato:** En el caso de la intervención del PMS, la secuencia de reacciones en el sistema se presentan a continuación. En primer lugar, su grupo peroxi puede reaccionar con el ozono presente (*reacción 10*):



El producto resultante puede descomponerse en dos posibles vías paralelas (*reacción 11 y 12*):



A este punto, la primera formación de los radicales hidroxilo se deben a las *reacciones 13 y 14*:



Al mismo tiempo, el compuesto $\text{SO}_5^{\cdot-}$ puede participar en varias reacciones posibles. La primera de ellas sucede si reacciona directamente con el ozono presente, dando lugar a la *reacción 15*:



Asimismo, puede dar lugar a las siguientes reacciones a causa de la inestabilidad de la misma molécula:



De este modo, en el sistema no sólo intervienen los radicales hidroxilo (representados en la *reacción 14*), sino que a su vez intervienen otros radicales de gran capacidad oxidativa, como lo son los radicales sulfato (representados en las *reacciones 16 y 17*).

3. Material y métodos

3.1 Muestras

3.1.1 Preparación de las muestras de *Enterococcus sp.*

Existen ocasiones en las que las muestras no contienen las bacterias de estudio de manera natural. Los ensayos de este experimento se han realizado en agua destilada, por lo que se debe aumentar la concentración bacteriana por medio de un proceso denominado “fortificación”. Para ello, el laboratorio donde se ha realizado el siguiente estudio dispone de diferentes cepas puras. Se escoge un vial con una muestra pura para *Enterococcus sp.* y se cultivan en agar nutritivo. Éstas se reservan en frío por no más de un periodo de 14 días, para poder asegurar que se encuentran en un estado óptimo para su uso en la experimentación.

Para facilitar la fortificación de la muestra de agua destilada a partir de las placas con agar ya cultivadas, se procede a hidratar el medio con suero fisiológico, pasando un asa de siembra con la finalidad de separar las bacterias del medio más fácilmente. El objetivo es fortificar en todos los ensayos a concentración inicial de 10^7 - 10^8 UFC 100 ml^{-1} .

Para mantener dichas condiciones constantes, se mide la muestra fortificada a una longitud de onda de 625 nm, consiguiendo una absorbancia cercana a 0,2. De manera previa, se realiza una recta de calibración que relacione las poblaciones bacterianas existentes en la muestra con su absorbancia, con lo que se puede controlar las condiciones de experimentación a inicio de la desinfección.

3.1.2 Preparación de muestras de sulfadiazina

El antibiótico objeto de estudio, la sulfadiazina, se preserva en frigorífico para su mantenimiento. Las características del antibiótico utilizado se muestran en la *tabla 1*:

Tabla 1: Descripción de la sulfadiazina

Antibióticos	Marca	Nº CAS	Peso molecular
Sulfadiazina	Sigma Aldrich	68-35-9	250,25 g/mol

La concentración a la que se han realizado todos los ensayos es de 15 mg/L de sulfadiazina preparado en agua destilada.

3.2 Metodología analítica

3.2.1 Análisis de *Enterococcus sp*

El desarrollo de los análisis bacteriológicos se compone de una serie de etapas comunes: preparación de las muestras, así como de los medios de cultivo, esterilización de todo el material en autoclave a (121 °C y 1 bar durante 15 minutos), la siembra de las muestras, la incubación de las mismas y finalmente el recuento de las colonias formadas.

Todos los procedimientos mencionados se realizan bajo un mechero Bunsen para proporcionar una atmosfera de esterilidad, con lo que se evita posibles fuentes de contaminación y evita la invalidez de los resultados obtenidos.

- **Equipamiento de laboratorio**

A continuación, se enumera el equipamiento utilizado en el análisis de *Enterococcus sp.*:

Tabla 2: Instrumental utilizado en el análisis de Enterococcus sp.

INSTRUMENTO	MARCA	FUNCIÓN
ESTUFAS DE CULTIVO	J. P. Selecta	Cultivo bacteriológico
AUTOCLAVE	J. P. Selecta	Esterilización del material
MECHERO BUNSEN		Atmosfera de esterilidad
MICROPIPETAS	Acura	Medición y adición de volúmenes
ESPECTROFOTÓMETRO	Helios α	Medición de turbidez
PLACAS PETRI		
BALANZAS	Sartorius	Pesaje de reactivos
AGUA DESTILADA	Wasserlab	Generación de agua destilada

Del mismo modo, se enumerarán los reactivos utilizados a lo largo del análisis de *Enterococcus sp.*:

Tabla 3: Reactivos utilizados en el análisis de *Enterococcus sp.*

Reactivo	Marca
Ioduro potásico	PanReac
Tiosulfato sódico	PanReac
Almidón (1%)	Scharlau
Ácido clorhídrico	PanReac
Agar Slanetz Bartley	Scharlau
Agar nutritivo	Scharlau
TTC (1%)	Scharlau

- **Medios de cultivo**

Para permitir el crecimiento de microorganismos en el laboratorio, es necesario aportarles un medio con nutrientes y condiciones fisicoquímicas adecuadas para su desarrollo. El medio de cultivo es aquel que contiene agua y una serie de nutrientes, necesarios para su metabolismo y crecimiento. Un componente importante que permite elaborar los medios de cultivo sólidos que se han utilizado es el agar, un polisacárido procedente de algas marinas que lo hace el gelificante más adecuado en el cultivo de microorganismos debido al escaso número de organismos que tienen capacidad de degradarlo. Según la utilidad de éstos se distingue principalmente entre:

- **Nutritivo:** Permiten el crecimiento de la mayoría de los microorganismos, por ser muy generales.
- **Selectivos:** Presentan algún componente que impide el desarrollo de microorganismos no deseados. Esto hace que el microorganismo que se desea cultivar lo haga con mayor facilidad.
- **Diferenciales:** Contienen sustancias que ponen de manifiesto alguna característica de la especie o grupo de microorganismos.

Se utiliza medios sólidos que son necesarios hidratar con agua destilada y llevar a ebullición para acabar esterilizándolos y posteriormente servidos cuando su temperatura ronde los 50 °C en placas Petri dejándolos solidificar en una superficie plana, evitando las burbujas, para conseguir el mayor homogeneizado posible.

Para cultivar las bacterias que se requieren en la fortificación de las muestras, se utiliza Agar nutritivo de Scharlau, y para cultivar las muestras con bacteria tras la experimentación se ha escogido el medio Agar Slanetz y Bartley de Scharlau que lo hace selectivo el contener cristal violeta, ya que inhibe el crecimiento de bacterias Gram-negativas y hongos, facilitando el desarrollo de bacterias Gram-positivas como es el caso de la bacteria de estudio a desinfectar en este proyecto, *Enterococcus sp.* También es diferencial debido a que se tintan las colonias, gracias al indicador cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) al 1% Solución estéril que será necesario añadir cuando el medio hidratado haya sido autoclavado y atemperado a 50°C apareciendo así las bacterias de color rosa intenso, facilitando la identificación y conteo de las colonias.



Figura 4: Identificación de *Enterococcus sp.* en medio selectivo.

Fuente: Maldonado, 2012

- **Técnicas de siembra**

Antes de extraer cualquier cantidad de muestra para realizar un método de siembra se procede a la agitación de la muestra origen con ayuda del equipo Agitador Vórtex. Los métodos aplicados en este estudio son dos:

Técnica de aislamiento por estrías o agotamiento.

Método utilizado para la fortificación de las muestras con la bacteria de estudio. Éstas se conservan congeladas a -20°C en viales con leche desnatada esterilizada. Tras su descongelación y utilizando el asa de siembra, se extraen inóculos que se extenderán sobre la superficie de una placa Petri con Agar nutritivo (marca Scharlau) - no es necesario utilizar un medio selectivo ni diferencial ya que se agrega con total seguridad *Enterococcus sp.* como indica el etiquetado de los viales- realizando estrías paralelas desde el borde de la placa hasta que se vuelva al punto de partida acabando con la misma técnica hacia el centro intentando no superponer las colonias agregadas para que puedan crecer de manera aislada.

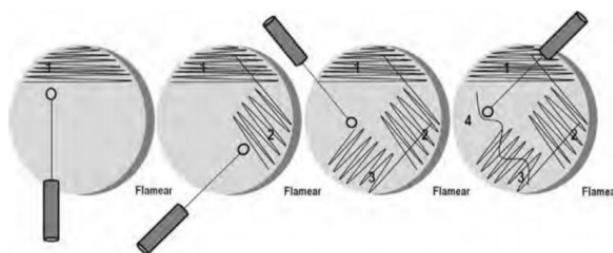


Figura 5: Siembra por agotamiento. Fuente: Carnicer, 2019.

Técnica de siembra por extensión.

El método de siembra empleado sigue el método estándar 9215.C (Eaton *et al.*, 2005). Para ello, se añade una cantidad de 100 μL de la muestra a analizar en el centro de placas Petri con Agar Slanetz y Bartley (marca Scharlau), que se homogeneiza por la superficie de los medios con ayuda de varillas de vidrio curvado y moviendo las placas circularmente hasta notar que el medio ha absorbido la muestra totalmente.

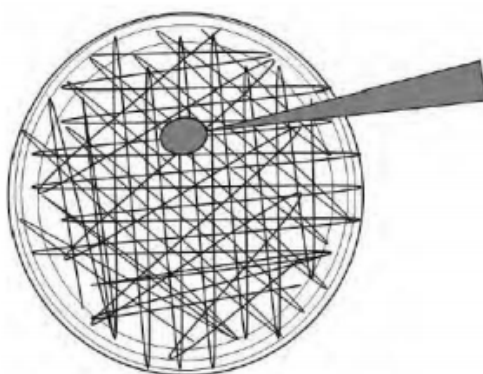


Figura 6: Siembra por extensión. Fuente: Carnicer, 2019

Técnica de filtración por membrana.

Por el contrario, si se espera un número no muy elevado, se procederá a realizar la técnica de filtración conforme al método empleado por Rojas (2011) y Valero Lázaro (2017). Para ello, se realizan filtraciones de distintos volúmenes de muestra evitando el colmatado. Con la correspondiente colocación con pinzas de un filtro de membrana de 0,47 μm de poro y el embudo esterilizado, se lleva a cabo el proceso en la rampa de filtración que, después de hacer pasar con ayuda de una bomba de vacío la muestra que corresponda, se coloca el filtro con la cuadrícula y las colonias hacia arriba en la superficie del medio de las placas Petri con Agar Slanetz y Bartley realizando su correcta colocación quedando todo el elemento en contacto con la superficie.

Se procede a realizar cada paso flameando los elementos implicados y utilizando agua destilada autoclavada para evitar que se quede muestra sin filtrar además de mejorar el filtrado si las membranas están previamente hidratadas.

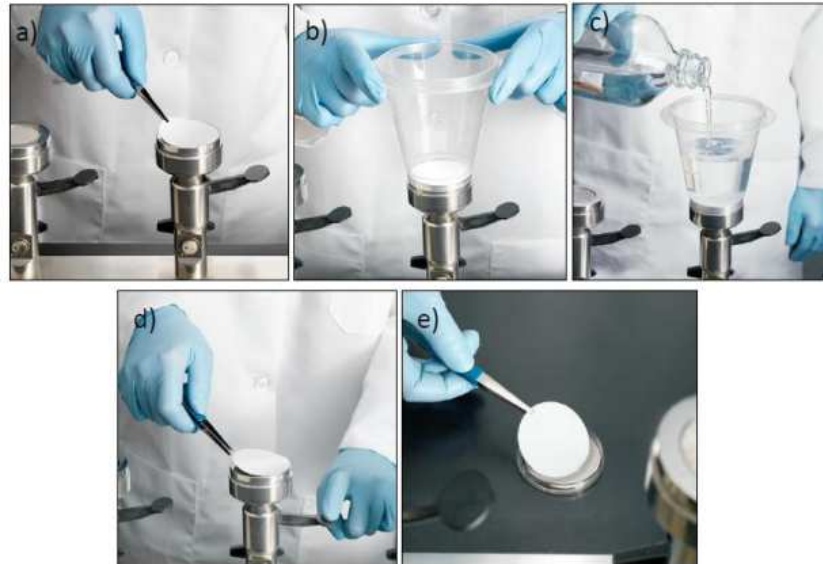


Figura 7: Método de filtración por membrana. Fuente: Millipore

- **Incubación**

Una vez las placas han sido sembradas, se introducen en la estufa a la temperatura adecuada y el tiempo requerido para el crecimiento bacteriano. Las placas se van a colocar en la estufa boca abajo para evitar que el agua que condensa en la tapa de la placa caiga sobre el medio de cultivo:

Tabla 4: Condiciones de incubación de Enterococcus sp.

Bacteria	Temperatura de incubación (°C)	Tiempo de incubación (h)
<i>Enterococcus sp.</i>	36 ± 2	44 ± 4

- **Recuento de colonias.**

A menudo, la concentración de colonias será tan elevada, que su conteo resultará imposible. Es por ello que se lleva a cabo diluciones sucesivas. Este método consiste en diluir las muestras para tener la capacidad de interpretar los resultados de los experimentos, por tanto, las UFC formadas deben ser contables. Consiste en preparar tubos esterilizados con 9 mL de disolvente. Se utiliza siempre solución salina estéril (0,9 % NaCl), a los cuales se les añadirá 1 mL del experimento contaminado a analizar. Si aún se estima que una muestra de esa dilución sigue estando demasiado concentrada

para su conteo, se procede a retirar 1 mL del tubo primeramente diluido a otro tubo con 9 mL de solución disolvente para reducir otro orden de magnitud más. Se continuará haciendo diluciones hasta estimar que va a ser posible el conteo del sembrado posterior. Se reduce por tanto de manera lineal teóricamente tanto el volumen de muestra original a analizar como en número de unidades formadoras de colonias (UFC) que contiene, tal y como se muestra en la siguiente figura:

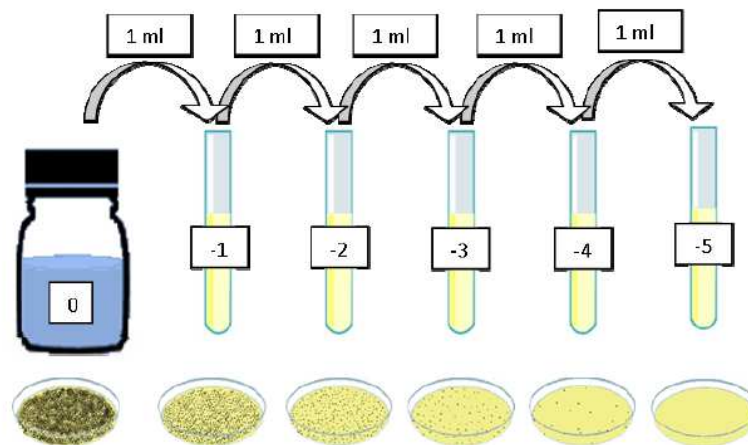


Figura 8: Representación del método de diluciones seriadas. Fuente: Maldonado, 2012

En este tipo de conteo de placas, las colonias no siempre provienen de una sola célula, sino que, en ocasiones, las colonias son el resultado de una agrupación de células; así mismo, no todas las células bacterianas serán capaces de formar colonias, ya que no van a crecer en los medios de cultivo. Teniendo en cuenta esto, es recomendable hablar en unidades formadoras de colonias (UFC), unidad que corresponde como mínimo a una bacteria formando una colonia, así como, también a un grupo de estas que han sido las formadoras de la misma.

En este estudio, los resultados se expresan como UFC 100mL⁻¹. El número de colonias a contar no ha de ser demasiado grande ya que, si lo es, las colonias podrían fusionarse entre sí dando lugar a errores en las estimaciones, así como no puede ser muy pequeño para que el conteo de las mismas sea significativo. Tras realizar el recuento de las UFC sobre las propias placas, para conocer el número de UFC/100ml empleamos la siguiente ecuación, donde F_d es el factor de dilución que será la inversa de la disolución seleccionada:

$$\frac{UFC}{100 \text{ mL}} = UFC_{contadas} * Volumen_{sembrado} * F_d * 100 \quad [18]$$

En las placas consideradas contables se deben distinguir entre 20 y 200 colonias. Se colocan el Contador de colonias usando su lupa de 75 mm, y un soporte que se retroilumina para facilitar el recuento de las colonias. Sobre la tapa de las placas Petri, las colonias contadas se van marcando con un rotulador para evitar la confusión.

3.2.2 Análisis de sulfadiazina

Los análisis de sulfadiazina se llevan a cabo mediante espectrofotometría de absorción molecular en el rango visible – ultravioleta, como se explica a continuación. Para complementar este análisis, se mide el Carbono Orgánico Total (COT) que proporciona datos relacionados con la mineralización total de la molécula de antibiótico (su transformación en $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$).

- **Equipos de laboratorio**

A continuación, se enumera el equipamiento utilizado durante el análisis de SDZ:

Tabla 5: equipamiento utilizado en el análisis de SDZ.

INSTRUMENTO	MARCA	FUNCIÓN
MICROPIPETAS	Acura	Medición y adición de volúmenes
TOC-V	CSH Shimadzu	Determinación de carbono orgánico e inorgánico total
ASI-V	Shimadzu	Automuestreador del TOC
ESPECTROFOTÓMETRO	Helios α	Medición de turbidez
GENERADOR DE AGUA DESTILADA	Wasserlab	Generación de agua destilada

- **Medición de la concentración de SDZ mediante espectrofotómetro UV-VIS**

Para poder realizar el estudio se debe calibrar por medio de patrones de concentración conocida de antibiótico, y obtener una recta de calibrado. Teniendo en cuenta el límite de cuantificación y detección inferior, se preparan patrones partiendo de una concentración de 5 mg/L hasta un límite superior de 30 mg/L, pues para estos ensayos, la concentración de sulfadiazina con la que se trabajaba era de 15 mg/L.

Para ello, la longitud de onda escogida es 254 nm, que ha sido comprobada con anterioridad por el equipo del laboratorio por medio de un barrido, con el cual se ha

comprobado que a esa longitud la sulfadiazina absorbe en ese rango. De igual manera, es necesario el uso de cubetas de cuarzo en sustitución de las cubetas de plástico, pues a esa longitud de onda interfieren en la absorbancia final.

3.2.3 Otros parámetros físico químicos.

- **Carbono Orgánico Total.**

El TOC permite realizar una medición simultánea del carbono orgánico presente, así como del carbono inorgánico formado. Para su medición se sigue el método estandarizado 5310 B (Eaton *et al.*, 2005).

La sulfadiazina, al tratarse de un compuesto orgánico, su degradación se presenta en varias etapas. La primera puede deberse a la degradación parcial del antibiótico, dando lugar a productos intermedios que pueden seguir presentando inconvenientes ambientales. La segunda, cuando ha sido totalmente degradada dando como productos la formación de CO₂ y agua.

El instrumental cuenta con un automuestreador (ASI-V), un automuestreador acoplado al TOC. Éste trabaja con curvas de calibración, tanto para la parte orgánica como para la inorgánica. En este estudio no se ha realizado ninguna curva de calibración, pues se ha utilizado anteriores calibraciones realizadas por el equipo de laboratorio, ajustando siempre estas curvas al valor más cercano que se podía obtener.



Figura 9: analizador de carbono orgánico total (TOC a la derecha, automuestreador a la izquierda)

- **pH.**

Durante la experimentación, se mide el pH según el método estándar 4500-HB (Eaton *et al.*, 2005). El instrumental utilizado para esta labor es un pHmetro modelo *Crison GLP-21* que se presenta en la *figura 10*:



Figura 10: pHmetro modelo Crison GLP-21

El electrodo debe ser calibrado de manera diaria con la finalidad de mantener una fiabilidad en la medida. Para llevar a cabo esta función, se disponen de soluciones patrón o tampón preparadas a diferentes intervalos de pH. Se utilizan aquellos que la pHmetro requiera para su calibración.

3.3 Aplicación de tratamientos.

3.3.1 O₃

- **Equipo**

El equipo utilizado para la generación del ozono es un ozonizador FISCHER modelo 500. Este ozonizador contiene dos electrodos concéntricos, entre los que se establece un alto voltaje mientras fluye una corriente de oxígeno puro. En la descarga que se produce, se genera oxígeno atómico que se combina con el oxígeno molecular que circula entre los electrodos, formándose así la molécula de ozono.

Esquemáticamente, la generación de ozono se presenta a continuación:

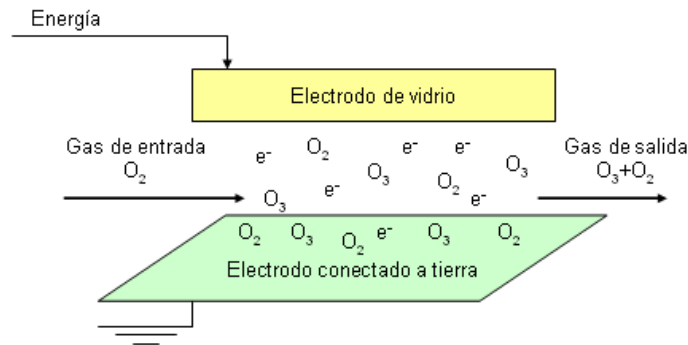


Figura 11: Esquema de la generación de ozono por descarga eléctrica

El esquema de la instalación completa utilizada para el tratamiento de muestras con ozono sigue la siguiente configuración:

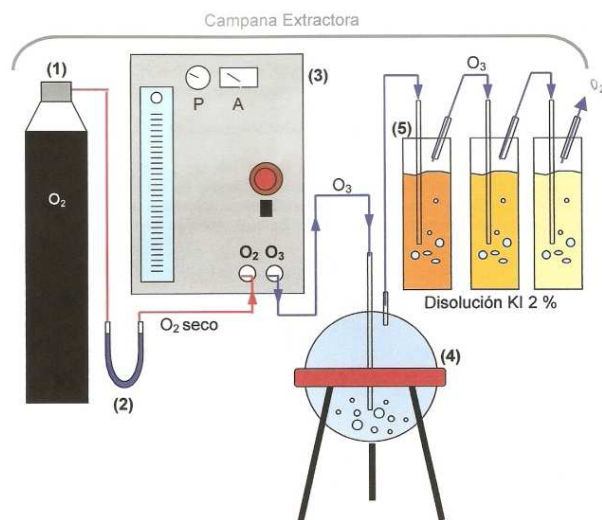


Figura 12: Esquema de la instalación para el tratamiento de muestras con ozono

El oxígeno se conecta directamente al ozonizador por lo que el aporte de gas se debe ajustar mediante la válvula reductora de presión hasta 1 bar como máximo. La generación de ozono aumenta con el caudal de oxígeno introducido, por lo que el flujo de oxígeno que entra al ozonizador se regula con la válvula acoplada al rotámetro situado en el frontal del equipo (3). Entre la botella de gas y el ozonizador se coloca un lecho de sílica gel (2) que debido a sus propiedades higroscópicas elimina la humedad de la corriente de O_2 antes de entrar en el ozonizador, ya que el gas de entrada siempre debe estar seco. Una vez accionado el interruptor principal transcurren unos breves segundos hasta que el amperímetro muestra la subida de corriente que indica que ha comenzado la ozonización.

El ozonizador se conecta a un reactor cerrado de vidrio (4) que funciona en régimen semicontinuo, continuo respecto al gas y discontinuo respecto al líquido. El ozono gas se transfiere a la muestra por la parte superior del reactor a través de un divisor poroso (O_3 introducido). La transferencia del ozono al agua produce un burbujeo que proporciona agitación a la muestra, favoreciendo el contacto ozono-agua.

No todo el ozono producido llega a consumirse en la reacción ya que parte queda en la fase gaseosa en la zona superior del reactor. Este ozono debe ser destruido (O_3 no consumido) por lo que se colocan dos borboteadores (5) en serie al reactor que contienen una disolución de yoduro potásico al 2%. El ozono reacciona con el yoduro potásico reduciéndose a oxígeno y liberándose a la atmósfera. El experimento debe llevarse a cabo en una campana extractora ya que el ozono es un elemento tóxico. La cantidad de O_3 no consumida se calcula por un método volumétrico con tiosulfato sódico.

Por lo tanto, el O_3 consumido por la muestra se calcula según la ecuación 19:

$$O_3 \text{ consumido} = O_3 \text{ introducido} - (O_3 \text{ no consumido} + O_3 \text{ residual disuelto}) \quad [19]$$

Para determinar la cantidad de ozono que se produce por unidad de oxígeno introducida se realizan una serie de ensayos a diferentes intervalos de tiempo (10-120 segundos), determinándose en cada caso la cantidad de ozono generada.

La cantidad de ozono producida se calcula por el método iodométrico (Kolthoff y Belcher, 1957). Este método consiste en tomar muestras de la disolución de KI de los borboteadores para cada uno de los caudales de oxígeno y de los intervalos de tiempo fijados y valorar con tiosulfato sódico el yodo que se produce al reaccionar el KI con el ozono.

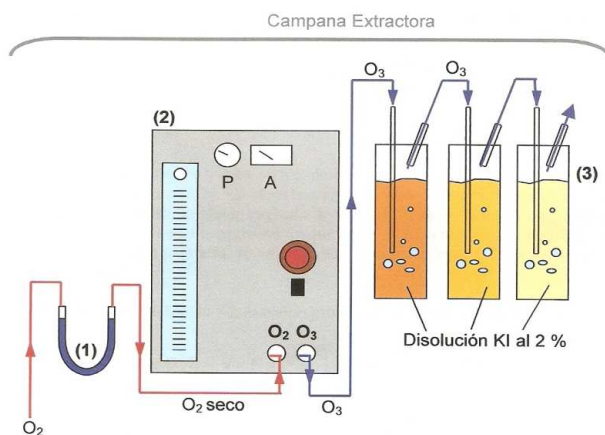
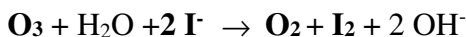
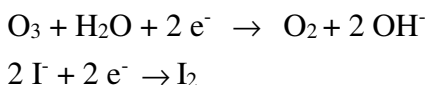


Figura 13: Esquema de la instalación utilizada para la calibración del equipo

El yodo generado corresponde estequiométricamente con la cantidad de ozono generada ya que conforme el O₃ alcanza la disolución de KI, el O₃ se reduce a O₂ y a su vez el yoduro se oxida a yodo:



Se toman alícuotas de 50 mL de cada borboteador y se añade 1 mL de HCl 1N ya que se requiere medio ácido para la valoración. Se comienza a valorar con tiosulfato sódico hasta que el color pardo rojizo que aparece como consecuencia del I₂ formado se torne amarillo pálido. En este momento se añade el indicador de almidón puesto que, si se añadiera a la muestra inicial, en la que la cantidad de yodo es muy superior, se formaría un complejo que impediría valorar correctamente. Al añadir el almidón aparece un color morado oscuro que virará a incoloro al continuar con la valoración, como consecuencia de alcanzar el punto de equivalencia.

El ozono generado, en mg h⁻¹, se calcula según la siguiente expresión:

$$\text{mg O}_3/\text{h} = V \cdot N \cdot \left(\frac{250}{V'} \right) \cdot 24 \cdot \left(\frac{60}{t} \right) \quad [20]$$

donde *V* es el volumen total de tiosulfato sódico consumido (agente valorante), *N* la normalidad de la disolución de tiosulfato sódico, *V'* el volumen de KI tomado para la valoración, *t* el tiempo de funcionamiento del ozonizador, en minutos y 24 el peso equivalente del ozono.

Como para el calibrado se trabaja con dos borboteadores, los mg O₃ h⁻¹ totales será la suma de los mg O₃ h⁻¹ individuales de cada borboteador.

El agente valorante, tiosulfato sódico, al no ser patrón primario, se debe estandarizar con dicromato potásico para determinar exactamente su concentración. Para ello se toman 80 mL de H₂O destilada a la que se añaden 1 mL de HCl 1N, 1 g de KI y 10 mL de K₂Cr₂O₇ 0.1N. Esta mezcla debe permanecer 6 minutos en oscuridad antes de ser valorada con la disolución de tiosulfato sódico que se va a estandarizar. Igualmente, se valora hasta que el color pardo rojizo pasa a amarillo y tras la adición del almidón, se valora hasta la desaparición del color morado. Por tanto, la normalidad real del tiosulfato sódico es:

$$N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = \frac{1}{mL \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \quad [21]$$

- **Procedimiento experimental.**

Los ensayos se llevan a cabo en un reactor de 2L, en el que en 1L de agua destilada se diluyen las muestras de *Enterococcus sp.* y SDZ. El ozonizador debe estar previamente calibrado como se muestra en el *Anexo VI*, a diferentes tiempos, y a una temperatura ambiente del laboratorio (22°C). Las condiciones del ozonizador se mantienen con un caudal seleccionado de 100 L h⁻¹ con lo que se ha conseguido una producción media de 2969 mg O₃ h⁻¹

Los ensayos se realizan por triplicado. Asimismo, se estudia la influencia del pH realizando los experimentos a dos pH (ajustado a la neutralidad, y a pH ácido entorno a un valor de 5), y la influencia de la dosis de ozono aplicada a distintos tiempos. Al final de cada experimento, y para obtener el menor error posible, el ozono residual de las muestras tomadas se inactiva por medio de tiosulfato sódico.

Para el análisis y determinación de *Enterococcus sp* se debe extremar la precaución en el mantenimiento y limpieza del instrumental a utilizar, tanto en el laboratorio de microbiología por medio del uso del autoclave, como en el reactor de experimentación por medio de isopropanol diluido en agua destilada, que se aplicará tras finalizar cada uno de los experimentos llevados a cabo en él.

3.3.2 Sales de persulfato.

- **Reactivos**

Los reactivos seleccionados como agentes oxidantes para el desarrollo de los ensayos se presentan en la *tabla 6*.

Tabla 6: Sales persulfato escogidas para los ensayos

Reactivo	Marca	CAS N°	Peso molecular
Peroxidisulfato de sodio (PS)	PanReac	7775-27-1	238,09 g/mol
Monopersulfato de potasio (PMS)	Alfa Aesar	70693-62-8	615,50 g/mol

- **Procedimiento experimental.**

De manera paralela a los ensayos, se estudiará el efecto de los oxidantes (PMS y PS) que, por sí solos, ejercen sobre las muestras sin emplear ozono.

Para dicho estudio, se mantendrán las condiciones exactas para las muestras, así como los tiempos a realizar, previamente mencionadas y desarrolladas en el *apartado 3.3.1*. Para mantener las mismas condiciones de mezclado que el ozonizador proporciona en los otros ensayos al borbotear la muestra, para este caso se mantendrá una mezcla continua por medio de un agitador mecánico. Del mismo modo, al no introducir ozono a la prueba, no será necesaria la adición de tiosulfato sódico, pero la medición de pH se seguirá realizando como lo mencionado en el *apartado 3.2.3*

3.3.3 Tratamiento combinado $O_3+SO_4^-$

- **Procedimiento experimental.**

Se estudia la influencia proporcionada por la adición al sistema de dos sales de persulfato, descritas en el apartado anterior. Con respecto a la bibliografía revisada, se establece que las dosis de las sales varían en un rango de 0.05-0.1 mM.

Las condiciones de operación son distintas en función del tipo de muestra estudiada. En primer lugar, para la inactivación de *Enterococcus sp.* se mantiene el régimen de funcionamiento del ozonizador como el descrito en el *apartado 3.1.1*. En cuanto a las sales, para *Enterococcus sp.* se estudiará la influencia de 0,5, 1 y 2 mg/L para ambas sales.

Estas condiciones serán modificadas para el estudio de la sulfadiazina. El ozonizador mantendrá el mismo régimen de funcionamiento. Sin embargo, para el estudio de la influencia de las sales de persulfato se escogerá aquella con mejor rendimiento obtenido en los ensayos con *Enterococcus sp.*

3.4 Expresión de los resultados.

3.4.1 Inactivación de *Enterococcus sp.*

Se cuantifica la inactivación bacteriana y con ello la eficacia de la desinfección que se ha obtenido en experimento utilizando el logaritmo de la división de las unidades formadoras de colonias que había inicialmente respecto de las que han quedado después del experimento, tal que:

$$Inactivación_{bacteriana} = Log \left[\frac{\frac{UFC_{inicial}}{100 \text{ mL}}}{\frac{UFC_{final}}{100 \text{ mL}}} \right] = Log \left(\frac{N_t}{N_o} \right) \quad [22]$$

Estas unidades logarítmicas también pueden expresarse como porcentajes de inactivación para tener una mejor comprensión de la inactivación. La *tabla 7* muestra las diferentes correlaciones entre los logaritmos y los porcentajes.

Tabla 7: Equivalencia de inactivación en unidades logarítmicas.

Unidades logarítmicas de inactivación	Porcentaje de inactivación
0,5 log	68 %
1 log	90 %
2 log	99 %
3 log	99,9 %
4 log	99,99 %
5 log	99,999 %

3.4.2 Rendimiento de degradación y mineralización de sulfadiazina.

En primer lugar, la medición de las muestras de SDZ mediante espectrofotometría proporciona información sobre su degradación. Dicho rendimiento se calcula según la siguiente ecuación: Su rendimiento se calculará con la siguiente ecuación:

$$\eta (\%) = \left(\frac{[SDZ]_{t=0} - [SDZ]_{t=i}}{[SDZ]_{t=0}} \right) \cdot 100 \quad ; \quad [23]$$

siendo $[SDZ]_{t=0}$ la concentración de sulfadiazina antes de iniciar el tratamiento, y $[SDZ]_{t=i}$ la concentración de sulfadiazina tras el tratamiento.

En segundo lugar, la medición del COT de las muestras de SDZ proporciona información sobre la mineralización de los compuestos orgánicos presentes. Dicho rendimiento se calcula según la siguiente ecuación:

$$\eta (\%) = \left(\frac{[COT]_{t=0} - [COT]_{t=i}}{[COT]_{t=i}} \right) \cdot 100 \quad ; \quad [22]$$

siendo $[COT]_{t=0}$ la concentración de carbono orgánico total antes del tratamiento, y $[COT]_{t=i}$ la concentración de carbono orgánico total tras el tratamiento.

4. Resultados

4.1 Calibración de equipos.

- **Calibración del ozonizador.**

Los resultados de calibración del ozonizador, siguiendo lo indicado en el apartado 3.3.1 se muestran en la *figura 14*:

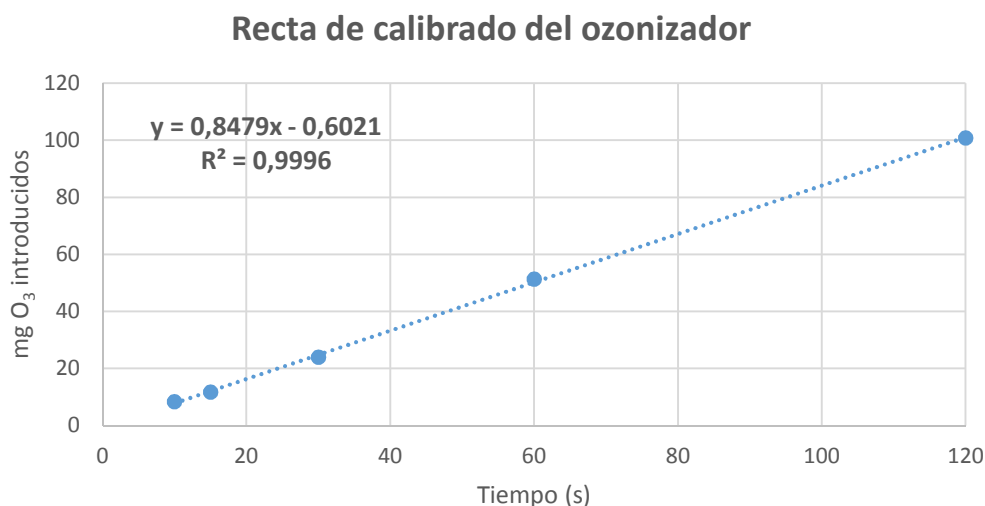


Figura 14: Recta de calibrado del ozonizador

Por ello, a lo largo de la experimentación, la condición de operación a estudiar será la concentración de ozono, siendo el tiempo la variable operacional.

- **Calibración del espectrofotómetro.**

Previo al inicio de los ensayos con sulfadiazina, se debe proceder a la calibración del espectrofotómetro. A una absorbancia de 254 nm se estudia y valora el grado de degradación a la que se ha visto sometido el antibiótico. Para ello, se preparó una disolución madre de concentración mayor, a partir de la cual se hicieron las diluciones pertinentes, que se presentan en la siguiente figura.

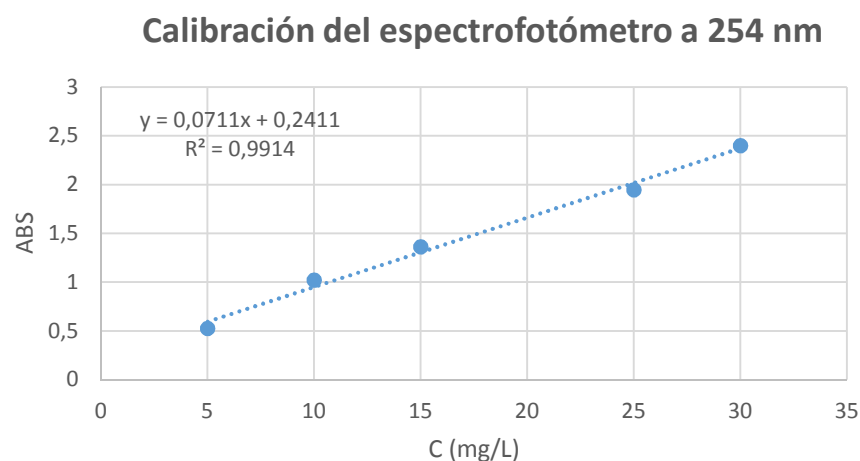


Figura 15: Recta de calibrado del espectrofotómetro a 254 nm

El rango de operación se encuentra determinado por el límite de cuantificación inferior. El rango superior no supone ningún problema, pues a lo largo de los ensayos se trabajará con una disolución preparada de sulfadiazina de 15 mg/L.

4.2 Inactivación de *Enterococcus sp.*

Los resultados numéricos obtenidos a lo largo de la experimentación se muestran en el *Anexo VI*.

4.2.1 Inactivación mediante ozono.

A continuación, en la *figura 16* se presenta la curva de inactivación de *Enterococcus sp.* mediante tratamiento de ozono.

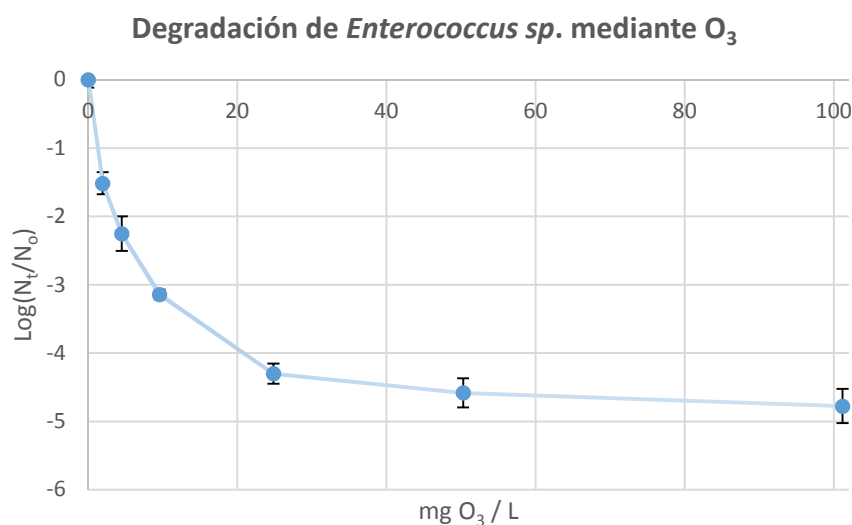


Figura 16: Inactivación de *Enterococcus sp* mediante O₃

Las reducciones o inactivaciones logarítmicas se describen en el *apartado 3.4.1*. Una unidad logarítmica supone una reducción bacteriana del 90%; dos unidades, del 99%, y así sucesivamente. Tras finalizar los ensayos correspondientes a este bloque de inactivación, el rendimiento final ha alcanzado las -4,78 unidades logarítmicas, por lo que se puede considerar una desinfección completa.

Según los resultados obtenidos, se observa una inactivación acusada en los primeros 20 mg/L de ozono, que se mantiene estable hasta los 100 mg/L.

Con respecto al pH, experimentó una ligera variación a lo largo de los dos minutos. Se iniciaron los ensayos a un pH promedio de 6,86 que disminuyó hasta un valor de 6,21 al final de mismo. Dicho descenso puede deberse, por una parte, a que la disolución del ozono en el medio tiende a acidificar el mismo. Por otra parte, dicha disminución puede deberse de igual forma a la inactivación de las bacterias.

La USEPA recomienda una reducción de una unidad logarítmica para un control eficiente de las bacterias (USEPA, 2004). Tras los resultados obtenidos en este ensayo, la dosis requerida para alcanzar dicha unidad logarítmica fue aproximadamente de 5 mgO₃/L. Sin embargo, Lanao (2012) estableció que se podía considerar como desinfección total de la muestra tras obtener cuatro unidades logarítmicas. Para alcanzar ese nivel de inactivación en esta experimentación, se requerirá de una dosis de en torno los 20 mgO₃/L.

En la siguiente *figura 17* se muestra la comparación entre los trabajos realizados en el Grupo de investigación Agua y Salud Ambiental, relacionando el consumo de ozono con respecto la reducción de las poblaciones. Éstas se componen de diferentes especies (*Enterococcus sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*) en diferentes matrices: muestra sintética (MS) a base de agua destilada fortificada, o muestra de natural superficial (MN).

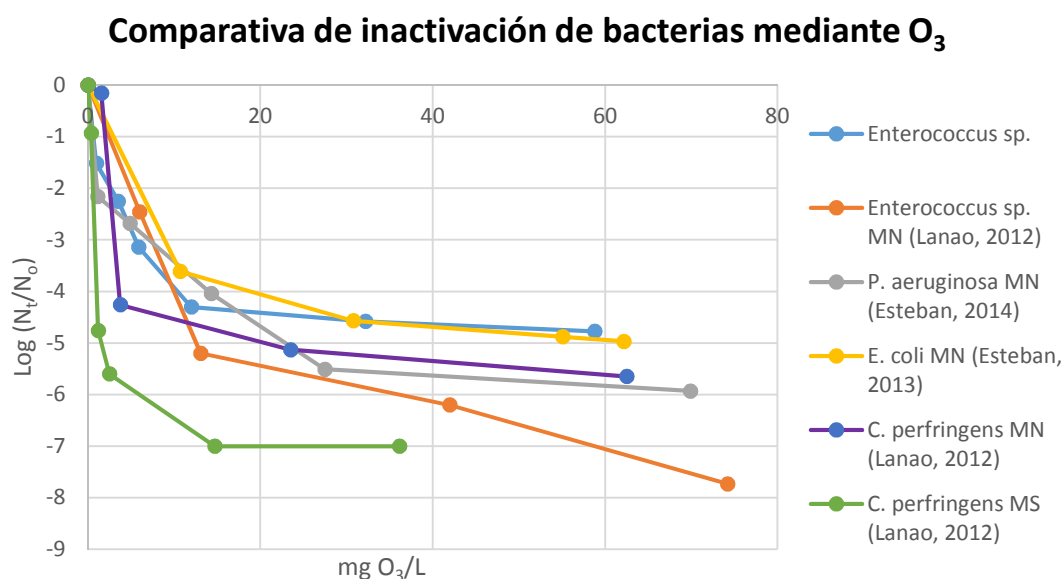


Figura 17: Comparativa de inactivación de *Enterococcus sp.*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *C. perfringens*

Podemos observar cómo se establece una diferencia marcada entre aquellas muestras de MS con respecto aquellas con MN. En las MN, además de a inactivación de las bacterias, el ozono oxida del mismo modo a los sólidos suspendidos (SS) y aquellos compuestos orgánicos e inorgánicos presentes, que en el apartado 2.3.3.2 se definían como *scavengers*. Es decir, en las muestras naturales intervienen todas aquellas sustancias presentes, que pueden ser objeto de oxidación y degradación. Es por ello que, para una misma población, como es el caso de *C. perfringens*, la MS alcance las cuatro unidades logarítmicas con una dosis de ozono notablemente inferior a comparación de las mismas poblaciones en MN.

Del mismo modo, se puede establecer una segunda diferencia ateniéndose a la naturaleza de las poblaciones. Las bacterias gram positivas (*Enterococcus sp.*, *C. perfringens*), gracias a la presencia de una capa de peptidoglucano, presentan mayor resistencia a los tratamientos.

El punto común entre los ensayos realizados y comparados en la figura 17 es una acusada reducción de las poblaciones en los primeros instantes de experimentación, al introducir ozono al sistema. Posteriormente se observa como algunas poblaciones gram negativas requieren de una dosis mayor en comparación con las positivas para alcanzar las cuatro unidades logarítmicas de inactivación.

4.2.2 Inactivación mediante PS/PMS

Este análisis fue llevado por Carnicer (2019) en los mismos laboratorios en los que se ha llevado a cabo este trabajo. En la *Tabla 8* se muestran las unidades logarítmicas de inactivación obtenidas al respecto:

Tabla 8: Influencia en la inactivación de *Enterococcus* sp. de las sales persulfato

	Peroxidisulfato de sodio	Monopersulfato de potasio
Log (N_t/N_0) a los 20 min	-0,05	-0,19

El ensayo fue llevado a cabo poniendo en contacto las poblaciones bacterianas con las sales durante 20 minutos en agua destilada, sin influencia de ningún otro reactivo.

Se puede considerar que las sales en disolución no influyen en la degradación de las poblaciones bacterianas, pues para ello requieren de un mecanismo de activación, como es el caso del ozono en este estudio, o de otras fuentes como pueden ser UV, ultrasonidos u otros.

4.2.3 Inactivación mediante O_3 + PS y O_3 + PMS

En el *Anexo VI* se muestra la tabla con los resultados obtenidos antes y después del tratamiento con ambas sales. A continuación, en la *Figura 18* se muestran las curvas de inactivación para cada uno de los tratamientos combinados:

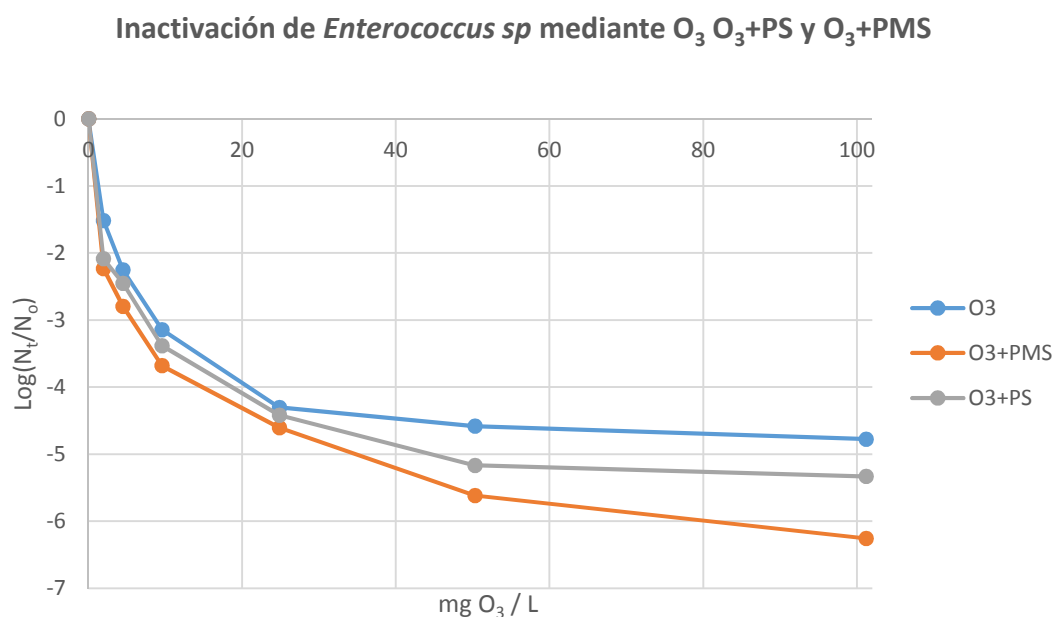


Figura 18: Comparativa de la inactivación de los ensayos realizados con O₃/ O₃+PS/ O₃+PMS

Se observa como, tanto el tratamiento con O₃, así como los tratamientos combinados, han resultado efectivos en la degradación de la bacteria, mostrando un comportamiento similar en los tres casos: acusada inactivación hasta los 20 mg O₃/L, a partir del cual, la degradación se mantiene prácticamente constante hasta los 100 mg/L, consiguiendo llegar hasta una inactivación superior a las cuatro unidades logarítmicas requeridas.

Comparando la efectividad de cada tratamiento combinado por separado, aquel con unos mejores resultados es el tratamiento combinado con PMS, alcanzando una inactivación de 4 unidades logarítmicas con una dosis de 15 mg/L de ozono; mientras que los tratamientos restantes se sitúan en torno a los 20 mg/L de ozono. Este comportamiento está documentada en otros estudios como Devi *et al.*, 2016; Ghanbari y Moradi, 2017; Matzek y Carter, 2016; Wang y Wang, 2018 demostrando que la aportación de los radicales sulfato por parte del PS, como del PMS, incrementan el rendimiento de los tratamientos de los compuestos orgánicos.

La mejora de los rendimientos supone la reducción de las dosis de ozono a usar, por lo que, en condiciones reales, supondría un ahorro económico del ozono como reactivo, siendo el más caro de la experimentación por la necesidad de ser generado *in situ* mediante oxígeno. En esta línea, el reactivo indicado será el PMS, pues su uso supone un ahorro de ozono de un tercio a comparación del ozono requerido en los tratamientos mediante PS.

Con respecto al pH, se observó una variación inicial en el pH en aquellos tratamientos en los que la sal era añadida al inicio del mismo. Mientras que los ensayos realizados mediante ozono se mantuvieron en un medio relativamente neutro, en aquellos en los que se usaron las sales, tendieron a acidificar el medio inicialmente; y dicha reducción en el pH se mantuvo constante hasta finalizar el experimento.

Los consumos resultantes de cada uno de los tratamientos se presentan en la *Figura 19*:

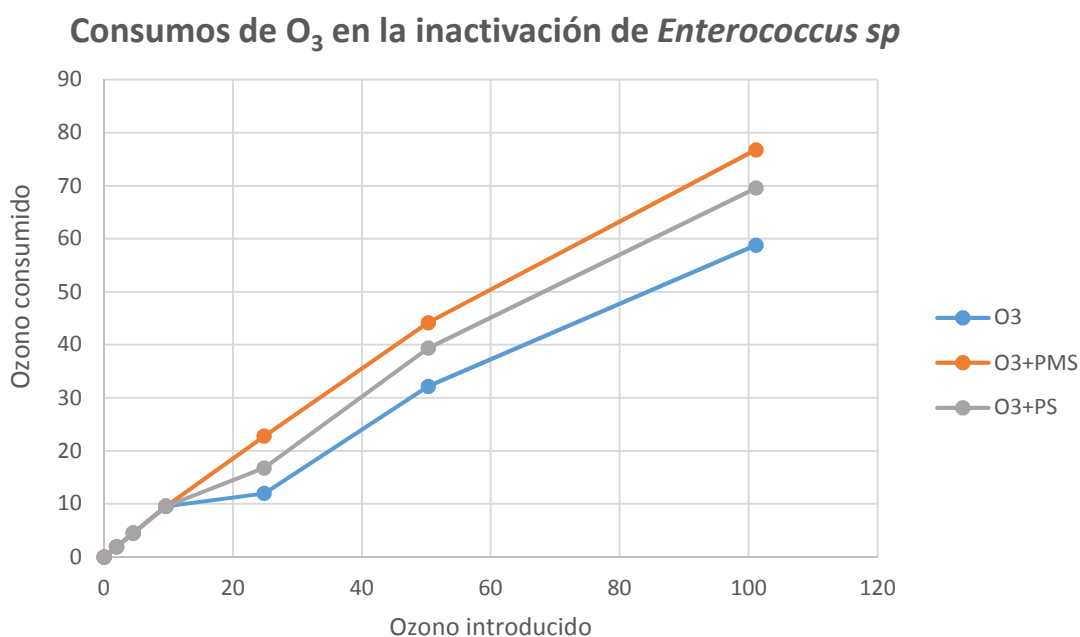


Figura 19: Consumos de O₃ en la inactivación de *Enterococcus* sp.

Como se puede observar, los tres tratamientos comparten la misma tendencia al inicio de la experimentación, y ello corresponde al descenso acusado en la inactivación que se podía observar en la *figura 18*. En este tramo, el proceso de inactivación consume por completo el ozono que es introducido. Conforme avanza el tiempo de experimentación, las diferencias entre los tratamientos se observan con más claridad. En el caso del tratamiento mediante ozonización, no muestra un uso eficiente de las dosis de ozono, únicamente haciendo uso del 55% del ozono introducido. Sin embargo, los tratamientos combinados alcanzan un rendimiento de en torno el 70-80% con respecto al ozono introducido. Lo que corrobora que la adición de sales persulfato, principalmente PMS, al tratamiento de ozonización produce una mayor eficiencia en el proceso de inactivación de *Enterococcus* sp.

4.2.4 Influencia de la concentración de PMS en los tratamientos con O₃+PMS.

A tenor de los resultados obtenidos en el anterior apartado, se escoge el PMS como el reactivo con mejor respuesta a la inactivación de las poblaciones bacterianas. En la *figura 20* se muestran los resultados obtenidos variando la concentración del mismo, manteniendo el resto de condiciones de experimentación. Se estudiará cómo afecta a la inactivación de *Enterococcus sp.* con distintas cantidades de sal: 0,5; 1 y 2 mg PMS/L.

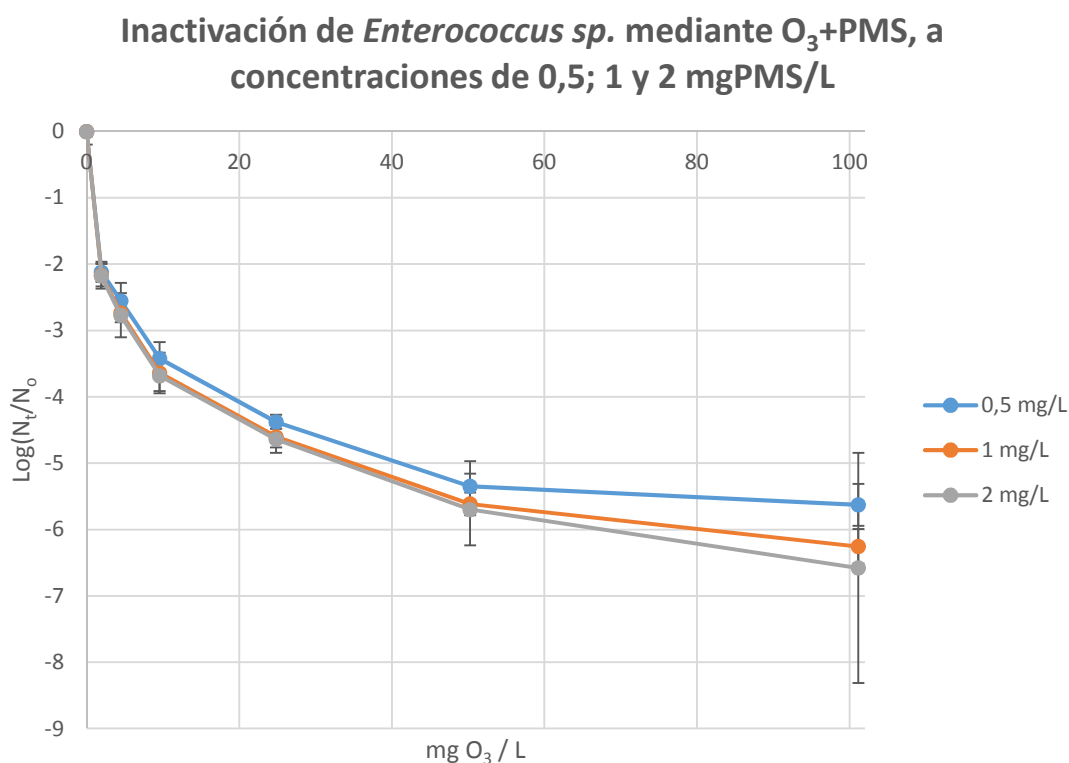


Figura 20: Comparativa de inactivación de *Enterococcus sp.* para los ensayos con O₃+PMS, a concentraciones de 0,5; 1 y 2 mg/L de PMS

Observamos cómo, aunque visibles, no representan una diferencia notable entre ellas, aunque destacan las concentraciones de 1 y 2 mg/L como aquellas con mejores resultados. Todas alcanzan una eliminación de 4 unidades logarítmicas, siendo el caso de 2 mg/L la única en la que, tras los dos minutos (con una dosis de ozono de 102 mg/L), no se ha llegado a contabilizar ninguna colonia. Pese a ello, la cantidad escogida será 1 mg/L pues permite obtener unos resultados satisfactorios siendo a menor concentración, lo que se traducirá en un menor coste en cuanto al consumo de reactivo.

Se sigue observando una variación en el pH, relacionada directamente con la cantidad de PMS introducida al sistema. Tras la adición de 1 mg/L de PMS, previo al inicio de la ozonización, el pH disminuía hasta un valor de 6,04; que, tras los dos minutos, finalizaba con un valor de 5,4.

En la siguiente figura, se observan los consumos de ozono obtenidos en el tratamiento O_3 +PMS a distintas dosis de PMS:

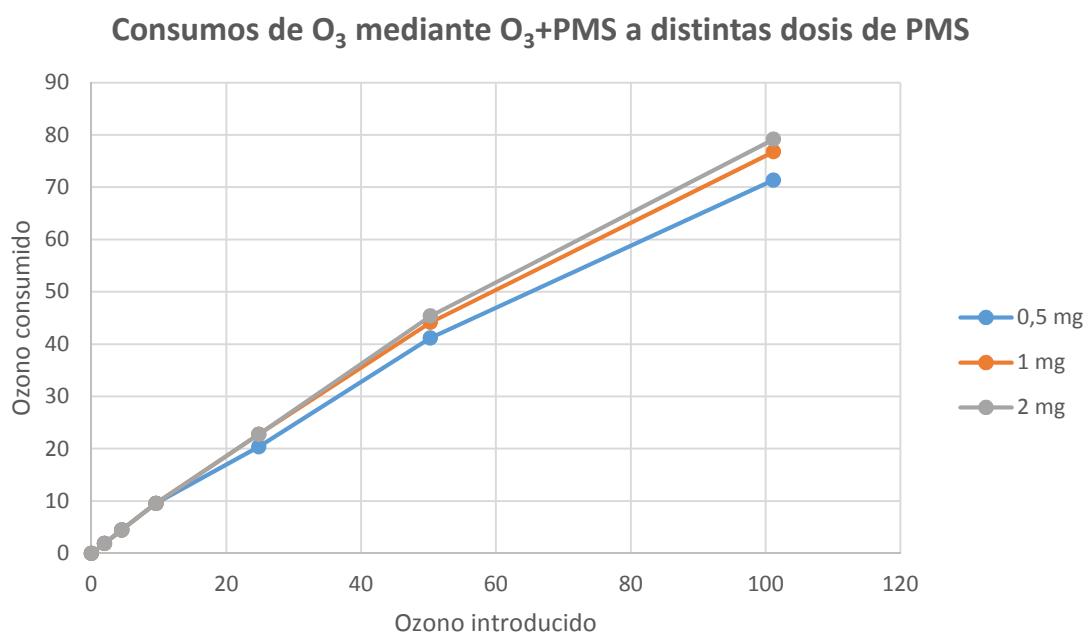


Figura 21: Consumos de O_3 mediante O_3 +PMS a distintas dosis de PMS

Así como se observaba en la *figura 19*, el consumo de ozono muestra un comportamiento idéntico en las primeras etapas del tratamiento. Por ello, a tiempos iniciales, el tratamiento está consumiendo por completo todo el ozono introducido en el sistema. La dosis de ozono es consumida tanto para la inactivación de las bacterias, como para la activación del PMS, siendo directamente proporcional el ozono consumido a la concentración de la sal en el tratamiento, por ello el tratamiento que resulta consumir mayor cantidad de ozono es aquel con una mayor concentración de PMS (2 mg/L). Los rendimientos en el uso del ozono se asemejan a los vistos anteriormente en la *figura 19*, siendo los tratamientos combinados a concentración de 1 y 2 mg/L aquellos que alcanzan un rendimiento del 80%.

4.2.5 Influencia del pH en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante O₃+PMS.

Tras escoger el PMS como el reactivo con mejor rendimiento, se ha procedido a estudiar las posibles diferencias existentes al ajustar el pH, pero manteniendo la misma concentración de PMS.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos en la inactivación de las colonias de *Enterococcus sp.* Las variaciones observadas en el pH a lo largo de la experimentación se muestran en el *Anexo VI*:

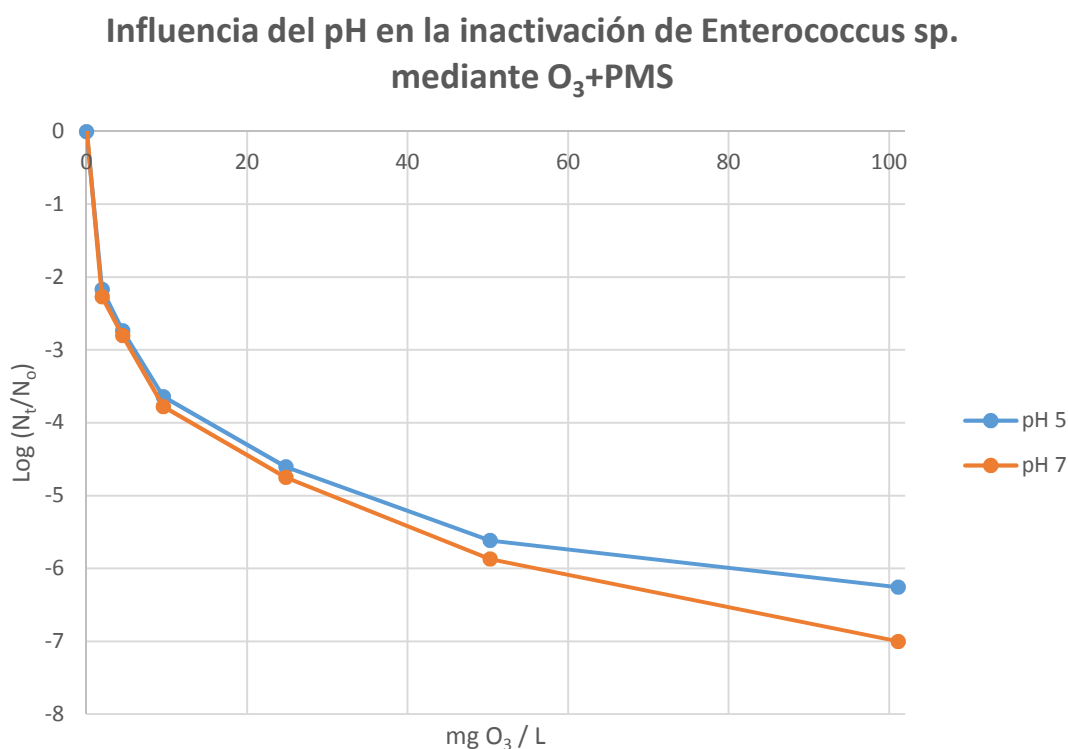


Figura 22: influencia del pH en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante O₃+PMS

Como se observa, tanto los ensayos realizados a pH 7; y los realizados a pH 5; alcanzan las cuatro unidades logarítmicas de inactivación, por lo que se puede considerar como una desinfección completa para ambos casos. Sin embargo, a pH neutros, no se llegaron a observar ninguna colonia a partir de los dos minutos en ninguna de las repeticiones.

Los valores de pH variaron de manera similar al *apartado 4.2.4*: tras la adición del reactivo, se observó un descenso en el pH que, en los ensayos a pH 7 se neutralizó mediante hidróxido sódico; y en los ensayos a pH ácido, se favoreció mediante la adición de ácido clorhídrico.

En este caso en concreto, se puede observar cómo la neutralidad del medio afecta en el rendimiento del tratamiento, aunque no de manera relevante en el rango de pH estudiado (5-7). Como se mencionaba en el *apartado 2.3.3.1*, se describe como la ozonización puede actuar por medio de dos vías. En el tratamiento a un pH 5, se favorece la vía ácida, actuando el ozono molecular directamente sobre la inactivación de las bacterias. Por otra parte, en medios neutros o alcalinos, como ejemplifica el tratamiento a pH 7, el ozono actúa de manera indirecta, ello se debe a que la presencia de ozono molecular facilita la formación de especies radicalarias, que no estaban presentes en el medio, y que actúan de manera activa en la inactivación. Esta diferencia es notable cuánto mayor es la concentración de ozono en el tratamiento.

4.3 Degradación de sulfadiazina.

4.3.1 Degradación de SDZ mediante ozono.

El estudio de sulfadiazina (SDZ) se realizará conforme a lo explicado en el *apartado 3.2.2*: la degradación del antibiótico en otros compuestos orgánicos por medio de su valoración por medio de la medición por espectrofotometría, y la mineralización tanto de la sulfadiazina como sus metabolitos, medido por medio del TOC. Los resultados se han realizado por duplicado, y se presentan en la siguiente figura.

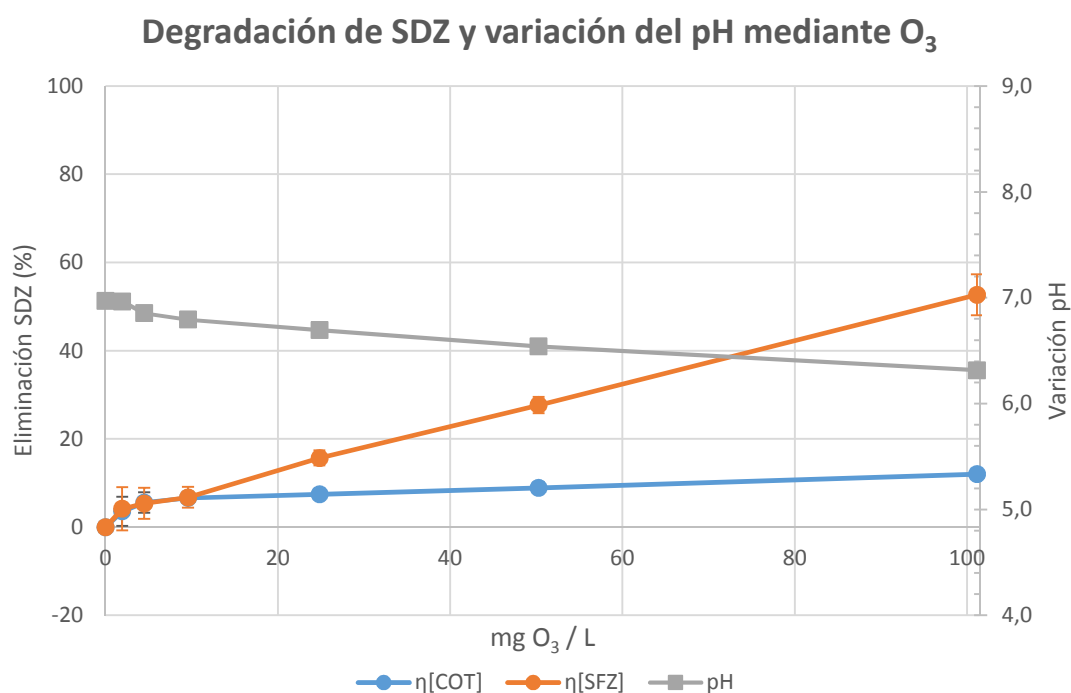


Figura 23: Degradación de SDZ y variación del pH mediante O₃

La eliminación de SDZ aumenta conforme lo hace la dosis de ozono llegando a un máximo en torno el 55% con una dosis de 100 mgO₃/L de ozono. La tendencia en cuanto a su mineralización es la misma pero mucho menos acusada, alcanzando una mineralización del 10%. tras el tratamiento con O₃. Es por ello que mediante O₃ la SDZ se degrada considerablemente a compuestos intermedios, pero apenas se alcanza su mineralización. Tras el tiempo de experimentación, el rendimiento de degradación del antibiótico se sitúa por encima del 50%; mientras que, el rendimiento de mineralización, se sitúa por debajo del 15%.

La variación observada en el pH a lo largo de la experimentación puede deberse, mayoritariamente, a la formación de subproductos fruto de la degradación del antibiótico más ácidos que éste. Este descenso es acusado al principio, relacionado directamente con el inicio de la ozonización que, posteriormente, se estabiliza hasta alcanzar un pH final en torno a 6,5.

De igual manera, la concentración administrada a los ensayos parece influir sobre los resultados finales. Pero en el estudio de Guo *et al.*, (2016) estudiaron cómo podía afectar a la degradación de sulfadiazina diferentes valores de ozono. Coherentemente, a mayor presencia de ozono en los ensayos realizados, mayor fue el rendimiento de eliminación del antibiótico, como se observa en la siguiente figura:

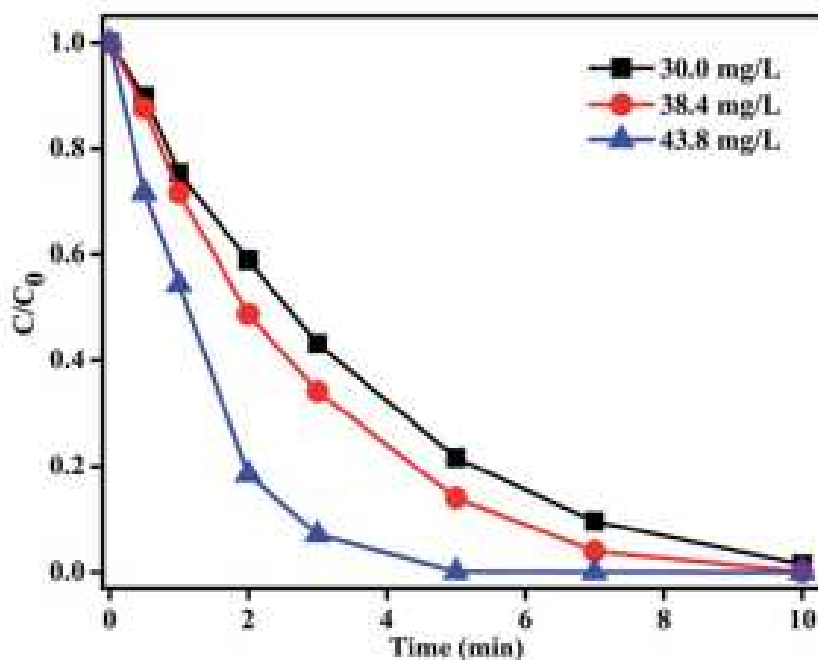


Figura 24: Degradación de SDZ a diferentes concentraciones de O₃ (Guo *et al.*, 2016)

Sin embargo, entre los estudios existe disparidad en función de la vía de degradación (directa o indirecta) estudiada. En el caso de Urbano *et al.*, (2017), obtuvieron una degradación de sulfadiazina a pH 3 superior al 90%, que se redujo hasta un 30% para pH 11. Para pH neutros, como los realizados en los ensayos presentados en este trabajo, obtuvieron una degradación del 62,7%. La hipótesis planteada por los autores es que, a pH ácidos, el antibiótico es atacado exclusivamente por el ozono; mientras que, en rangos alcalinos, los radicales generados afectarían tanto al antibiótico como al ozono presente. Pero en dicho estudio, no se estudió el papel protagonizado por la presencia de *scavengers* en el medio, como podían ser los carbonatos, CO_3^{2-} , e hidrogenocarbonatos, HCO_3^- , generados a un pH ácido a causa de la degradación de compuestos orgánicos.

En contraposición, la investigación de Garoma *et al.*, (2010) concluyó en unos resultados favorables en la degradación de la sulfadiazina a pH 10 en comparación a los obtenidos a un pH ácido, como se puede observar en la siguiente figura.

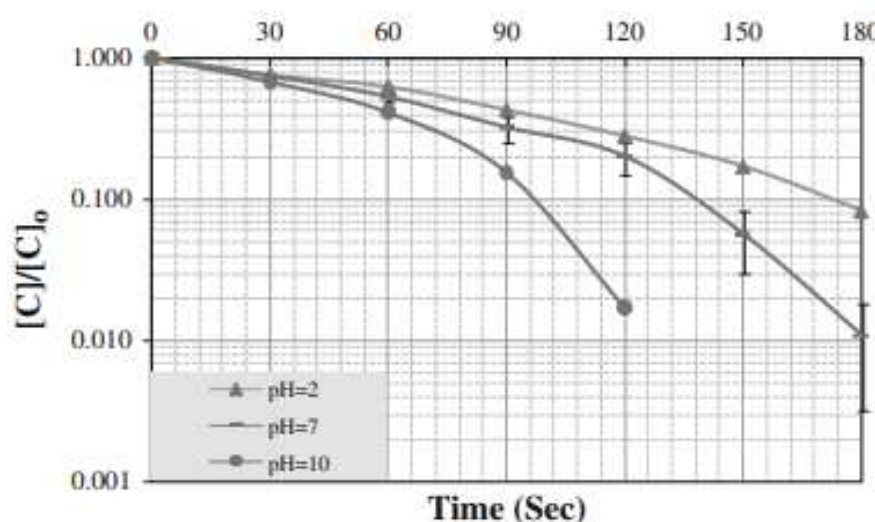


Figura 25: Degradación de SDZ a diferentes pH (Garoma *et al.*, 2010)

A esta misma conclusión llegó Guo *et al.*, (2016). Su investigación, también basada en la eliminación de sulfadiazina a diferentes pH, se observan ligeras diferencias, obteniéndose mejores resultados de eliminación de pH 9.

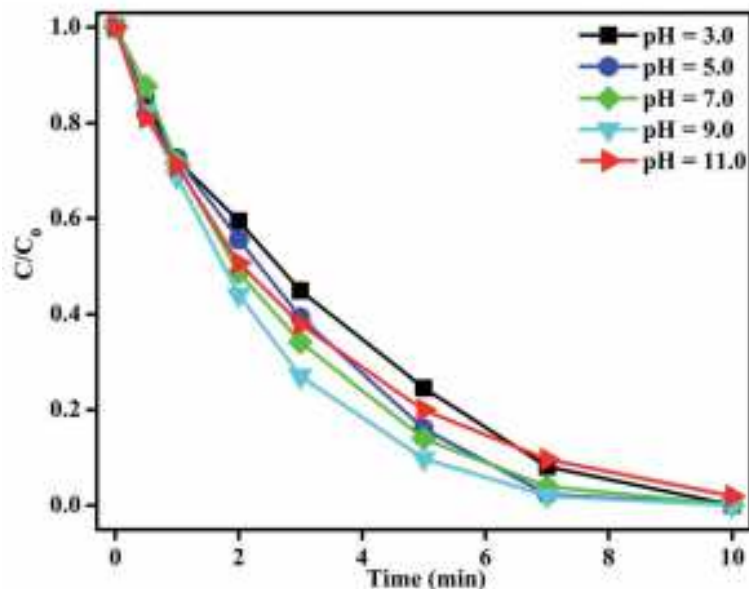


Figura 26: Degradación de SDZ mediante UV/O₃ a diferentes pH (Guo et al., 2016)

4.3.2 Degradación de sulfadiazina mediante PMS.

De manera similar a como se ha procedido con los *Enterococcus sp.*, se ha estudiado la influencia que las sales de monopersulfato pueden ejercer sobre la degradación de la sulfadiazina en ausencia de ozono. Para ello, se ha procedido a la fortificación de la muestra con 15 mg/L de sulfadiazina. Tras 2 minutos en contacto, el grado de degradación final fue del 1,43 %

Por lo tanto, se puede considerar que las PMS no degrada el antibiótico, pues para ello queda demostrado que requieren de un mecanismo de activación, como es el caso del ozono en este estudio, o de otras fuentes como pueden ser UV, ultrasonidos u otros.

4.3.3 Degradación de SDZ mediante O₃+PMS

La concentración de trabajo escogida para este apartado fue de 1 mg/L de PMS. Los resultados obtenidos se expresan en la *figura 27*:

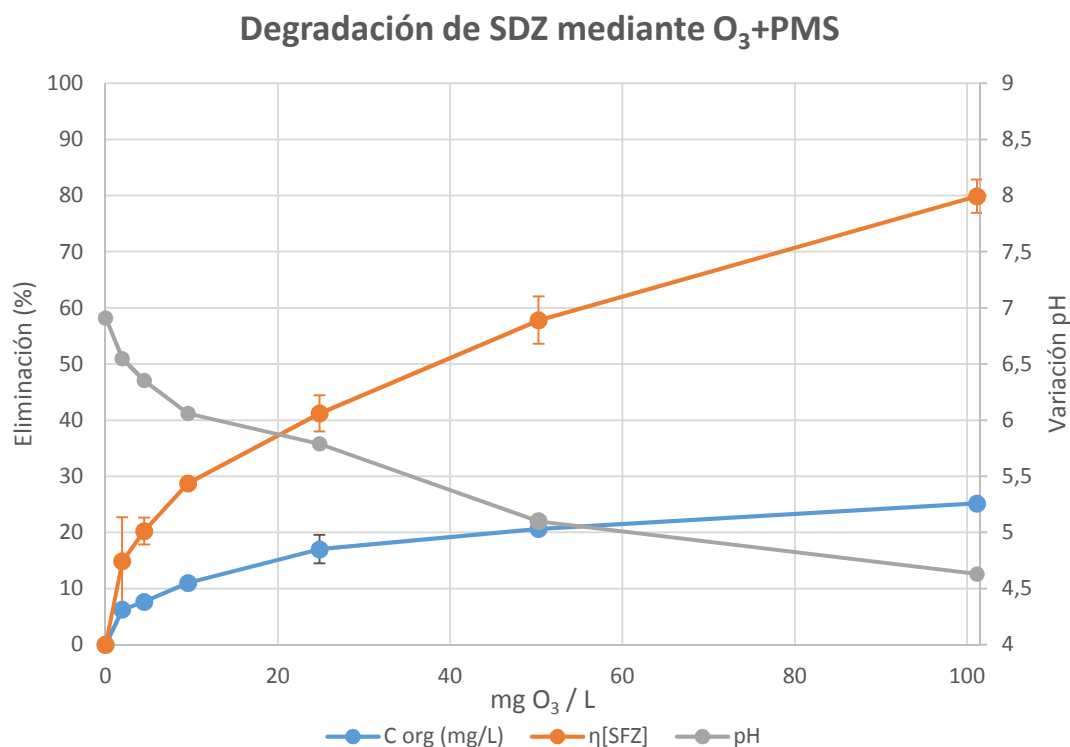


Figura 27: Degradación de SDZ mediante PMS/O₃

Se observa como el rendimiento final alcanzado en los tratamientos combinados es mayor que los obtenidos únicamente mediante ozono (visto en la *figura 23*): en los ensayos mediante ozonización se alcanzó un rendimiento de degradación de la sulfadiazina del 52,7 %: mientras que en los ensayos realizados mediante O₃+PMS se obtuvo un rendimiento del 79,9 %, con una dosis en torno a 101 mg O₃/L

La contribución del PMS a la degradación del antibiótico asciende hasta un rendimiento cercano al 80%, mientras que respecto al rendimiento de eliminación del COT, se sitúa cercano al 30%. Si se compara con lo obtenido en la *figura 23*, se observa como el aporte de PMS mejora en gran medida la degradación de la sulfadiazina tras los dos minutos. Sin embargo, la mejora en cuanto la mineralización es más discreta, pasando de aproximadamente un 10% a un 25%. Lo que indica que con ambos tratamientos (O₃ y O₃+PMS) la SDZ se transforma principalmente en productos intermedios de degradación dado que su mineralización es más baja que su degradación.

Sin embargo, el tratamiento combinado supone una notable mejora en ambos rendimientos en comparación con el O_3 sólo debido a la formación de radicales sulfato.

Por su parte, el pH experimenta un descenso importante en comparación a la ozonización: la ozonización de la sulfadiazina finalizó con un pH en torno a 6,5; mientras que en los ensayos realizados mediante O_3 +PMS la variación obtenido fue de 6,96 hasta 4,63. Esta diferencia en el descenso del pH se sigue debiendo a la formación de compuestos secundarios más ácidos que la SDZ, por lo que la mejora en el rendimiento de la mineralización en los tratamientos combinados se refleja en un mayor descenso del pH.

Los rangos de consumo de ozono se sitúan parejos a los obtenidos en los tratamientos de inactivación de *Enterococcus sp.* En este caso, se puede considerar que no existe diferencia de consumo entre los tratamientos.

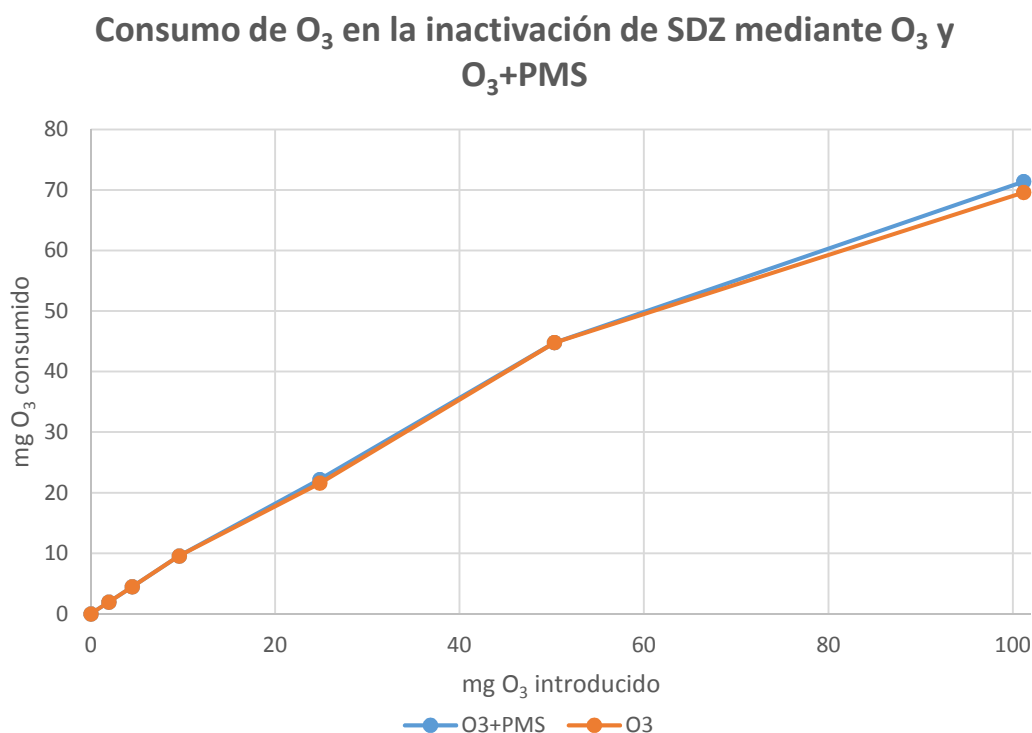


Figura 28: Consumo de O_3 en la inactivación de SDZ mediante O_3 y O_3 +PMS

Como puede observarse en la *figura 28*, pese a que el método de degradación varíe en función de la presencia o no de PMS, los valores de consumo de ozono se mantienen constante a lo largo de la experimentación. Como sucedía en los consumos vistos en el *apartado 4.2.4*, a tiempos bajos, todo ozono introducido en el sistema es consumido como parte del tratamiento. Posteriormente, el consumo del ozono es menos

eficiente, perdiéndose parte en el intercambio de gases. Por otra parte, en este caso no se observan diferencias entre los consumos de ambos tratamientos. A comparación de la inactivación de *Enterococcus sp*, en este caso, el ozono es requerido tanto para la degradación y mineralización de la sulfadiazina, por lo que el tratamiento hace un uso más eficiente del ozono que es introducido al sistema.

5. Conclusiones.

En base a los resultados obtenidos en la inactivación de *Enterococcus sp.* se concluye que:

1. Los ensayos realizados mediante O_3 , PMS+ O_3 y PS+ O_3 (dosis de 15, 18 y 21 mg O_3 /L respectivamente) han resultado eficaces, alcanzando una inactivación de cuatro unidades logarítmicas, por lo que se puede considerar una eliminación completa de las poblaciones bacterianas
2. Los tratamientos combinados han resultado ser más eficaces en la inactivación de *Enterococcus sp.* que los tratamientos mediante ozono, siendo la alternativa de PMS el tratamiento con mejor resultado, alcanzando las cuatro unidades logarítmicas con una dosis en torno a los 15 mg O_3 /L, en comparación a los tratamientos mediante PS+ O_3 y O_3 (con dosis en torno a los 20 mg O_3 /L).
3. Las sales persulfato, por sí solas, no ejercen inactivación de las poblaciones bacterianas.
4. La concentración de sales persulfato influye en los rendimientos de inactivación hasta cierto punto. Los ensayos realizados con una concentración de 1 y 2 mgPMS/L obtuvieron resultados ligeramente mejores que aquellos realizados a una concentración de 0,5 mgPMS/L.
5. En referencia al pH, se obtuvieron mejores resultados de inactivación favoreciendo la vía indirecta del ozono neutralizando el medio en torno a un pH 7.

En base a los resultados obtenidos en la degradación de sulfadiazina se concluye que:

1. Los ensayos realizados mediante O_3 y PMS+ O_3 resultan eficaces en la degradación del antibiótico, alcanzándose rendimientos del 50% de degradación en los ensayos mediante O_3 ; y rendimientos de degradación del 80% en aquellos realizados mediante PMS+ O_3 , con una dosis final de 100,8 mg O_3 /L.
2. La mineralización de la sulfadiazina ha resultado ser más discreta a comparación de la degradación del antibiótico, alcanzándose un rendimiento de mineralización del 10% en los ensayos realizados mediante O_3 ; y un 25% en aquellos realizados mediante PMS+ O_3 , con una dosis final de 101 mg O_3 /L.

3. La presencia de PMS, por sí sola, en el medio no ejerce influencia en la degradación del antibiótico.
4. Se observa un descenso generalizado del pH a lo largo de la experimentación, más acusado en los ensayos realizados mediante PMS+ O₃. Dicho descenso pone de manifiesto la eficaz mineralización de los compuestos orgánicos del antibiótico, responsables de dicho descenso.

De manera general, en base a los resultados obtenidos a lo largo de la experimentación para este estudio, se puede asegurar la efectividad de los procesos de ozonización en combinación con las sales PMS como alternativa a la eliminación y degradación de *Enterococcus sp.* y sulfadiazina en matriz sintética a escala de laboratorio.

Con esta investigación se avanza en el conocimiento de los procesos avanzados de oxidación para dar solución a una realidad actual de impacto ambiental, como lo es la presencia en el medio de bacterias resistentes a antibióticos, cuyo principal foco hoy en día gira entorno en el ciclo urbano de las aguas, principalmente a la falta de depuración de aguas residuales.

Este trabajo puede ser un punto de partida en cuanto al estudio e investigación de nuevos procesos avanzados de oxidación basados en radicales sulfato dado que, según se ha concluido, resulta interesante estudiar tanto su contribución en la eliminación de compuestos orgánicos como muchos CEs, como la viabilidad en la desinfección de aguas.

6. Bibliografía

- Apha, A. (2007). WEF (2005) Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation.
- Alós, J. (2015). *Resistencia bacteriana a los antibióticos : una crisis global* &. 33(10), 692–699.
- Ankley, G. T., Brooks, B. W., Huggett, D. B., y Sumpter, J. P. (2007). Repeating history: pharmaceuticals in the environment. *Environmental Science y Technology*, 41(24), 8211–8217. <https://doi.org/10.1021/es072658j>
- Binh, V. N., Dang, N., Anh, N. T. K., Ky, L. X., y Thai, P. K. (2018). Antibiotics in the aquatic environment of Vietnam: Sources, concentrations, risk and control strategy. *Chemosphere*, 197, 438–450. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.061>
- Bolong, N., Ismail, A., Salim, M., y Matsuura, T. A. (2009). A Review of the Effects of Emerging Contaminants in Wastewater and Options for Their Removal. *Desalination*, 239, 229–246. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2008.03.020>
- Boyd, G. R., Reemtsma, H., Grimm, D. A., y Mitra, S. (2003). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *Science of The Total Environment*, 311(1), 135–149. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(03\)00138-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0048-9697(03)00138-4)
- Carnicer Martínez, G. (2019). *Inactivación de gérmenes patógenos mediante procesos combinados O3/S2O8 2- , O3/H2O2, O3/H2O2* (Universidad de Zaragoza). Retrieved from <https://zaguan.unizar.es/record/86656/files/TAZ-TFM-2019-886.pdf>
- Clemente, A., Chica Arrieta, E. L., & Peñuela Mesa, G. A. (2013). Procesos de tratamiento de aguas residuales para la eliminación de contaminantes orgánicos emergentes. *Revista Ambiente e Agua*, 9(3), 445–458. <https://doi.org/10.4136/1980-993X>
- Colerangle, J. B., y Roy, D. (1997). Profound effects of the weak environmental estrogen-like chemical bisphenol A on the growth of the mammary gland of Noble rats. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 60(1), 153–160. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(96\)00130-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0960-0760(96)00130-6)
- Correia, Angelina, & Marcano, Lily. (2015). Presencia y eliminación de compuestos farmacéuticos en plantas de tratamientos de aguas residuales: Revisión a nivel mundial y perspectiva nacional. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 55(1), 1-18. Recuperado en 21 de agosto de 2021, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482015000100001&lng=es&tlng=es.
- Damià Barceló, L., y López de Alda, M. J. (2008). *Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes*. Jornadas de presentación de resultados: el

- estado ecológico de las masas de agua. Panel científico-técnico de seguimiento de la política de aguas, Sevilay.
- Daughton, C. G., y Ternes, T. A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives*, 107 Suppl(Suppl 6), 907–938. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107s6907>
- Davis, E. J. (1970). Gas-liquid reactions: By P.V. Danckwerts, McGraw-Hill, 1970. xiii 276 pp. \$11.50. *Journal of Colloid And Interface Science*, Vol. 34, pp. 333–334. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(70\)90189-X](https://doi.org/10.1016/0021-9797(70)90189-X)
- DECISIÓN DE EJECUCIÓN (UE) 2018/840 DE LA COMISIÓN de 5 de junio de 2018 por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas.
- Deniere, E., Hulle, S. Van, Langenhove, H. Van, y Demeestere, K. (2018). Advanced oxidation of pharmaceuticals by the ozone-activated peroxymonosulfate process : the role of different oxidative species. *Journal of Hazardous Materials*, 360(April), 204–213. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.071>
- Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas. DOUE n° 348, páginas 84 a 97
- Directiva 91/271/CEE del Consejo de la Unión Europea de 21 de mayo de 1991 sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas. DOCE n° L135, de 30/05/91.
- Drewes, J. E., Heberer, T., y Reddersen, K. (2002). Fate of pharmaceuticals during indirect potable reuse. *Water Science and Technology : A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 46(3), 73–80.
- Eaton A.D., Clesceri L.S., Rice E.W., Greenberg A.E., Franson M.A.H. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21 Edition. APA-AWWA-WEF. ISBN 08-7553-047-8.
- Escobar, A. (2019). Contaminantes emergentes: origen y destino. Alcalá de Henares, Universidad Rey Juan Carlos.
- Farré, M. la, Pérez, S., Kantiani, L., y Barceló, D. (2008). Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27(11), 991–1007. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.09.010>
- Fent, K., Weston, A. A., y Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 76(2), 122–159. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.09.009>
- Garoma, T., Umamaheshwar, S. K., y Mumper, A. (2010). Removal of sulfadiazine, sulfamethizole, sulfamethoxazole, and sulfathiazole from aqueous solution by ozonation. *Chemosphere*, 79(8), 814–820.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.02.060>
- Gil, M., María Soto, A., Iván Usma, J., y Darío Gutiérrez, O. (2012). *Emerging contaminants in waters: effects and possible treatments Contaminantes emergentes em águas, efeitos e possíveis tratamentos* (Vol. 7).
- Glaze, W., Kang, J.-W., y Chapin, D. (1987). The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation. *Ozone-Science y Engineering - OZONE-SCI ENG*, 9, 335–352.
<https://doi.org/10.1080/01919518708552148>
- González, N. de la C. (2013). Estudio de la eliminación de contaminantes emergentes en aguas mediante Procesos de Oxidación Avanzados. Retrieved from
https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/308120/NDLCG_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Gracia R., Cortés S., Sarasa J., Ormad P., Ovelleiro J.L. 1999. Tratamientos oxidativos en la potabilización del agua. La ozonización catalítica como técnica complementaria a la cloración. *Tecnología del Agua*, 188, 34-44.
- Grandcoin, A., Piel, S., y Baurès, E. (2017). AminoMethylPhosphonic Acid (AMPA) in natural waters: Its sources, behavior and environmental fate. *Water Research*, 117.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.055>
- Guo, W.-Q., Yang, Z., Du, J., Yin, R., Zhou, X., Jin, S., y Ren, N.-Q. (2016). Degradation of sulfadiazine in water by UV/O₃ process: Performance and degradation pathway. *RSC Adv.*, 6. <https://doi.org/10.1039/C6RA09078H>
- Hoigné, J., Bader, H., Haag, W. R., y Staehelin, J. (1985). Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—III. Inorganic compounds and radicals. *Water Research*, 19(8), 993–1004. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0043-1354\(85\)90368-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0043-1354(85)90368-9)
- Homem, V., y Santos, L. (2011). Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices – A review. *Journal of Environmental Management*, 92(10), 2304–2347.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.05.023>
- Ikehata, K., Jodeiri Naghashkar, N., y Gamal El-Din, M. (2006). Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: A review. *Ozone: Science and Engineering*, 28(6), 353–414. <https://doi.org/10.1080/01919510600985937>
- Jarošová, B., Bláha, L., Giesy, J. P., y Hilscherová, K. (2014). What level of estrogenic activity determined by in vitro assays in municipal waste waters can be considered as safe? *Environment International*, 64, 98–109.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.12.009>
- Jones, O. A., Voulvoulis, N., y Lester, J. N. (2001). Human pharmaceuticals in the aquatic environment a review. *Environmental Technology*, 22(12), 1383–1394.

- <https://doi.org/10.1080/09593332208618186>
- Kim, S. D., Cho, J., Kim, I. S., Vanderford, B. J., y Snyder, S. A. (2007). Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. *Water Research*, 41(5), 1013–1021.
- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.034>
- Knepper, T. P., Sacher, F., Lange, F. T., Brauch, H. J., Karrenbrock, F., Roerden, O., y Lindner, K. (1999). Detection of polar organic substances relevant for drinking water. *WASTE MANAGEMENT -PERGAMON PRESS-*, Vol. 19, pp. 77–100. Retrieved from http://explore.bl.uk/primo_library/libweb/action/display.do?tabs=detailsTab&yathStatTab=true&yct=display&yfn=search&ydoc=ETOCRN059971530&yindx=1&yrecIds=ETOCRN059971530
- Kumari, M., y Kumar, A. (2020). Human health risk assessment of antibiotics in binary mixtures for finished drinking water. *Chemosphere*, 240, 124864.
- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124864>
- Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere*, 75(4), 417–434.
- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>
- Kuster, M., López de Alda, M. J., Hernando, M. D., Petrovic, M., Martín-Alonso, J., y Barceló, D. (2008). Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). *Journal of Hydrology*, 358(1), 112–123.
- <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2008.05.030>
- Liu, S., Lim, M., Chiang, K., Scientific, T. C., Amal, R., y Reactions, P. (2007). *A Study on the Removal of Humic Acid Using Advanced Oxidation Processes A Study on the Removal of Humic Acid Using Advanced Oxidation Processes*. (May).
- <https://doi.org/10.1080/01496390701289799>
- Llamas, M., Vadillo-Pérez, I., Candela, L., Jiménez-Gavilán, P., Corada-Fernández, C., y Castro-Gámez, A. F. (2020). Screening and distribution of contaminants of emerging concern and regulated organic pollutants in the heavily modified guadalhorce river basin, southern Spain. *Water (Switzerland)*, 12(11), 1–19. <https://doi.org/10.3390/w12113012>
- López, E. M. (2016). *Situación Actual de los Contaminantes Emergentes en las Aguas Residuales: Efectos Ambientales y para la Salud Pública*. (Cim), 1–32.
- Maldonado, M. L. (2012). *Investigación de la inactivación de Clostridium perfringens y Enterococcus sp. en aguas mediante procesos convencionales y avanzados de oxidación*. Universidad de Zaragoza.
- Mohd Nasir, F. A., Praveena, S. M., y Aris, A. Z. (2019). Public awareness level and occurrence of pharmaceutical residues in drinking water with potential health risk: A study from

- Kajang (Malaysia). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 185, 109681.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109681>
- Molins Delgado, D. (2017). Productos de cuidado personal en el medio ambiente : presencia, destino y efectos. *TDX (Tesis Doctorals En Xarxa)*. Retrieved from
<http://www.tesisenred.net/handle/10803/461951>
- Mompelat, S., Le Bot, B., y Thomas, O. (2009). Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environment International*, 35(5), 803–814. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.10.008>
- Moreno-Andrés, J., Morillo-Ponce, J., Ibáñez-López, M. E., Acevedo-Merino, A., & García-Morales, J. L. (2020). Disinfection enhancement of single ozonation by combination with peroxymonosulfate salt. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5), N.PAG.
- Olaleye, M. T., y Rocha, B. T. J. (2008). Acetaminophen-induced liver damage in mice: effects of some medicinal plants on the oxidative defense system. *Experimental and Toxicologic Pathology : Official Journal of the Gesellschaft Fur Toxikologische Pathologie*, 59(5), 319–327. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2007.10.003>
- Owen Stewart F., Giltrow Emma, Huggett Duane B., Hutchinson Thomas H., Saye Joanne, Winter Matthew J., Sumpter John P. (2006). *Comparative physiology, pharmacology and toxicology of β -bloques: Mammals versus fish*". Volumen 82, nº 3. 15 de mayo 2007, páginas 145-162.
- Pal, R., Megharaj, M., Kirkbride, K. P., y Naidu, R. (2013). Illicit drugs and the environment — A review. *Science of The Total Environment*, 463–464, 1079–1092.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.05.086>
- Petrovic, M., Gonzalez, S., y Barcelo, D. (2003). Analysis and Removal of Emerging Contaminants in Wastewater and Drinking Water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22, 685–696. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)01105-1](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)01105-1)
- Prados Joya, G. (2010). *Tratamiento de aguas para la eliminación de antibióticos - nitroimidazoles- mediante adsorción sobre carbón activado y tecnologías avanzadas de oxidación*. Editorial de la Universidad de Granada.
- Praveena, S. M., Mohd Rashid, M. Z., Mohd Nasir, F. A., Sze Yee, W., y Aris, A. Z. (2019). Occurrence and potential human health risk of pharmaceutical residues in drinking water from Putrajaya (Malaysia). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 180, 549–556.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.051>
- Polverino, G., Martin, J. M., Bertram, M. G., Soman, V. R., Tan, H., Brand, J. A., ... Wong, B. B. M. (2021). Psychoactive pollution suppresses individual differences in fish behaviour. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 288(1944), 20202294.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2020.2294>
- Ratola, N., Cincinelli, A., Alves, A., y Katsoyiannis, A. (2012). Occurrence of organic

- microcontaminants in the wastewater treatment process. A mini review. *Journal of Hazardous Materials*, 239–240, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.05.040>
- Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental. BOE nº 219, páginas 80582 a 80677
- Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. BOE nº 45, de 21/02/2003
- Rodríguez Morales, I., Valdés, Y. C., y Proveyer Derich, S. (2004). Citostáticos: medicamentos riesgosos. *Revista Cubana de Medicina*, Vol. 43, p. 0. scielocu
- Rojas, A. (2011). Conceptos y práctica de microbiología general. Universidad Nacional de Colombia, 1–161. <https://doi.org/10.1002/ijc.10666>.
- Rook J.J. 1974. Formation of haloforms during chlorination of natural water, *Journal of Water Treatment and Examination*, 23 (2), 234–243
- Shao, Y., Pang, Z., Wang, L., & Liu, X. (2019). Efficient Degradation of Acesulfame by Ozone/Peroxymonosulfate Advanced Oxidation Process. *Molecules* (Basel, Switzerland), 24(16). <https://doi.org/10.3390/molecules24162874>
- Shi, Y., Liu, J., Zhuo, L., Yan, X., Cai, F., Luo, W., ... Yu, Y. (2020). Antibiotics in wastewater from multiple sources and surface water of the Yangtze River in Chongqing in China. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(3), 159. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-8108-6>
- Stackelberg, P. E., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Zaugg, S. D., Henderson, A. K., y Reissman, D. B. (2004). Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant. *Science of The Total Environment*, 329(1), 99–113. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.03.015>
- States., U., Agency., E. P., y Water., O. of. (1999). *Alternative disinfectants and oxidants guidance manual*. [Washington, D.C.]: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water.
- Tejada, C., Quiñonez, E., y Peña, M. (2014). Contaminantes Emergentes en Aguas: Metabolitos de Fármacos. Una Revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 10(1), 80. <https://doi.org/10.18359/rfcb.341>
- Tomiyasu, H., Fukutomi, H., y Gordon, G. (1985). Kinetics and mechanism of ozone decomposition in basic aqueous solution. *Inorganic Chemistry*, 24(19), 2962–2966. <https://doi.org/10.1021/ic00213a018>
- Urbano, V. R., Maniero, M. G., Pérez-Moya, M., y Guimarães, J. R. (2017). Influence of pH and ozone dose on sulfaquinoxaline ozonation. *Journal of Environmental Management*, 195, 224–231. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.08.019>

- Valero Lázaro, P. (2017). Regeneración de aguas de salida de depuradora mediante procesos convencionales y avanzados de oxidación
- Villagrasa, M., López de Alda, M., y Barceló, D. (2006). Environmental analysis of fluorinated alkyl substances by liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386(4), 953–972. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0471-9>
- von Gunten, U. (2003). Ozonation of drinking water: part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine. *Water Research*, 37(7), 1469–1487. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00458-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00458-X)
- Wang, J., y Wang, S. (2018). Activation of persulfate (PS) and peroxymonosulfate (PMS) and application for the degradation of emerging contaminants. *Chemical Engineering Journal*, 334, 1502–1517. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.11.059>
- Yang, Y., Jiang, J., Lu, X., Ma, J., y Liu, Y. (2015). Production of Sulfate Radical and Hydroxyl Radical by Reaction of Ozone with Peroxymonosulfate: A Novel Advanced Oxidation Process. *Environmental Science and Technology*, 49(12), 73307339. <https://doi.org/10.1021/es506362e>
- Yang, Ying & Guo, Hongguang & Zhang, Yongli & Deng, Qinzuo & Zhang, Jing. (2016). Degradation of Bisphenol A Using Ozone/Persulfate Process: Kinetics and Mechanism. *Water, Air, & Soil Pollution*. 227. 10.1007/s11270-016-2746-x.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., Fanelli, R., Reitano, G., Bagnati, R., Chiabrando, C., ... Calamari, D. (2006). Pharmaceuticals in the Environment in Italy: Causes, Occurrence, Effects and Control. *Environmental Science and Pollution Research International*, 13, 15–21. <https://doi.org/10.1065/espr2006.01.004>

Anexo I. Clasificación de los CEs.

A continuación, se presenta una clasificación de muchos de los contaminantes presentes y descritos a lo largo de este trabajo, ejemplificándolo con algunas de las sustancias más comunes dentro de cada grupo:

Tabla 9: Clasificación de los Contaminantes Emergentes (Bolong et al., 2009; López, 2016)

Productos farmacéuticos, antibióticos y analgésicos
Eritromicina, aspirina, ibuprofeno, diclofenaco, diazepam, propanodol, codeína, paracetamol, amoxicilina...
Drogas ilegales.
Cocaína, éxtasis...
Hormonas sexuales y anticonceptivos.
Estrona, estriol, estradiol, dietilbestrol...
Productos personales, perfumes, insecticidas, protección solar.
Hidrocarburos aromáticos policíclicos, benzofenona, cipermetrina, parabenos
Antisépticos
Triclosan, clorofeno
Retardantes de llama
Difenileil éteres polibromados, bisfenol-A
Aditivos de gasolina
Metil-t-butil éter
Desinfección
Yodo, bromatos, alquilfenoles, bromoácidos
Subproductos de desinfección en aguas
THM, cloritos-cloratos, halo nitrilos, bromoaldehídos
Aditivos industriales
Bisfenol-A, ftalatos, alquilfenoles

Anexo II. Usos de los fármacos mencionados.

A continuación, se presenta una breve descripción de todos los fármacos mencionados a lo largo de este estudio con la finalidad de facilitar su lectura y conocer su uso actualmente en la población:

Tabla 10: Clasificación y usos de los diferentes fármacos

Productos farmacéuticos		Usos recomendados
Ácido clofíbrico		Pacientes con dislipidemia, una alteración de las concentraciones plasmáticas de los lípidos por hipercolesterolemia o hipertrigliceridemia.
Diclofenaco		Inhibidor no selectivo, pertenecientes a la familia de los antiinflamatorios no esteroideos.
Carbamazepina		En combinación con otros medicamentos, se receta para controlar ciertos tipos de convulsiones en episodios de epilepsia.
Ibuprofeno		Medicamento comúnmente autorecetado para tratar la fiebre o dolor. Perteneciente a los antiinflamatorios no esteroideos.
Paracetamol		Recetado para aliviar el dolor, reducir la fiebre, entre otros usos.
Penicilina		Usado contra infecciones provocadas por bacterias como neumonías, infecciones de oído, piel, boca, encías, etc.
	→ Amoxicilina	
	→ Azitromicina	
Cefalosporina		Antibiótico recetado contra infecciones bacterianas
	→ Cefuroxima	
Carbapenemes		Antibióticos de amplio espectro, recetados ante bacterias resistentes a otros antibióticos.
Fluoroquinolonas		Antibiótico sintético de amplio espectro.

Anexo III. Lista de observación de sustancias en seguimiento por la UE

Las sustancias de la lista de observación han de seleccionarse de entre aquellas que puedan suponer un riesgo significativo en la Unión para el medio acuático, pero para las que los datos de seguimiento sean insuficientes a efectos de determinar el riesgo real. Deben considerarse para su inclusión en la lista de observación sustancias altamente tóxicas que se utilizan en numerosos Estados miembros y se vierten en el medio acuático, pero que nunca o rara vez son objeto de seguimiento. En dicha revisión, ha de estudiarse la posibilidad de incluir en la lista de sustancias prioritarias aquellas sustancias que se considere representan un riesgo significativo. A continuación, se debería establecer también una norma de calidad ambiental, que los Estados miembros habrían de cumplir. La propuesta de una sustancia para su inclusión en la lista de sustancias prioritarias sería objeto de una evaluación de impacto.

Tabla 11: Lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión, de conformidad con el artículo 8 de la Directiva 2008/105/CE

Nombre de la sustancia/grupo de sustancias	N.º CAS	N.º UE	Método analítico indicativo	Límite máximo aceptable de detección del método (ng/l)
Metaflumizona	139968-49-3	604-167-6	LLE, LC-MS-MS o SPE, LC-MS-MS	65
Amoxicilina	26787-78-0	248-003-8	SPE, LC-MS-MS	78
Ciprofloxacina	85721-33-1	617-751-0	SPE, LC-MS-MS	89
Sulfametoxazol	723-46-6	211-963-3	SPE, LC-MS-MS	100
Trimetoprim	738-70-5	212-006-2	SPE, LC-MS-MS	100
Venlafaxina y O-desmetilvenlafaxina	93413-69-5 93413-62-8	618-944-2 700-516-2	SPE, LC-MS-MS	6
Dimoxistrobina	149961-52-4	604-712-8	SPE, LC-MS-MS	32
Famoxadona	131807-57-3	603-520-1	SPE, LC-MS-MS	8,5

Tabla 12: Lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión, de conformidad con el artículo 8 de la Directiva 2008/105/CE (cont.)

Nombre de la sustancia/grupo de sustancias	N.º CAS	N.º UE	Método analítico indicativo	Límite máximo aceptable de detección del método (ng/l)
Compuestos azólicos :				
Clotrimazol	23593-75-1	245-764-8	SPE, LC-MS-MS	20
Fluconazol	86386-73-4	627-806-0		250
Imazalil	35554-44-0	252-615-0		800
Ipconazol	125225-28-7	603-038-1		44
Metconazol	125116-23-6	603-031-3		29
Miconazol	22916-47-8	245-324-5		200
Penconazol	66246-88-6	266-275-6		1 700
Procloraz	67747-09-5	266-994-5		161
Tebuconazol	107534-96-3	403-640-2		240
Tetraconazol	112281-77-3	407-760-6		1 900

Anexo IV. Familias de antibióticos consumidos en UE

En la siguiente tabla se muestran algunas de las familias de antibióticos presentes y consumidos a nivel europeo:

Tabla 13: Familia de antibióticos consumidos en UE

FAMILIA	MECANISMO DE INHIBICIÓN	ANTIBIÓTICOS
BETALACTÁMICOS: Penicilinas	Síntesis de la pared celular bacteriana	Penicilina G, Penicilina V, Ampicilina, Amoxicilina, Cloxacilina, Oxacilina, Cicloxacilina, Ticarcilina, Piperacilina
BETALACTÁMICOS: Cefalosporinas	Síntesis de la pared celular bacteriana	Cefadroxil, Cefazolina, Cefalexina, Cefradina, Cefuroxima, Cefotaxima, Ceftriaxona, Ceftazidima, Cefoperazona, Cefepima, Cefpiroma, Ceftriaxona
BETALACTÁMICOS: Carbapenemes	Síntesis de la pared celular bacteriana	Imipenem, Meropenem
GLUCOPÉPTIDOS	Síntesis de la pared celular bacteriana	Vancomicina, Teicoplanina, Avoparcina, Oritavancina, Dalvavancina
AMINOGLUCÓSIDOS	Síntesis de proteína	Estreptomina, Kanamicina, Gentamicina, Neomicina, Amikacina, Tobramicina, Cisomicina, Paranomina
MACRÓLIDOS	Síntesis de proteína	Eritromicina, Claritromicina, Azitromicina, Dinitromicina, Oleandomicina, Tilosina, Espiramicina, Tilmicosina, Roxitromicina
LINCOSAMIDAS	Síntesis de proteína	Lincomicina, Clindamicina, Pirlimicina,
QUINOLONAS	ADN girasa	Ácido nalidíxico, Á. pipemídico, Á. piromídico, Á. Oxolínico Norfloxacin, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Gatifloxacina, Moxifloxacina, Trovafloxacina, Perfloxacina, Ofloxacina, Enrofloxacina, Danofloxacina, Marbofloxacina, Sarafloxacina
TETRACICLINAS	Síntesis de proteína	Tetraciclina, Oxitetraciclina, Clortetraciclina, Doxiciclina, Minociclina, Limeciclina, Tigerciclina
SULFONAMIDAS	Síntesis de ácido fólico	Sulfapiridina, Sulfadiazina, Sulfafurazol, Sulfacina, Sulfametizol, Sulfametoxazol, Sulfadimetoxina, Sulfametoxidiazina, Sulfametoxipiridazina, Sulfadoxina,
DIAMINOPIRAMIDINAS	Síntesis de ácido fólico	Trimetoprima, Baquiloprima, Cotrimoxazol

Anexo V. Clasificación de los PAOs.

A continuación, se muestra un breve diagrama que clasifica los actuales procesos avanzados de oxidación en dos grandes grupos ateniéndose a la heterogeneidad o no de sus procesos:

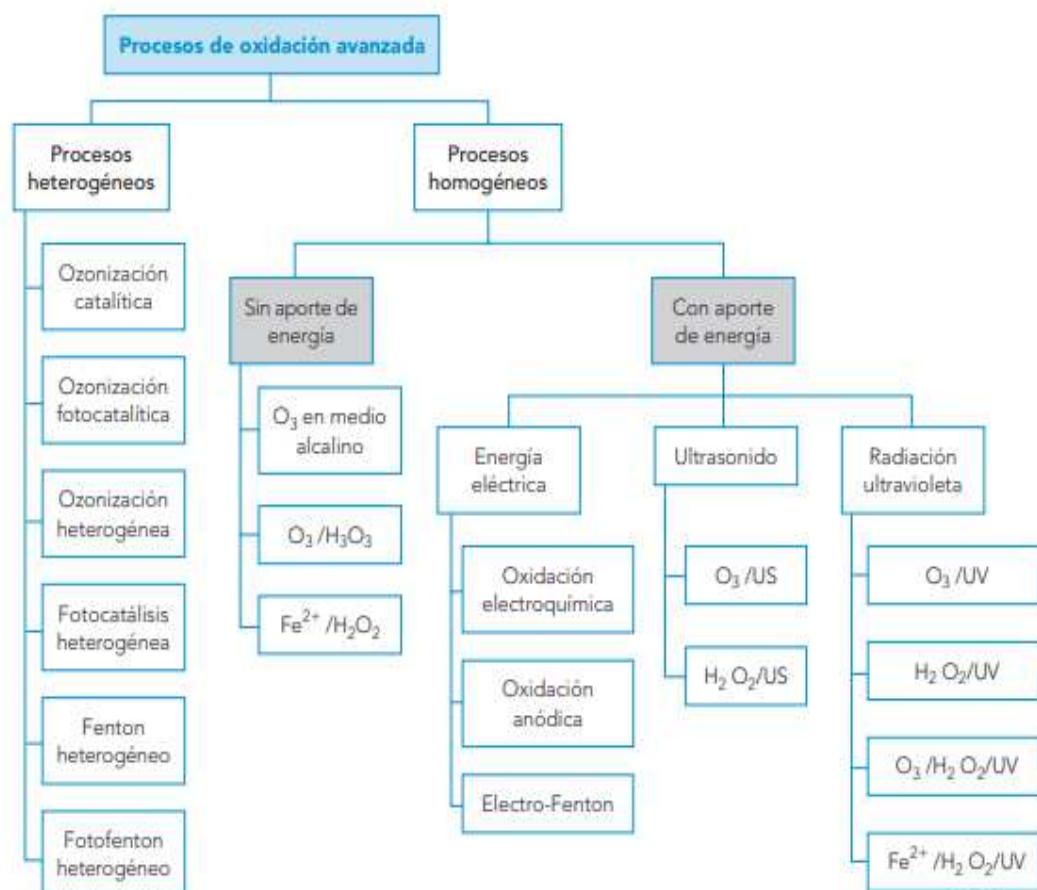


Figura 29: Situación actual de los Procesos Avanzados de Oxidación Fuente: Rodríguez, J. et al., 2010

Anexo VI. Resultados de la experimentación.

1. Calibración del ozonizador.

A continuación, se muestran los resultados números de los ensayos realizados en la calibración del ozonizador, cuya representación gráfica puede observarse en la *figura 13*.

Tabla 14: Resultados de calibración del ozonizador

T (s)	10	15	30	60	120
V. tiosulfato (mL)	0,7	1	2,2	4,3	8,1
	0,68	0,95	1,9	4,35	8,6
	0,7	1	2	4,2	8,35
\bar{X}	0,69	0,98	2,03	4,28	8,4
mg O ₃	8,32	11,8	24,4	51,4	100,2
mg O ₃ /h	2995,2	2832	2928	3084	3006

2. Preparación y estandarización de tiosulfato sódico 0.1 N.

- **Preparación y estandarización de reactivos**

- **Tiosulfato sódico 0.1 N.**

Se ha recurrido a un método estandarizado, pero adaptado a la preparación de una solución de tiosulfato sódico en 250 ml debido a su susceptibilidad a la degradación. Para ello, se prepara suficiente agua destilada para enrasar a nuestro volumen final, pero ha de ser hervida y, posteriormente, enfriada.

Se pesan 6,25 g de cristales de tiosulfato, que se disuelven en 70 mL de esta agua destilada enfriada, al que se adicionan 0,2 g de carbonato de sodio, con la finalidad de mantener la muestra estable por un mayor lapso de tiempo. Se trasvasa a un matraz de 250 mL y finalmente, se enrasa.

Debido a que el tiosulfato sódico no es un patrón primario, es obligatoria su previa estandarización con dicromato potásico para determinar exactamente su concentración. Para ello se toman 80 mL de H₂O destilada a la que se añaden 1 mL de HCl 1N, 1 g de KI y 10 mL de K₂Cr₂O₇ 0.1N. Esta mezcla debe permanecer 6 minutos en oscuridad antes de ser valorada con la disolución de tiosulfato sódico que se va a

estandarizar. Igualmente, se valora hasta que el color pardo rojizo pasa a amarillo y tras la adición del almidón, se valora hasta la desaparición del color morado.

- **Dicromato potásico 0.1 N.**

La preparación de este compuesto únicamente se destina a la estandarización del tiosulfato sódico. Para la preparación de 250 mL, y teniendo en cuenta que el dicromato se comporta con un total de 6 equivalentes en la reacción, la cantidad a pesar queda fijada en la siguiente formula:

$$g_{\text{dicromato}} = 0,1 (N) \cdot \frac{294,183}{6} \cdot 0,25 (L) = 1,23 g \quad [23];$$

siendo 294,183 su peso atómico.

- **Estandarización del tiosulfato 0,1 N.**

A continuación, se presentan los datos relativos a la titulación realizada el 18 de febrero de 2021. A lo largo de la experimentación, la preparación de más cantidad de tiosulfato ha sido requerida, realizándose siempre la estandarización previa al uso del mismo.

Tabla 15: Resultados de la estandarización del tiosulfato sódico

Volumen gastado (mL)	9,85
	10,1
\bar{X}	9,975
Normalidad	0,1

3. Inactivación de *Enterococcus sp.*

3.1 Inactivación con ozono.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos a raíz de los experimentos realizados en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante ozono, verificando los resultados por triplicado:

Tabla 16: Resultados de inactivación de *Enterococcus sp.* con O_3

OZONO							
T (s)	0	3	6	12	30	60	120
N_t (UFC/100mL)	1,08E+08	3,45E+06	6,60E+05	6,30E+04	4,90E+03	1,90E+03	2,00E+03
	8,70E+07	2,65E+06	5,50E+05	7,20E+04	5,40E+03	2,90E+03	1,20E+03
	9,10E+07	2,64E+06	3,90E+05	7,10E+04	4,00E+03	2,70E+03	1,60E+03
\bar{X}	9,53E+07	2,91E+06	5,33E+05	6,87E+04	4,77E+03	2,50E+03	1,60E+03
S	1,12E+07	4,65E+05	1,36E+05	4,93E+03	7,09E+02	5,29E+02	4,00E+02
CV (%)	0,12	0,16	0,25	0,07	0,15	0,21	0,25
$\text{Log}(N_t/N_0)$	0	-1,51	-2,25	-3,14	-4,30	-4,58	-4,78

3.2 Inactivación con PS/PMS.

A continuación, se muestran, en tablas separadas, los resultados obtenidos a raíz de los experimentos realizados en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante el tratamiento combinado de ozono con las sales PS/PMS, verificando los resultados por triplicado:

Tabla 17: Resultados de inactivación de *Enterococcus sp.* con PMS/ O_3

PMS							
T (s)	0	3	6	12	30	60	120
N_t (UFC/100mL)	2,29E+08	1,59E+06	3,90E+05	6,60E+04	4,60E+03	6,25E+02	1,10E+02
	2,15E+08	1,27E+06	3,60E+05	3,80E+04	5,60E+03	5,50E+02	1,60E+02
	2,20E+08	1,04E+06	3,20E+05	3,50E+04	6,40E+03	4,40E+02	1,00E+02
\bar{X}	2,21E+08	1,30E+06	3,57E+05	4,63E+04	5,53E+03	5,38E+02	1,23E+02
S	7,09E+06	2,76E+05	3,51E+04	1,71E+04	9,02E+02	9,31E+01	3,21E+01
CV (%)	0,03	0,21	0,10	0,37	0,16	0,17	0,26
$\text{Log}(N_t/N_0)$	0	-2,23	-2,79	-3,68	-4,60	-5,61	-6,25

Tabla 18: Resultados de inactivación de *Enterococcus* sp. con PS/O₃

PS							
T (s)	0	3	6	12	30	60	120
N _t (UFC/100mL)	2,20E+08	1,39E+06	7,90E+05	8,50E+04	7,80E+03	1,57E+03	9,00E+02
	1,60E+08	1,84E+06	6,30E+05	7,20E+04	7,50E+03	1,24E+03	1,03E+03
	1,80E+08	1,37E+06	5,70E+05	7,60E+04	6,20E+03	1,01E+03	6,90E+02
\bar{X}	1,87E+08	1,53E+06	6,63E+05	7,77E+04	7,17E+03	1,27E+03	8,73E+02
S	3,06E+07	2,66E+05	1,14E+05	6,66E+03	8,50E+02	2,81E+02	1,72E+02
CV (%)	0,16	0,17	0,17	0,09	0,12	0,22	0,20
Log(N _t /N ₀)	0	-2,09	-2,45	-3,38	-4,42	-5,17	-5,33

3.3 Consumos de ozono.

A continuación, se muestran los promedios, en tablas separadas, de los consumos de ozono obtenidos a raíz de los experimentos realizados en la inactivación de *Enterococcus* sp. mediante tratamientos con O₃, O₃+PMS y O₃+PS:

Tabla 19: Consumo de ozono en ozonización simple en inactivación de *Enterococcus* sp.

OZONO							
T (s)	0	3	6	12	30	60	120
mL Tiosulfato	0	0	0	0	1	1,6	3,5
mg O ₃ introducido	0	1,9	4,5	9,6	24	51,4	100,8
mg O ₃ valorado	0	0	0	0	12	19,2	42
mg O ₃ consumido	0	1,9	4,5	9,6	12	32,2	58,8

Tabla 20: Consumo de ozono en PMS/O₃ en inactivación de *Enterococcus* sp.

PMS							
T (s)	0	3	6	12	30	60	120
mL Tiosulfato	0	0	0	0	0,1	0,6	2
mg O ₃ introducido	0	1,9	4,5	9,6	24	51,4	100,8
mg O ₃ valorado	0	0	0	0	1,2	7,2	24
mg O ₃ consumido	0	1,9	4,5	9,6	22,8	44,2	76,8

Tabla 21: Consumo de ozono en PS/O₃ en inactivación de *Enterococcus* sp.

PS							
T (s)	0	3	6	12	30	60	120
mL Tiosulfato	0	0	0	0	0,6	1	2,6
mg O ₃ introducido	0	1,9	4,5	9,6	24	51,4	100,8
mg O ₃ valorado	0	0	0	0	7,2	12	31,2
mg O ₃ consumido	0	1,9	4,5	9,6	16,8	39,4	69,6

3.4 Inactivación con PMS a diferentes concentraciones.

A continuación, se muestran, en tablas separadas, los resultados obtenidos a raíz de los experimentos realizados en la inactivación de *Enterococcus* sp. mediante O₃+PMS, verificando los resultados por triplicado (los resultados referentes a una concentración de 1 mgPMS/L se encuentran en la *tabla 18*):

Tabla 22: Resultados de inactivación de *Enterococcus* sp. a 0,5 mg/L PMS/O₃

0,5 mg							
T (s)	0	3	6	12	30	60	120
N _t (UFC/100mL)	1,24E+08	1,05E+06	5,70E+05	7,30E+04	5,80E+03	6,00E+02	5,00E+02
	1,56E+08	1,12E+06	3,50E+05	4,40E+04	6,60E+03	5,00E+02	3,00E+02
	1,87E+08	1,39E+06	3,90E+05	5,90E+04	7,20E+03	1,00E+03	3,00E+02
\bar{X}	1,56E+08	1,19E+06	4,37E+05	5,87E+04	6,53E+03	7,00E+02	3,67E+02
S	3,15E+07	1,80E+05	1,17E+05	1,45E+04	7,02E+02	2,65E+02	1,15E+02
CV (%)	0,20	0,15	0,27	0,25	0,11	0,38	0,31
Log(N _t /N ₀)	0	-2,12	-2,55	-3,42	-4,38	-5,35	-5,63

Tabla 23: Resultados de inactivación de *Enterococcus* sp. a 2 mg/L PMS/O₃

2 mg							
T (s)	0	3	6	12	30	60	120
N _t (UFC/100mL)	1,22E+08	1,01E+06	2,90E+05	3,30E+04	3,50E+03	4,10E+02	0
	1,19E+08	6,90E+05	2,00E+05	2,10E+04	2,90E+03	1,60E+02	0
	1,38E+08	8,10E+05	1,50E+05	2,50E+04	2,30E+03	1,90E+02	1,00E+02
\bar{X}	1,26E+08	8,37E+05	2,13E+05	2,63E+04	2,90E+03	2,53E+02	3,33E+01
S	1,02E+07	1,62E+05	7,09E+04	6,11E+03	6,00E+02	1,37E+02	5,77E+01
CV(%)	0,08	0,19	0,33	0,23	0,21	0,54	1,73
Log(N _t /N ₀)	0	-2,18	-2,77	-3,68	-4,64	-5,70	-6,58

3.5 Consumo de ozono a diferentes concentraciones de PMS.

A continuación, se muestran los promedios observados en el consumo de ozono obtenidos a raíz de los experimentos realizados en la inactivación de *Enterococcus* sp. mediante O₃+PMS (los resultados referentes a una concentración de 1 mgPMS/L se encuentran en la tabla 21):

Tabla 24: Consumo de ozono a 0,5 mg/L PMS/O₃ en inactivación de *Enterococcus* sp.

0,5 mg							
T (s)	0	3	6	12	30	60	120
mL Tiosulfato	0	0	0	0	0,3	0,85	2,45
mg O ₃ introducido	0	1,9	4,5	9,6	24	51,4	100,8
mg O ₃ valorado	0	0	0	0	3,6	10,2	29,4
mg O ₃ consumido	0	1,9	4,5	9,6	20,4	41,2	71,4

Tabla 25: Consumo de ozono a 2 mg/L PMS/O₃ en inactivación de *Enterococcus* sp.

2 mg							
T (s)	0	3	6	12	30	60	120
mL Tiosulfato	0	0	0	0	0,1	0,5	1,8
mg O ₃ introducido	0	0	0	0	24	51,4	100,8
mg O ₃ valorado	0	0	0	0	1,2	6	21,6
mg O ₃ consumido	0	0	0	0	22,8	45,4	79,2

3.6 Inactivación con ajuste de pH

A continuación, se muestran, en tablas separadas, los resultados obtenidos a raíz de los experimentos realizados en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante O₃+PMS ajustando el pH a la neutralidad, verificando los resultados por triplicado:

Tabla 26: Resultados de inactivación de *Enterococcus sp.* a 1 mg/L PMS/O₃ ajustando pH a la neutralidad

1 mg ajustado							
T	0	3	6	12	30	60	120
N _t (UFC/100mL)	2,84E+08	1,22E+06	3,10E+05	4,10E+04	4,30E+03	3,00E+02	0
	2,08E+08	1,16E+06	3,90E+05	3,30E+04	3,60E+03	3,00E+02	0
\bar{X}	2,46E+08	1,19E+06	3,50E+05	3,70E+04	3,95E+03	3,00E+02	0
S	5,37E+07	4,24E+04	5,66E+04	5,66E+03	4,95E+02	0	0
CV (%)	0,22	0,04	0,16	0,15	0,13	0,00	0
LOG	0	-2,27	-2,80	-3,78	-4,75	-5,87	-7,00

4. Degradación de sulfadiazina.

4.1 Degradación con ozono.

A continuación, se muestran, en tablas separadas, los resultados individuales, como el promedio, obtenidos a raíz de los experimentos realizados en la degradación de sulfadiazina mediante O₃:

Tabla 27: Resultados de la degradación de sulfadiazina con O₃

Experimento 1							
T(s)	0	3	6	12	30	60	120
pH	7,02	6,97	6,84	6,78	6,71	6,56	6,38
ABS	1,42	1,36	1,335	1,31	1,203	1,045	0,756
SDZ (mg/L)	16,6	15,7	15,4	15,0	13,5	11,3	7,2
η_{SDZ} (%)	0	5,1	7,2	9,3	18,4	31,8	56,3
C org (mg/L)	14,05	13,59	13,22	12,96	12,85	12,65	12,21
η_{COT} (%)	0	3,3	5,9	7,8	8,5	10,0	13,1
Consumo O ₃ (mg)	0	1,9	4,5	9,6	21,6	44,2	68,4

Experimento 2							
T(s)	0	3	6	12	30	60	120
pH	6,92	6,96	6,87	6,81	6,68	6,52	6,25
ABS	1,32	1,285	1,282	1,275	1,18	1,066	0,791
SDZ (mg/L)	15,2	14,7	14,6	14,5	13,2	11,6	7,7
η_{SDZ} (%)	0	3,2	3,5	4,2	13,0	23,5	49,0
C org (mg/L)	13,5	12,97	12,79	12,75	12,64	12,44	12,02
η_{COT} (%)	0	3,93	5,26	5,56	6,37	7,85	10,96
Consumo O₃ (mg)	0	1,9	4,5	9,6	21,60	45,40	70,80

Promedio de los experimentos 1 y 2							
T(s)	0	3	6	12	30	60	120
pH	7,0	7,0	6,9	6,8	6,7	6,5	6,3
ABS	1,37	1,32	1,31	1,29	1,19	1,06	0,77
SDZ (mg/L)	15,88	15,21	15,01	14,79	13,37	11,45	7,49
$\eta_{[SFZ]}$	0,0	4,2	5,4	6,8	15,7	27,7	52,7
S	0,00	0,746	0,527	0,348	0,229	0,209	0,348
CV (%)	0	0,049	0,035	0,024	0,017	0,018	0,046
$\eta_{[COT]}$	0	3,60	5,58	6,66	7,46	8,91	12,03
C org (mg/L)	13,78	13,28	13,01	12,86	12,65	12,34	12,43
S	0	0,438	0,304	0,148	0,148	0,148	0,134
CV (%)	0	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
Consumo O₃ (mg)	0	1,9	4,5	9,6	21,6	44,8	69,6

4.2 Degradación con PMS/O₃

A continuación, se muestran, en tablas separadas, los resultados individuales, como el promedio, obtenidos a raíz de los experimentos realizados en la degradación de sulfadiazina mediante O₃+PMS:

Tabla 28: Resultados de la degradación de sulfadiazina con PMS/ O₃

Experimento 1							
T(s)	0	3	6	12	30	60	120
pH	6,78	6,59	6,34	6,09	5,8	5,07	4,61
ABS	1,297	1,207	1,178	1,093	0,956	0,757	0,485
SDZ (mg/L)	14,9	13,6	13,2	12,0	10,1	7,3	3,4
η_{SDZ} (%)	0	8,5	11,3	19,3	32,3	51,1	76,9
C org (mg/L)	12,5	11,99	11,71	11,34	10,74	10,09	9,585
η_{COT} (%)	0	4,1	6,3	9,3	14,1	19,3	23,3
Consumo O ₃ (mg)	0	1,9	4,5	9,6	21,6	44,2	70,8

Experimento 2							
T(s)	0	3	6	12	30	60	120
pH	7,04	6,51	6,37	6,03	5,78	5,13	4,65
ABS	1,61	1,32	1,21	1,087	0,924	0,727	0,475
SDZ (mg/L)	19,3	15,2	13,6	11,9	9,6	6,8	3,3
η_{SDZ} (%)	0	21,2	29,2	38,2	50,1	64,5	82,9
C org (mg/L)	12,94	11,85	11,78	11,29	10,36	10,1	9,45
η_{COT} (%)	0	8,4	9,0	12,8	19,9	21,9	27,0
Consumo O ₃ (mg)	0	1,9	4,5	9,6	22,8	45,4	72

Promedio de los experimentos 1 y 2							
T(s)	0	3	6	12	30	60	120
pH	6,91	6,55	6,355	6,06	5,79	5,1	4,63
ABS	1,45	1,26	1,19	1,09	0,94	0,74	0,48
SDZ (mg/L)	17,1	14,4	13,4	11,9	9,8	7,0	3,4
$\eta_{[SFZ]}$	0	14,9	20,2	28,8	41,2	57,8	79,9
S	3,11	1,12	0,318	0,060	0,318	0,298	0,099
CV (%)	0	0,078	0,024	0,005	0,032	0,042	0,030
$\eta_{[COT]}$	12,72	11,92	11,745	11,315	10,55	10,095	9,5175
C org (mg/L)	0	6,3	7,6	11,02	17,01	20,6	25,1
S	0	0,099	0,049	0,035	0,269	0,007	0,095
CV (%)	0	0,008	0,004	0,003	0,025	0,001	0,010
Consumo O ₃ (mg)	0	1,9	4,5	9,6	22,2	44,8	71,4