



**Universidad**  
Zaragoza

## **Trabajo Fin de Grado**

Eliminación de antibióticos presentes en aguas  
residuales urbanas mediante procesos avanzados  
de oxidación basados en ferrato potásico

*Antibiotic elimination study from urban  
wastewater by advanced oxidation processes  
based on potassium ferrate*

Autora

Irene Hernández Luque

Directora

Rosa Mosteo Abad

Grado en Ingeniería Química

Departamento de Ingeniería y Tecnologías del Medio Ambiente

Escuela de Ingeniería y Arquitectura de Zaragoza

2022

## **Agradecimientos**

*En primer lugar me gustaría agradecer a Rosa por su gran ayuda para que fuera posible realizar este trabajo.*

*A Dayana y a mis compañeras de laboratorio, por guiarme cuando lo necesitaba.*

*Gracias también a mis padres, mis abuelos y a mi hermana por su apoyo incondicional, sobre todo en la realización de este Trabajo Fin de Grado. A mis amigas por la compañía en estos años de carrera y a Javi por tener siempre las palabras correctas.*

## **Eliminación de antibióticos presentes en aguas residuales urbanas mediante procesos avanzados de oxidación basados en ferrato potásico**

### **RESUMEN**

La presencia de antibióticos ha sido detectada en aguas residuales urbanas, efluentes de hospitales y veterinarias, granjas, acuicultura e industrias farmacológicas debido a su uso para evitar y tratar infecciones bacterianas. Gracias a los nuevos métodos de análisis de contaminantes se ha determinado que los antibióticos se encuentran en concentraciones traza (ng/L o µg/L) en el medio. Por lo tanto, estos contaminantes se encuentran en el ciclo del agua ya que no se eliminan completamente en los tratamientos convencionales que hay actualmente en las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR), debido a que no están diseñadas para la eliminación de estos y no son capaces de oxidarlos o eliminarlos.

En los últimos años se está estudiando la eliminación de los antibióticos mediante diversas tecnologías convencionales y avanzadas, principalmente basadas en procesos de oxidación como pueden ser la fotocatalisis, la adsorción con carbón activo, los procesos Fenton modificados, etc. El hierro en estado 6+, también llamado ion ferrato ( $\text{FeO}_4^{2-}$ ), presenta un gran interés entre los investigadores debido a su alta capacidad de oxidación en la degradación de compuestos persistentes y no biodegradables como los antibióticos. En los últimos años se está investigando su aplicación, principalmente mediante el proceso de coagulación-floculación-decantación, tanto en la eliminación de compuestos orgánicos como microorganismos potencialmente patógenos presentes en aguas.

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Grado es investigar la aplicación del ferrato potásico en procesos de oxidación convencionales y avanzados para minimizar la contaminación por antibióticos en aguas reales de salida de EDAR.

En este trabajo se analiza la influencia de la concentración adicionada de ferrato (100-800 mg/L), la concentración de peróxido de hidrógeno añadida (200 y 325 mg/L), el pH del medio así como el tiempo de tratamiento. Los resultados obtenidos corroboran la mejora que supone el tratamiento Fenton modificado en comparación con el proceso de oxidación convencional basado en el proceso de coagulación-floculación-decantación así como el uso de radiación UV/Vis frente a luz natural. Los mejores resultados de reducción del antibiótico objeto de estudio están próximos al 90 % y se obtienen como consecuencia de las siguientes condiciones de operación: tratamiento aplicado Foto-Fenton 2 horas, concentración de ferrato 400 mg/L y concentración de peróxido 325 mg/L.

# Índice

MEMORIA .....	1
1 Introducción y objetivos .....	1
2 Fundamento teórico de los procesos .....	5
2.1 Proceso Coagulación-Floculación-Decantación basado en Ferrato Potásico .....	5
2.2 Proceso Fenton modificado .....	6
3 Procedimiento experimental .....	9
3.1 Selección de los contaminantes objeto de estudio.....	9
3.2 Muestras .....	10
3.2.1 Agua destilada para ensayos previos.....	10
3.2.2 Preparación muestras fortificadas .....	11
3.3 Preparación de experimentos Coagulación-Floculación-Decantación (CFD) .....	11
3.3.1 Materiales, reactivos y equipos.....	11
3.3.2 Procedimiento de trabajo .....	12
3.4 Preparación de experimentos modificación avanzada del tratamiento Fenton (CFD + agente oxidante) .....	13
3.5 Preparación de experimentos oxidación avanzada, Foto-Fenton.....	13
3.5.1 Reactivos, materiales y equipos .....	13
3.5.2 Procedimiento de trabajo .....	14
3.6 Métodos analíticos.....	15
3.6.1 Espectroscopía UV-Visible.....	15
3.6.2 Actividad antibiótica.....	16
3.7 Planificación de experimentos .....	16
4 Resultados .....	18
4.1 Ensayos preliminares .....	18
4.2 Tratamiento Coagulación-Floculación-Decantación (CFD).....	19
4.3 Modificación avanzada del tratamiento Fenton (CFD + agente oxidante) .....	21
4.4 Tratamiento de oxidación avanzada, Foto-Fenton .....	23

5	Conclusiones .....	30
6	Bibliografía .....	31
	ANEXO I – Metodología analítica .....	34
I.	Espectroscopía UV/Vis .....	34
I.I	Concentración de la cafeína .....	34
I.II	Concentración de la levofloxacin.....	35
I.III	Concentración de la doxiciclina.....	36
II.	Actividad antibiótica .....	38
III.	Valoración del H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	38
	ANEXO II – Resultados.....	40

# MEMORIA

## 1 Introducción y objetivos

En las últimas décadas, además de los contaminantes de las aguas conocidos, han surgido nuevas sustancias sin efecto directo aparente, los denominados contaminantes emergentes (CE). Según el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, son sustancias químicas o materiales que se detectan últimamente en las aguas y cuya presencia puede suponer un riesgo para el medio ambiente y la salud humana. Normalmente, se trata de compuestos que no están sometidos a una norma reguladora de calidad de agua que limite su presencia, pero podrían estar reguladas en el futuro si se determina que suponen un riesgo para el medio acuático a través de él.

La categoría de CE recoge una amplia variedad de sustancias de diversas propiedades físico-químicas. Se pueden clasificar de varias maneras en función de su origen, uso, efectos potenciales o el destino ambiental. Algunos de los principales grupos considerados como CE son (Dr. Calvo-Flores et al., 2018):

- Productos farmacéuticos y veterinarios
- Desinfectantes y biocidas
- Drogas ilícitas
- Químicos para el cuidado personal y otros productos de estilo de vida
- Químicos industriales
- Aditivos alimentarios
- Subproductos de la desinfección del agua
- Nanomateriales
- Patógenos acuáticos
- Toxinas biológicas

Diversos estudios demuestran como la mayoría de estos compuestos actúan como disruptores endocrinos (Patiño et al., 2014), ocasionando efectos negativos sobre la salud humana y alterando su correcto funcionamiento. Los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP de sus siglas en inglés), son considerados contaminantes emergentes desde el considerable aumento de su uso globalmente. Un estudio muestra como los PPCPs son los compuestos más frecuentemente encontrados en ríos, lagos e incluso en las aguas de consumo humano (Barlsçl et al., 2016).

El origen de los CE en el medio acuático es incierto, aunque se considera como principal causa la emisión continua a través de actividades antropogénicas. La eliminación incorrecta de medicamentos caducados y envases usados que aún contienen restos, el uso de productos químicos y pesticidas en el sector agrícola o incluso la excreción humana y animal de fármacos en efluentes domésticos y

veterinarios, son ejemplos de posibles vías de contaminación a través de las cuales llegan los CE a los sistemas acuáticos tales como aguas superficiales, residuales o subterráneas (dos S. Grignet et al., 2022).

Un gran número de CE se encuentran presentes en los efluentes domésticos, industriales y hospitalarios. Estos se someten a la estación de tratamiento de aguas residuales con el fin de reducir la contaminación de las aguas y tras su paso se vierten al cauce receptor (río, embalse, mar). Un estudio reporta que entre los compuestos farmacéuticos, los antibióticos son los que se han detectado en las concentraciones más altas en los efluentes de aguas residuales tratadas (Barlsçl et al., 2016).

La presencia de antibióticos ha sido detectada en aguas residuales urbanas, efluentes de hospitales y veterinarias, granjas, acuicultura e industrias farmacológicas debido a su uso para evitar y tratar infecciones bacterianas. Gracias a los nuevos métodos de análisis de contaminantes se ha determinado que los antibióticos se encuentran en concentraciones traza (ng/L o µg/L) (Moles et al., 2021) en el medio. Aunque se encuentran en concentraciones bajas, la presencia de estos en las aguas puede alterar el ecosistema y causar efectos tóxicos y adversos, como la resistencia antibiótica. Por tanto, son motivo de preocupación debido a que son sustancias químicas persistentes que no se eliminan completamente en los tratamientos convencionales que hay actualmente en las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR), ya que no están diseñadas para la eliminación de estos y no son capaces de oxidarlos o eliminarlos. Como resultado, estos efluentes todavía contaminados se liberan en las aguas. Además de las EDAR, las explotaciones ganaderas, así como los hospitales y la industria farmacéutica emiten estos CE de forma directa a las aguas superficiales.

Actualmente, España tiene muchas leyes y reglamentos vigentes sobre el agua, pero ninguno de ellos estipula claramente la concentración de antibióticos en las aguas residuales de las fuentes de vertido mencionadas. Dado que no existe un requerimiento legal, las instalaciones de depuración actuales no incluyen procesos que permitan eliminar del agua estos CE, por lo que permanecen inalterados durante en el ciclo integral del agua de nuestra ciudad.

Es por ello por lo que en el año 2015 la Comisión Europea de calidad de agua estableció una primera Lista de Observación de sustancias prioritarias que se consideraron con un riesgo significativo para la salud. Cada dos años se actualiza esta lista formada por los CE que deben analizarse en cada Estado Miembro. Los Estados Miembros deben analizar y enviar a la Comisión Europea los resultados de este control. Con esta información, la Comisión valora si los contaminantes de la Lista de Observación deben incluirse en la Lista de Sustancias Prioritarias (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, 2022). La Comisión Europea se reunió por última vez en Bruselas el 22 de julio de 2022 y se publicó la 4ª Lista de Observación (DE 2022/1307). Los antibióticos suponen el 15% de las sustancias que conforman esta lista.

En los últimos años se está estudiando la eliminación de los antibióticos mediante diversas tecnologías convencionales y avanzadas, principalmente basadas en procesos de oxidación. En el grupo de

investigación “Agua y Salud Ambiental” en el que se desarrolla la presente investigación, se ha estudiado la aplicación de procesos de oxidación basados en fotocatalisis y de adsorción con carbón activo obteniendo resultados prometedores en cuanto a la eliminación de un abanico amplio de antibióticos presentes en aguas reales de salida de depuradora y en aguas industriales procedentes de un matadero de conejos (Moles et al., 2022). De forma paralela, en los últimos años también se están desarrollando investigaciones relacionadas con el uso de ferrato potásico en procesos de Coagulación-Floculación-Decantación (CFD) para la reducción de antibióticos en aguas sintéticas, aguas de salida de depuradora y aguas superficiales reales (Hernando Giménez, 2021; Itzarbe et al., 2022; Molina Salazar, 2020; Vela Murillo, 2020).

El hierro en estado 6+, también llamado ion ferrato ( $\text{FeO}_4^{2-}$ ), presenta un gran interés entre los investigadores debido a su alta capacidad de oxidación en la degradación de compuestos persistentes y no biodegradables como los antibióticos. Estudios previos realizados en el grupo de investigación “Agua y Salud Ambiental” muestran que por ejemplo a escala de laboratorio el uso del  $\text{K}_2\text{FeO}_4$  produce buenos resultados de degradación, alcanzando valores máximos del 90% para enrofloxacin en aguas de salida de EDAR (Itzarbe et al., 2022). La especie Fe (VI) tiene muchas ventajas respecto a otros oxidantes usados en los tratamientos de EDAR debido a su gran potencial oxidante tanto en compuestos orgánicos como inorgánicos presentes en el medio. Además presenta propiedades coagulantes cuando se encuentra reducido en iones  $\text{Fe}^{3+}$  o en el compuesto  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ , que producen la adsorción y posterior precipitación de los contaminantes (Barlısçl et al., 2016).

Muchos estudios han demostrado que el ferrato es una sustancia química respetuosa con el Medio Ambiente ya que no produce subproductos tóxicos en su degradación, siendo los únicos que genera las especies reducidas Fe (III) e hidróxido de hierro.

Recientemente otras investigaciones se han llevado a cabo sobre la eliminación de productos farmacéuticos en el medio acuático a través de otras tecnologías como los procesos de oxidación avanzada (POA). Los POA incluyen todos los procesos catalíticos y no catalíticos basados en la generación del radical hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) que tiene una alta capacidad oxidante. Tales como, la fotólisis, la ozonización, los procesos basados en peróxido de hidrógeno, etc.

Existe poca literatura en la que se proponga el ferrato como modificación del Foto-Fenton clásico. Teniendo como únicas referencias el estudio de Martins et al., 2007, donde un efluente industrial contaminado con restos herbicidas se sometió a un tratamiento de oxidación-coagulación con ferrato potásico combinado con oxidación avanzada (Fenton y Foto-Fenton) y el estudio realizado por Matin et al., 2018 donde a la spora de una bacteria altamente resistente a la desinfección se le aplicaron los procesos de Fenton y Foto-Fenton con ferrato. Los resultados de ambos trabajos concluyeron que el efecto sinérgico del  $\text{H}_2\text{O}_2$  y el ferrato, en combinación con la radiación UV, es prometedor para la desinfección de aguas. La presente investigación se va a enfocar en el uso de ferrato potásico como

aporte de hierro en reacción de Fenton tanto en presencia de radiación UV/Vis externa como en su ausencia.

Por otro lado, la mayoría de las investigaciones publicadas hasta la actualidad utilizan aguas sintéticas de distinta complejidad, desde agua desionizada hasta aguas que simulan efluentes de depuradora. En este Trabajo Fin de Grado (TFG) se van a utilizar en la mayoría de los experimentos agua de salida de depuradora reales lo que aumenta la complejidad en la experimentación e interpretación de resultados. Sin embargo, se considera que ya es el momento de esta aproximación real para valorar adecuadamente el proceso a analizar. Este Trabajo de Fin de Grado pretende ser una continuación de una de las líneas de investigación actual del grupo “Agua y Salud Ambiental” ya que se va a evaluar por primera vez el uso del ferrato potásico como fuente de hierro en el proceso de oxidación avanzada denominado Foto-Fenton.

El objetivo principal de este trabajo es investigar la aplicación del ferrato potásico para minimizar la contaminación por antibióticos en aguas reales de salida de EDAR. El ferrato se utiliza acoplado a un tratamiento convencional como la Coagulación-Floculación-Decantación participando como coagulante/oxidante o la alternativa más novedosa respecto a otros estudios, utilizado dentro de un tratamiento de oxidación avanzada como una modificación del proceso Fenton donde participa junto al peróxido de hidrógeno.

Como objetivos secundarios se encuentran:

1. Evaluación de la capacidad del ferrato potásico en procesos de CFD
2. Evaluación de la capacidad del ferrato potásico en procesos Fenton
3. Evaluación de la mejora del proceso Fenton con el uso de luz
4. Análisis de las variables principales de operación

## 2 Fundamento teórico de los procesos

### 2.1 Proceso Coagulación-Floculación-Decantación basado en Ferrato Potásico

Las aguas residuales son consideradas dispersiones debido a la gran cantidad de materia en suspensión contenida en su seno. La mayoría de impurezas se eliminan por sedimentación, sin embargo, muchas de estas presentan un tamaño pequeño y no es suficiente. Es por ello que se recurre a otro tipo de operaciones para su correcta separación.

El tratamiento de CFD es uno de los procesos más consolidados y efectivos en el tratamiento de aguas residuales (Jorge et al., 2021). El fundamento de este proceso químico consiste en la adición de determinados reactivos al agua (coagulantes y floculantes) que alteran su estado físico con objeto de favorecer la sedimentación de la materia coloidal no sedimentable y de favorecer la flotabilidad de las partículas.

El proceso de CFD se divide en los siguientes pasos:

- Coagulación-Floculación: A través del uso de reactivos químicos se desestabilizan las impurezas por superación de las fuerzas que las mantienen estables, a este proceso se le denomina coagulación. A través de la agitación lenta se genera la agrupación de esas partículas desestabilizadas llamadas coloides para formar partículas más estables y de mayor tamaño, denominadas flóculos (Aguilar et al., 2002). Estos últimos son capaces de decantar o de flotar.

Los coagulantes convencionales más utilizados en el pretratamiento de las aguas residuales son las sales metálicas de hierro ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ) y aluminio ( $\text{Al}^{3+}$ ), como: sulfato de alúmina, cloruro férrico, sulfato férrico, sulfato ferroso, etc. En este trabajo se ha utilizado el ferrato potásico como alternativa a los coagulantes inorgánicos comunes para el tratamiento de las aguas residuales urbanas de salida de depuradora.

- La división de la fase sólida (flóculos) y la fase líquida (matriz acuosa) se logra por medio de una separación física, generalmente por decantación, flotación o filtración.

En este trabajo se aplica el tratamiento CFD basado en ferrato potásico como un proceso de oxidación, además de su capacidad para mejorar la separación de los sólidos en suspensión presentes, ya que los contaminantes objeto de estudio son compuestos orgánicos pertenecientes a diferentes familias de antibióticos. En esta situación el ferrato actúa como agente coagulante y oxidante. El ferrato potásico es un reactivo que potencialmente muestra todas las características que se desean en el pretratamiento de las aguas residuales, como desinfección, eliminación de microorganismos, oxidación parcial de impurezas orgánicas e inorgánicas y eliminación de la materia particulada, así como de los metales pesados (Martins et al., 2007). Su doble carácter coagulante/oxidante hace que sea una alternativa

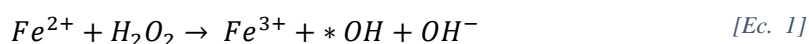
prometedora en el estudio de tratamiento de aguas. Diversos estudios proponen al ferrato como un reactivo óptimo en la eliminación de antibióticos. Su estado en forma de Fe (VI) le confiere un gran carácter oxidante en un amplio rango de pH, teniendo un potencial de oxidación superior al ozono y al hipoclorito (Martins et al., 2007), ambos utilizados en los tratamientos de agua clásicos. En cuanto a su alto potencial redox, no solo oxida contaminantes en el agua, si no que también elimina coliformes totales, una propiedad que los coagulantes comunes no tienen (Barlıoç et al., 2016). Además el Fe (VI) no genera subproductos tóxicos.

Su aspecto en sólido es de gránulos irregulares y de color morado muy oscuro. Como sólido seco es estable pero en disolución acuosa la especie Fe (VI) es muy inestable y se reduce a iones Fe (III) o en hidróxido de hierro (III), que actúa como coagulante. El grado de descomposición depende de factores como la concentración inicial de ferrato, de los iones coexistentes en la muestra, del pH y de la temperatura.

## 2.2 Proceso Fenton modificado

Los procesos de oxidación avanzada (POA) son procesos de aguas realizados a presión y temperatura cercanos a las condiciones ambientales, que implican la generación de radicales hidroxilo en cantidad suficiente para interactuar con los compuestos orgánicos presentes en el medio. Aprovechan la alta capacidad oxidante del radical \*OH. Estos procesos se caracterizan por la formación 'in situ' de las especies reactivas del oxígeno (ROS), cada tipo de proceso se diferencia por la fuente de la que se genera estas especies.

El proceso Fenton clásico es un POA basado en la adición de sales de hierro (II) como catalizador en presencia de peróxido de hidrógeno. El proceso Fenton se debe a la generación de ROS, encargadas de oxidar los contaminantes, a partir de los reactivos mencionados. La principal especie reactiva de oxígeno es el radical hidroxilo, aunque no es la única que se forma. La descomposición del peróxido en presencia de hierro genera varias ROS capaces de oxidar materia orgánica y desinfectar las aguas. En la [Ec. 1] se muestra la reacción de formación del \*OH en el proceso Fenton clásico.



Para que el proceso ocurra se debe cumplir la siguiente condición, el pH del medio debe encontrarse entre los valores (~ pH 3-5), ya que fuera de este rango se ve favorecida la precipitación de la sal de hierro y la descomposición del peróxido en oxígeno molecular y agua.

Las principales ventajas que presenta el proceso Fenton respecto a otras POA son (Cuerda-Correa et al., 2020):

- La abundancia y no toxicidad de los reactivos principales del proceso. La sal de Fe<sup>2+</sup> es adicionada generalmente en forma de FeSO<sub>4</sub> y el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por sí mismo es inocuo y común.
- No se forman componentes tóxicos en el proceso.

- El diseño del reactor es sencillo y no requiere de tecnologías avanzadas.
- Como ventaja adicional está la formación de complejos que promueven la coagulación de los sólidos en suspensión tras las reacciones de oxidación.

Sin embargo, el proceso Fenton también presenta desventajas, la recuperación de  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  es extremadamente lenta y produce lodos de hierro, lo que fuerza que deba someterse a otro proceso para eliminar la concentración de hierro disuelta. Además, como se ha comentado con anterioridad, las reacciones tradicionales de Fenton están estrictamente limitadas a un entorno ácido. Para evitar algunos de esos problemas, a lo largo de los años se han propuesto modificaciones evitando afectar a la eficiencia del proceso. Estas modificaciones son el proceso “tipo-Fenton”, el Fenton heterogéneo, el Foto-Fenton y el más novedoso, el proceso Fenton con aporte de sales de hierro a partir de ferrato potásico.

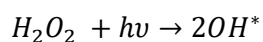
En el proceso “Fenton-Like” o “tipo-Fenton” la única diferencia respecto al Fenton tradicional es el reactivo utilizado como catalizador. Sustituyendo las sales de  $Fe^{2+}$  con  $Fe^{3+}$  para producir los radicales hidroxilo, que abaratan el tratamiento. Hay estudios que han demostrado que la descomposición del  $H_2O_2$  y la oxidación de la materia orgánica son notablemente más lentas usando  $Fe^{3+}/H_2O_2$  que  $Fe^{2+}/H_2O_2$  (Cuerda-Correa et al., 2020).

La oxidación por Fenton heterogéneo se desarrolló para superar la gran desventaja que poseen tanto el Fenton clásico como el tipo-Fenton, la limitación del rango de funcionamiento de pH que provoca que el mecanismo de reacción no se origine. En este proceso se produce la misma reacción que en el tipo-Fenton a diferencia de que, al utilizar un catalizador sólido, se origina una adsorción física en la superficie de este, reduciendo la generación de lodos. Sin embargo, parece que en los estudios realizados se concluye que la efectividad de la reacción se ve afectada debido a la limitación de la transferencia de masa al ser un sistema heterogéneo (Cuerda-Correa et al., 2020; Pignatello et al., 2006).

Cuando un proceso Fenton se produce en presencia de radiación UV/Vis se aceleran sus reacciones, favoreciendo el grado de degradación de los contaminantes que se desean eliminar. El sistema Foto-Fenton, incluye radiación ultravioleta, peróxido de hidrógeno y un aporte de sales de hierro. La reducción de  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  por radiación UV, reacción Foto-Fenton [Ec. 2], favorece la generación de radicales hidroxilo. Además, esta reacción contribuye a la formación de  $Fe^{2+}$ , que reacciona rápidamente con el  $H_2O_2$  para formar más radicales  $*OH$  en la reacción de Fenton convencional descrita en la [Ec. 1]. Por tanto, se puede concluir que la radiación UV acelera el ciclo  $Fe^{3+} - Fe^{2+}$ , facilitando así la generación de radicales hidroxilo en ambas reacciones (Cuerda-Correa et al., 2020; Pignatello et al., 2006).



Además, la absorción de la luz UV por el  $H_2O_2$  da lugar a la fotólisis del enlace peroxídico, lo que lleva a producir radicales  $*OH$  altamente reactivos, según la [Ec. 3].



[Ec. 3]

El sistema Foto-Fenton es un procedimiento interesante en el tratamiento de aguas debido a la elevada generación de radicales hidroxilo. Según la literatura, el proceso Foto-Fenton es muy eficiente para la eliminación de contaminantes en general y de antibióticos en aguas residuales.

En este trabajo se pretende estudiar la efectividad del tratamiento Fenton y Foto-Fenton a los antibióticos objeto de estudio haciendo una modificación en el aporte de sales de hierro convencionales. Estos tratamientos se realizan en presencia de peróxido de hidrógeno, luz UV/Vis (cuando se trate de Foto-Fenton) y el aporte de hierro a partir de la sal de ferrato potásico. Apenas hay referencias científicas del uso del ferrato en procesos Fenton, siendo una de ellas el estudio realizado por Matin et al., 2018 donde se compararon los posibles efectos de inactivación de la espora de *Bacillus subtilis*, altamente resistente a la desinfección, al aplicar los procesos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ferrato y UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ferrato. Los resultados del estudio demostraron que el efecto sinérgico del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y el ferrato, en combinación con la radiación UV, es prometedor para la desinfección de aguas.

### **3 Procedimiento experimental**

En este TFG se quiere estudiar la eficacia del tratamiento de aguas residuales urbanas con ferrato potásico para eliminar productos farmacéuticos mediante los procesos de oxidación mencionados en el apartado 2.

Se realiza una serie de experimentos de control de cafeína y agua destilada para, principalmente adquirir manejo tanto en el procedimiento experimental como en el análisis de los parámetros de control. Una vez alcanzado este objetivo, se estudiarán los diferentes tratamientos de oxidación con ferrato en un agua residual de salida de EDAR fortificada con cada antibiótico como contaminante emergente.

#### **3.1 Selección de los contaminantes objeto de estudio**

La cafeína es la sustancia utilizada para los experimentos preliminares y su estructura se muestra en la Figura 1. Se elige este contaminante porque tiene una gran solubilidad en el agua y como consecuencia de la experiencia previa en el grupo de “Agua y Salud Medioambiental”.

La cafeína es un alcaloide que pertenece al grupo de las xantinas, de color blanco, sabor amargo y cristalino. En humanos actúa como estimulante del sistema nervioso central y es consumida principalmente a través de infusiones extraídas de la planta del café. Es la droga psicoactiva más consumida en todo el mundo (Zhang et al., 2021). Además de encontrarse en el café, en bebidas energéticas y alimentos, se utiliza como componente en diferentes productos farmacéuticos debido a sus efectos para excitar el corazón y relajar los vasos sanguíneos.

La levofloxacina (LEV) es un antibiótico perteneciente a la familia de las fluoroquinolonas, uno de los grupos que aparecen de forma más habitual en las matrices acuosas debido a su alto consumo (Moles et al., 2022). La LEV presenta una actividad bactericida de amplio espectro contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Song et al., 2004). En la actualidad este antibiótico se emplea para tratar infecciones de las vías urinarias y respiratorias. Normalmente se utiliza como antibiótico de reserva con el fin de prevenir la aparición de resistencias y en pacientes con hipersensibilidad al antibiótico de primera elección (Juste Díez de Pinos et al., 2000). Su estructura química se expone en la Figura 1.

La doxiciclina (DOX) es un antibiótico de la familia de las tetraciclinas. Actúa como bacteriostático, impidiendo el crecimiento y propagación de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. La DOX es usada para tratar la neumonía y diversas infecciones de las vías respiratoria, infecciones del tracto genitourinario y junto a otros fármacos para tratar infecciones de la piel como el acné vulgar grave y la rosácea. También actúa como medicamento de prevención en pacientes infectados con malaria que presentan resistencia o alergia a los tratamientos primarios. En veterinaria su uso es extendido para tratar enfermedades provocadas por la picadura de garrapata.

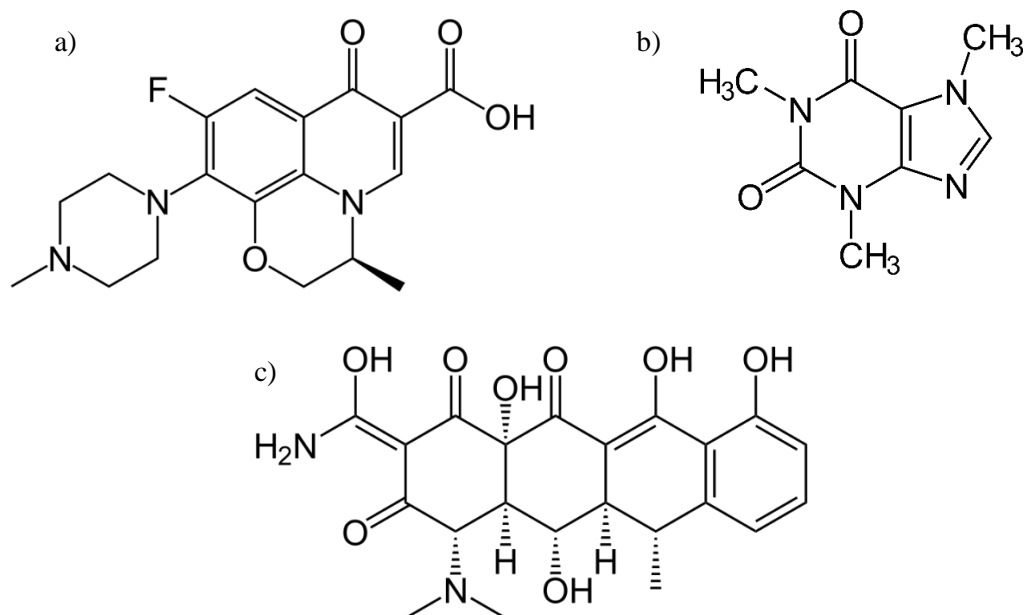


Figura 1 – Estructura molecular de la levofloxacin (a), la cafeína (b) y la doxiciclina (c).

### 3.2 Muestras

Para la parte experimental de este trabajo se utilizan dos matrices diferenciadas: muestras sintéticas con agua destilada para los experimentos previos y muestras reales con agua residual urbana depurada (ARU). Para valorar la capacidad de eliminación de los antibióticos en el agua, se trabaja con muestras fortificadas que consisten en añadir a la muestra recogida de la salida de la EDAR o agua desionizada el contaminante objeto de estudio en la concentración que interesa. Las muestras se caracterizan antes y después de añadir el contaminante.

#### 3.2.1 Agua destilada para ensayos previos

Se preparan muestras sintéticas con cafeína para estudiar la influencia de distintos parámetros a la hora de eliminar contaminantes emergentes. Se disuelve cafeína en agua destilada hasta la concentración de 20 mg/L.

Se prepara una disolución sintética de levofloxacin y doxiciclina en agua destilada a la concentración de 20 mg/L ya que las muestras reales de agua de salida de EDAR se van a fortificar también con estos antibióticos seleccionados a esta concentración. De esta forma se van a poder comparar los parámetros de control entre muestras de matriz con agua destilada y ARU real.

La disolución se prepara de 2 L de agua para poder hacer 4 experimentos en el mismo día (dos por duplicado), se prepara de 1 L en el caso de hacer solo 1 experimento por duplicado. Se recomienda que al acabar la jornada se deje preparada la disolución para la próxima sesión, refrigerada y en un frasco de topacio para evitar que se degrade debido a la luz.

El modo de preparación es el siguiente, con ayuda de una espátula y un recipiente en forma de diamante, calcular la cantidad necesaria del contaminante para obtener la concentración que exige el experimento.

Verter el contaminante al matraz aforado del volumen escogido (1 ó 2 L). Arrastrar los restos con agua destilada. Enrasar y dejar la disolución agitando en la placa agitadora hasta que se disuelva. Por último, el volumen sobrante de la disolución se guarda en un frasco topacio en la nevera para volver a ser usada en un nuevo experimento.

### 3.2.2 Preparación muestras fortificadas

Se utilizan muestras de agua residual real de salida de depuradora tomadas para cada tanda de experimentos. Como disolución inicial se prepara de la misma manera que en el apartado anterior, pero se sustituirá la adición de cafeína en la matriz por levofloxacin y doxiciclina. En los experimentos donde se utilice LEV se debe agitar muy bien durante 1 día ya que presenta poca solubilidad, además la disolución deberá estar exenta de luz en todo momento (se envuelve en papel aluminio) para evitar su degradación ya que es muy fotosensible.

Debido a las características de las ARU, se tendrá especial higiene a la hora de manipular y limpiar los materiales de laboratorio necesarios para preparar la disolución.

En la Tabla 1 se muestran la caracterización fisicoquímica de una muestra recogida el día 22/11/2021, esta caracterización se considera representativa de las muestras reales utilizadas en este TFG.

*Tabla 1 – Valores iniciales de diferentes parámetros de la muestra real*

Parámetros	Valores
DQO (mg/L)	81
DQO filtrada (mg/L)	41
ST (%)	0,14
pH	8,02

### 3.3 Preparación de experimentos Coagulación-Floculación-Decantación (CFD)

#### 3.3.1 Materiales, reactivos y equipos

##### A. Reactivos

- Ferrato de potasio  $K_2FeO_4$ , n° CAS=13718-66-6/12160-44-0, Nanoiron
- Cafeína anhidra  $C_8H_{10}N_4O_2$ , n° CAS=58-08-2, Panreac
- Levofloxacin  $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ , n° CAS=100986-85-4
- Doxiciclina  $C_{22}H_{24}N_2O_8$ , n° CAS=564-25-0
- Agua Residual de salida de EDAR.
- Agua destilada MiliQ

## **B. Materiales**

- Vidrios de reloj como soporte para pesar el ferrato, la cafeína y los antibióticos.
- Espátula de laboratorio para verter los reactivos en el momento de la pesada
- Vasos de precipitado de 1000 mL para el Jar Test
- Matraces aforados de 1000 mL y 2000 mL para preparar la disolución inicial
- Probeta de 500 mL
- Agitador magnético
- Micropipeta
- Pipetas Pasteur
- Vasos de precipitados de 50 mL
- Equipo para filtrar
- Filtros de tamaño de poro 0,45  $\mu\text{m}$ , diámetro 47 mm, FILTER-LAB® Membrane Filter
- Cubeta de cuarzo para el espectrofotómetro
- Frascos de 10 mL para el equipo multiparamétrico

## **C. Equipos**

- Balanza de precisión
- Placa agitadora
- Jar Test
- Espectrofotómetro
- Equipo de filtración
- Fotómetro multiparamétrico

### **3.3.2 Procedimiento de trabajo**

Verter en un vaso de precipitados de 1 L, 500 mL de disolución inicial. Se debe tener en cuenta que para introducir la mezcla en el Jar Test y que la agitación de las palas sea óptima siempre deben usarse vasos de precipitados de volumen 1 L. Pesar y agregar a la muestra la cantidad necesaria de ferrato potásico para obtener la concentración deseada en cada experimento. Añadir un agitador magnético y dejar en agitación rápida en la placa agitadora.

La reacción transcurre en el vaso de precipitados agitado que actúa como un reactor de mezcla perfecta.

En el proceso de CFD se utiliza la condición de agitación/tiempo corta (que corresponde con las condiciones convencionales de este tratamiento), utilizando la nomenclatura de otros trabajos realizados en el grupo (Hernando, 2021). En la primera fase de coagulación, agitar 2 minutos a 200 rpm en el Jar Test. Para la etapa de floculación, dejar agitando durante 20 minutos a 40 rpm. Por último, para la etapa de decantación se deja reposar durante 60 minutos para que decanten los flóculos formados.

Tras acabar el periodo de reposo se toma suficiente muestra, unos 50 ó 100 mL, y se filtran a vacío a través de un filtro de 45µm. Es en este momento cuando se miden los parámetros necesarios para el control del experimento con la muestra filtrada.

### **3.4 Preparación de experimentos modificación avanzada del tratamiento Fenton (CFD + agente oxidante)**

Los experimentos basados en el Fenton modificado con ferrato potásico sin presencia de fuente de radiación externa (lámpara de Xenon) se realizan como en el apartado 3.3. La única diferencia es la adición del agente activo para que se produzca el tratamiento de oxidación avanzada, en forma de aporte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Añadir la cantidad determinada de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para obtener los mg/L que se quiere alcanzar en cada experimento mientras se añade el ferrato potásico a la disolución. En ese momento ocurre la reacción en el vaso de precipitados, que actúa como un reactor de mezcla perfecta. Los tiempos de la CFD son los mismos que en el apartado 3.3.2 . Se toma muestra de la disolución inicial, al añadir el ferrato y el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y al finalizar el tratamiento para el análisis posterior, siempre filtrando a vacío a través de un filtro de 45 µm. Al finalizar el tratamiento también se miden de nuevo los parámetros de control: absorbancia de levofloxacina, actividad antibiótica y TOC en algunos casos.

### **3.5 Preparación de experimentos oxidación avanzada, Foto-Fenton**

#### **3.5.1 Reactivos, materiales y equipos**

##### **A. Reactivos**

- Ferrato de potasio K<sub>2</sub>FeO<sub>4</sub>, n° CAS=13718-66-6/12160-44-0, Nanoiron
- Levofloxacina C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, n° CAS=100986-85-4
- Doxiciclina C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, n° CAS=564-25-0
- Agua Residual de salida de EDAR.
- Agua destilada MiliQ
- Peróxido de hidrógeno: disolución H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 30% p/v, calidad para análisis, Panreac.
- Bisulfito de sodio: disolución NaSO<sub>3</sub>, 40% p/v
- Ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, n° CAS=7664-93-9, Panreac
- Hidróxido de sodio: NaOH, n° CAS=1310-73-2, Panreac

##### **B. Materiales**

- Vidrios de reloj como soporte para pesar el ferrato y los antibióticos.
- Espátula de laboratorio para verter los reactivos en el momento de la pesada
- Vasos de borosilicato de 200 mL
- Matraces aforados de 1000 mL y 2000 mL para preparar la disolución inicial
- Probeta de 200 mL
- Agitador magnético
- Micropipeta

- Pipetas Pasteur
- Vasos de precipitados de 50 mL
- Equipo para filtrar
- Filtros de tamaño de poro 0,45  $\mu\text{m}$ , diámetro 47 mm, FILTER-LAB® Membrane Filter
- Cubeta de cuarzo para el espectrofotómetro
- Frascos de 10 mL para el equipo multiparamétrico
- Frascos de 20 mL para el TOC

### **C. Equipos**

- Balanza de precisión
- Placa agitadora
- Cámara solar
- pH-metro
- Espectrofotómetro
- Equipo de filtración
- Test indicador de peróxidos
- TOC
- Fotómetro multiparamétrico

### **3.5.2 Procedimiento de trabajo**

Los experimentos Foto-Fenton se realizan siguiendo la metodología que se describe a continuación.

Los recipientes donde se va a llevar a cabo la reacción son vasos de precipitado de borosilicato, ya que así se posicionan correctamente en la cámara solar hasta 3 experimentos (duplicados). Trasvasar un volumen de 200 mL de la muestra inicial ya fortificada en el vaso de borosilicato. Pesar y agregar a la muestra la cantidad necesaria de ferrato potásico para obtener los mg/L deseados en cada experimento. Añadir la cantidad determinada de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Añadir un agitador magnético y mientras se está agitando en la placa agitadora medir y ajustar el pH si el experimento lo requiere. Para el ajuste del pH añadir unas gotas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  o  $\text{NaOH}$ .

A continuación, la muestra se introduce en la cámara solar (Sun Test CPS+) y se enciende la lámpara de Xenón (radiación UV/vis). La temperatura máxima que se alcanza dentro del equipo se fija mediante un controlador de temperatura que evita que se alcancen temperaturas mayores a la fijada por el usuario. La temperatura máxima fijada para este trabajo es  $35^\circ\text{C}$ . Una vez transcurrido el tiempo de reacción fijado para cada experimento (1h ó 2h), se toma muestra y se mide la concentración de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y el pH si es necesario, se filtran a vacío a través de un filtro de 45  $\mu\text{m}$ , para el análisis posterior.

Para el análisis de la DQO y el TOC se debe agregar a la disolución filtrada bisulfito de sodio, que reduce el agente oxidante, para evitar interferencias en las medidas.

### 3.6 Métodos analíticos

En la siguiente Tabla 2 están recogidos los parámetros, métodos analíticos e instrumentación utilizada para el seguimiento de los experimentos y el análisis de las muestras de agua.

Tabla 2 – Métodos e instrumentación de parámetros físico-químicos

Parámetro	Método	Equipo	Rango
pH	4500-HB Standard Methods	pH-metro CRISON GLP 21	1-14
Cafeína	Ver ANEXO I	Espectrofotómetro HELIOS $\alpha$ ThermoSpectronic	$\lambda = 272$
Levofloxacin	Ver ANEXO I	Espectrofotómetro HELIOS $\alpha$ ThermoSpectronic	$\lambda = 328$
Doxiciclina	Ver ANEXO I	Espectrofotómetro HELIOS $\alpha$ ThermoSpectronic	$\lambda = 228$
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Determinación semicuantitativa por comparación colorimétrica	Peroxide Test, Merckoquant®	0 – 1000 mg/L
Carbono Orgánico Total (TOC)	5310-B Standard Methods	Analizador de TOC SHIMADZU, TOC-Vcsh	TC: 0 – 25000 mg/L IC: 0 – 30000 mg/L
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	410.4 EPA (adaptado)	Fotómetro multiparamétrico de sobremesa, HANNA Instruments HI 83099 Reactor de DQO, HANNA Instruments HI 839800	0-150 mg/L
Actividad Antibiótica	Prueba de sensibilidad de Kirby-Bauer	Ver ANEXO I	-

#### 3.6.1 Espectroscopía UV-Visible

Para determinar el factor respuesta se mide la absorbancia de las muestras, esto permitirá cuantificar el porcentaje de reducción del antibiótico objeto de estudio con respecto a la concentración inicial. Las medidas se realizan en un espectrofotómetro marca THERMOSPECTRONIC modelo HELIOS $\alpha$ .

Para poder controlar la concentración de los antibióticos que se degrada a lo largo de los experimentos con el espectrofotómetro, primero se debe estudiar la longitud de onda a la que absorben todos los contaminantes usados en este trabajo: cafeína, levofloxacin y doxiciclina. En el ANEXO I se justifican las longitudes de onda de los contaminantes mencionados. La cafeína absorbe a la longitud de onda de 272 nm, la levofloxacin a 328 nm y la doxiciclina a 228 nm.

### 3.6.2 Actividad antibiótica

El análisis de la actividad antibiótica permite determinar la sensibilidad de las cepas bacterianas elegidas al ser expuestas a disoluciones que contienen el antibiótico objeto de estudio. Si se comparan varias muestras puntuales de la disolución al aplicarle un tratamiento, se puede establecer si el tratamiento ha sido efectivo y el antibiótico ha perdido actividad frente a las bacterias. El método realizado es una adaptación de la técnica Kirby-Bauer. Las etapas del protocolo utilizado se detallan en el ANEXO I.

Un halo en la placa de resultados significa que lo que está en la disolución estudiada aún tiene actividad antibiótica. Esto puede ser a causa de la sustancia inicial inalterada o de sustancias nuevas producidas en el proceso a partir de la sustancia inicial, a estas sustancias se les denomina productos de degradación. Un buen tratamiento eliminaría toda la actividad antibiótica y en consecuencia no habría halo.

### 3.7 Planificación de experimentos

A continuación se muestra en la Tabla 3 y en la Tabla 4 un resumen de la planificación y condiciones de operación de los experimentos que se ha llevado a cabo en este Trabajo Fin de Grado.

*Tabla 3 – Planificación experimentos para cafeína en diferentes matrices acuosas*

N.º Experimento	Matriz	Tratamiento	Tiempo tratamiento (min)	Cafeína (mg/L)	Ferrato (mg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)
1-4	Destilada	CFD		10	100	
5-7	EDAR	CFD		10	100	
8-9	EDAR	Foto-Fenton	30	40	100	325
10-11	EDAR	Foto-Fenton	30	40	100	650
12	EDAR	Foto-Fenton	60	40	100	650
13	EDAR	Foto-Fenton	60	20	100	650
15	EDAR	Foto-Fenton	120	20	50	200

Tabla 4 – Planificación de experimentos para el antibiótico levofloxacin con matriz acuosa extraída a la salida de la EDAR

N.º Experimento	Tratamiento	Tiempo tratamiento (h)	LEV (mg/L)	Ferrato (mg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	pH
1-4	CFD		20	100	-	-
9-10	CFD		20	200	-	-
13-14	CFD		20	400	-	-
5-8	Fenton		20	100	200	-
11-12	Fenton		20	200	200	-
19-23	Foto-Fenton	1	20	100	200	-
15-16; 24	Foto-Fenton	1	20	100	325	-
17-18	Foto-Fenton	1	20	200	325	-
25-27	Foto-Fenton	2	20	100	200	-
28-29	Foto-Fenton	2	20	200	200	-
30-33; 40	Foto-Fenton	2	20	400	325	-
34-35; 41	Foto-Fenton	2	20	400	325	7,0
36-37; 42	Foto-Fenton	2	20	800	325	-
38-39; 43	Foto-Fenton	2	20	800	325	7,0

## 4 Resultados

### 4.1 Ensayos preliminares

En las siguientes Tabla 5 y Tabla 6 se muestran los resultados de la experimentación planificada con la cafeína del Apartado 3.7 al aplicar el tratamiento CFD y Foto-Fenton siguiendo el procedimiento detallado en los Apartados 3.3 y 3.5. Se ha elegido como parámetro principal para determinar el % reducción la absorbancia de la cafeína, los demás parámetros analizados se encuentran en el ANEXO II.

Tabla 5 – Resultado de % eliminación de los ensayos preliminares con cafeína al aplicar el tratamiento CFD

N.º Experimento	Matriz	cafeína (mg/L)	ferrato (mg/L)	% eliminado
1	Destilada	10	100	20,13
2	Destilada	10	100	13,80
3	Destilada	10	100	17,70
4	Destilada	10	100	14,63
5	EDAR	10	100	4,35
6	EDAR	10	100	4,95
7	EDAR	10	100	Error

Tabla 6 – Resultado de % eliminación de los ensayos preliminares con cafeína al aplicar el tratamiento Foto-Fenton

N.º experimento	Matriz	cafeína (mg/L)	ferrato (mg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	Tiempo trat. (min)	% reducción
8	EDAR	40	100	325	30	0,00
9	EDAR	40	100	325	30	0,08
10	EDAR	40	100	650	30	1,41
11	EDAR	40	100	650	30	0,66
12	EDAR	40	100	650	60	10,01
13	EDAR	20	100	650	60	0,00
14	EDAR	20	100	650	60	0,00
15	EDAR	20	50	200	120	0,00

Como se puede observar en la Tabla 5, la matriz acuosa tiene un efecto relevante sobre la reducción de cafeína para las condiciones de operación utilizadas ya que se produce una disminución del rendimiento de más del 10 %.

En la Tabla 6 se observa como para las condiciones utilizadas el proceso Foto-Fenton no produce reducción de la cafeína presente en aguas residuales urbanas. Se pensó que el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en disolución había perdido eficacia, por lo que se realiza una normalización de este producto para determinar su concentración real (como se muestra en el ANEXO I). En conclusión, se observó que sí había perdido eficacia respecto a la del recipiente, pero no una reducción significativa. Al cuantificar el peróxido

presente en disolución tras el tratamiento se observa que hay una gran cantidad de peróxido sin reaccionar en las muestras. Se toma la decisión de alargar el tratamiento de Foto-Fenton hasta 2 h. La relación bibliográfica de peróxido en procesos Fenton es muy elevada, tras la experimentación previa se cambia el rango de concentración a 200 y 325 mg/L.

Por otro lado, los resultados de la aplicación de los tratamiento objeto de análisis aplicados a la eliminación con doxiciclina no son concluyentes, debido a la inestabilidad de las medidas de absorbancia a la longitud de onda a la que absorbe la doxiciclina. Por lo tanto, no se muestran datos de % reducción de antibiótico. Esto puede ser causa de la interferencia de la materia en suspensión contenida en la matriz del agua residual. Además, los resultados de actividad antibiótica tampoco aportan una información útil ya que tan apenas se observa un aumento de la actividad antibiótica lo que podría ser debido a la existencia de intermedios de oxidación del antibiótico que afectaran a la medida.

#### **4.2 Tratamiento Coagulación-Floculación-Decantación (CFD)**

En primer lugar se analiza el efecto de la concentración de ferrato en la degradación de la levofloxacin. Como método de análisis principal se ha utilizado el control de la concentración del compuesto mediante el método espectrofotométrico (ver Tabla 2).

En la Tabla 7 y en la Figura 2 se recogen los datos de reducción de levofloxacin al modificar la variable concentración de ferrato.

*Tabla 7 - % Reducción de levofloxacin en función de la concentración de ferrato al aplicarle un tratamiento CFD*

<b>N.º Experimento</b>	<b>ferrato (mg/L)</b>	<b>% reducción</b>
1	100	17,84
2	100	18,39
3	100	22,98
4	100	26,74
10	200	22,82
9	200	23,41
13	400	24,56
14	400	20,61

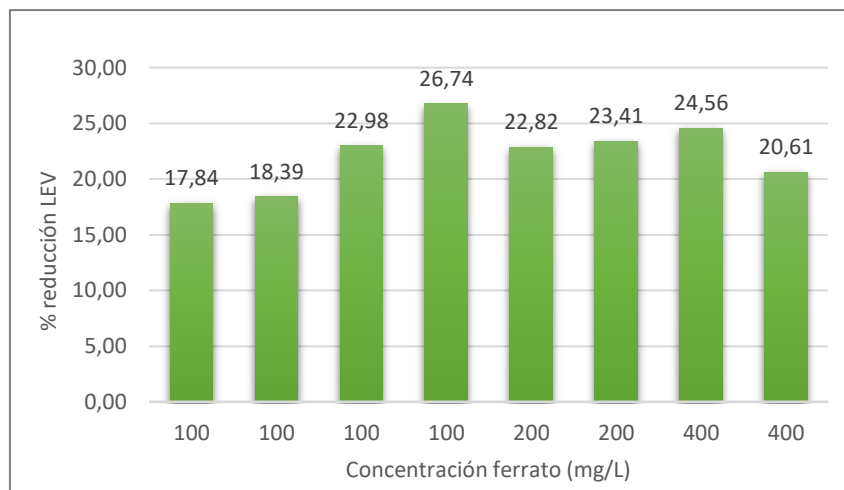


Figura 2 – Valores medidos de % reducción de levofloxacina según la concentración de ferrato en tratamientos CFD

Como se puede observar, para las condiciones de trabajo utilizadas tan apenas existe influencia de la concentración de ferrato en el proceso de eliminación de levofloxacina en agua real mediante coagulación-floculación-decantación ya que para concentraciones en el rango 100 – 400 mg ferrato/L se alcanzan reducciones medias de levofloxacina de 21,5 % (100 mg ferrato/L), 23,1 % (200 mg ferrato/L) y 22,6% (400 mg ferrato/L)

La actividad antibiótica se realizó para los experimentos 3 y 4. En los resultados del análisis se observa que el halo de inhibición de la muestra que contiene agua de EDAR fortificada con levofloxacina es menor (2,5 cm) que el halo de la misma muestra al aplicarle el ferrato (2,7 cm) (tiempo 0 del tratamiento). Lo que podría pasar es que el ferrato no tiene potencial oxidante suficiente para afectar a la molécula de antibiótico, no reduciendo así su actividad antibiótica, sin embargo se observa que afecta a las membranas de las bacterias del método ya que el halo de inhibición es más grande. Tras el tratamiento CFD el halo se redujo a un valor menor (2,6 cm) que el de la muestra al inicio del tratamiento, por lo tanto la CFD no disminuyó la actividad antibiótica. A modo de ejemplo se muestran en la Figura 3 los resultados del análisis.

Estos resultados pueden estar debidos a que el antibiótico se está transformando en compuestos intermedios que presentan una actividad antibiótica similar al compuesto de partida (levofloxacina).

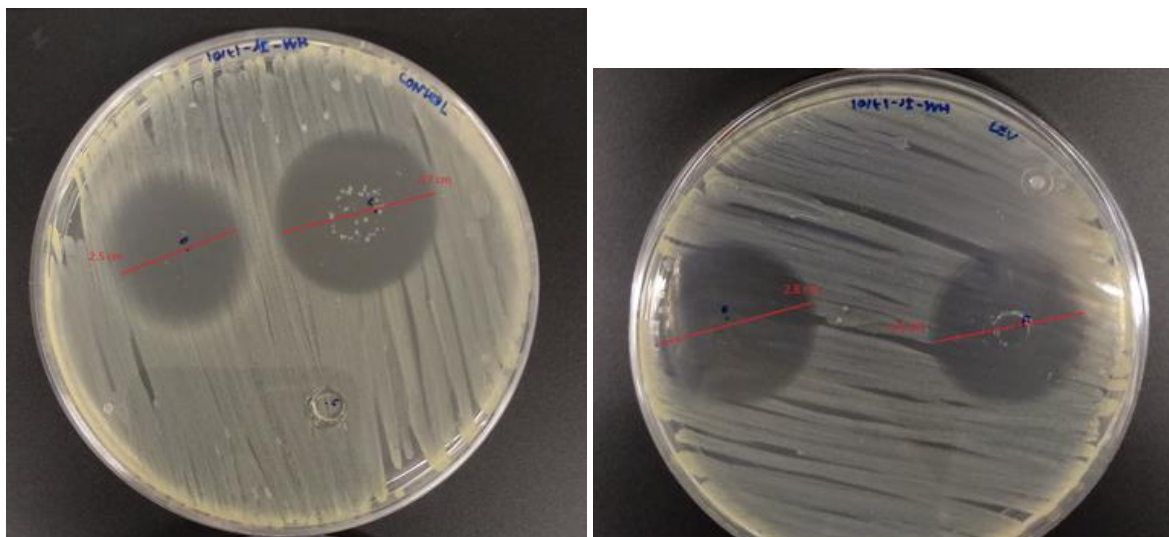


Figura 3 – Resultados de la actividad antibiótica para el experimento 3. De izquierda a derecha, halo de inhibición de la muestra de agua EDAR fortificada, muestra del tratamiento tiempo 0. En la segunda foto el halo más hacia la derecha corresponde a la muestra al final del tratamiento CFD

#### 4.3 Modificación avanzada del tratamiento Fenton (CFD + agente oxidante)

En la Tabla 8 se recogen los valores de % reducción del antibiótico al aplicar dos tratamientos diferentes, la CFD (ya mostrados en la Tabla 7) y la modificación avanzada de Fenton, utilizando bajas concentraciones de ferrato (100 mg/L).

En la Figura 4 se muestran los resultados obtenidos de reducción de levofloxacina al aplicar diferentes tipos de tratamiento. Se observa cómo en iguales condiciones de operación, misma concentración de ferrato y de contaminante, la presencia de agentes oxidantes favorece la degradación de la levofloxacina en mayor grado. El efecto del peróxido en la muestra supone el doble de % eliminado del antibiótico respecto al tratamiento CFD.

Tabla 8 - % Reducción de levofloxacina en función de la presencia de agente oxidante en el tratamiento aplicado con una concentración de ferrato de 100 mg/L

N.º Experimento	Tratamiento	ferrato (mg/L)	LEV (mg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	% reducción
1	CFD	100	20	-	17,84
2	CFD	100	20	-	18,39
3	CFD	100	20	-	22,98
4	CFD	100	20	-	26,74
5	Fenton	100	20	200	56,35
7	Fenton	100	20	200	50,09
8	Fenton	100	20	200	51,28

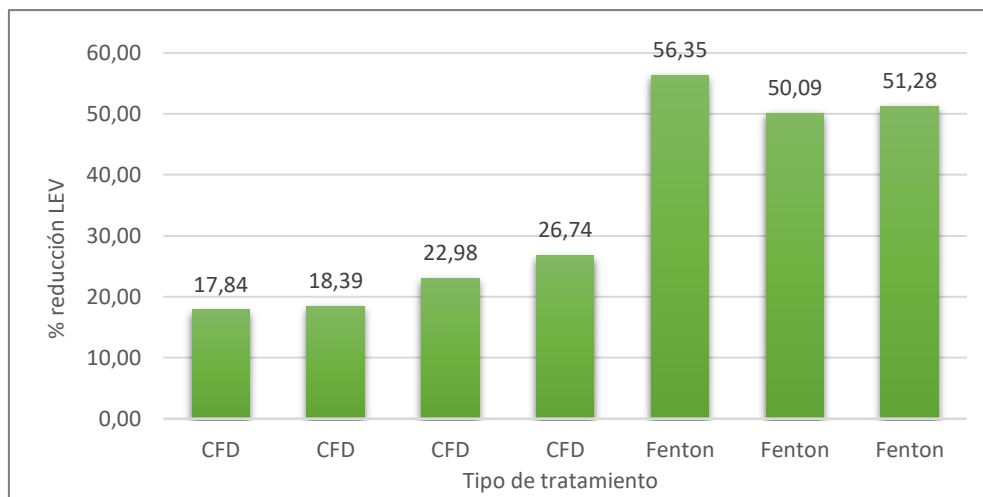


Figura 4 - Valores medidos de % reducción de levofloxacin en función de la presencia de agente oxidante en el tratamiento aplicado con una concentración de ferrato de 100 mg/L

Para los experimentos 7 y 8 se midió la DQO, mostrando una reducción al final del tratamiento entorno al 58 % como se puede observar en la Tabla 9. La reducción de materia orgánica total es relevante ya que en estas muestras existe presencia de materia orgánica real además de la levofloxacin.

Tabla 9 – Resultados DQO

N.º experimento	DQO m (mg/L)	DQO f (mg/L)
Blanco		25
7	144	64
8	164	62

Sin embargo, en los experimentos en los que se utilizan concentraciones más altas de ferrato, la presencia de peróxido de hidrógeno, en la misma concentración que en los resultados mostrados en la Tabla 8, no favorece la reducción de levofloxacin, esto se observa en la Tabla 10 y en la Figura 5.

Tabla 10 - % Reducción de levofloxacin en función de la presencia de agente oxidante en el tratamiento aplicado con una concentración de ferrato de 200 mg/L

N.º Experimento	Tratamiento	ferrato (mg/L)	LEV (mg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	% reducción
10	CFD	200	20	-	22,48
9	CFD	200	20	-	23,05
11	Fenton	200	20	200	5,50
12	Fenton	200	20	200	3,53

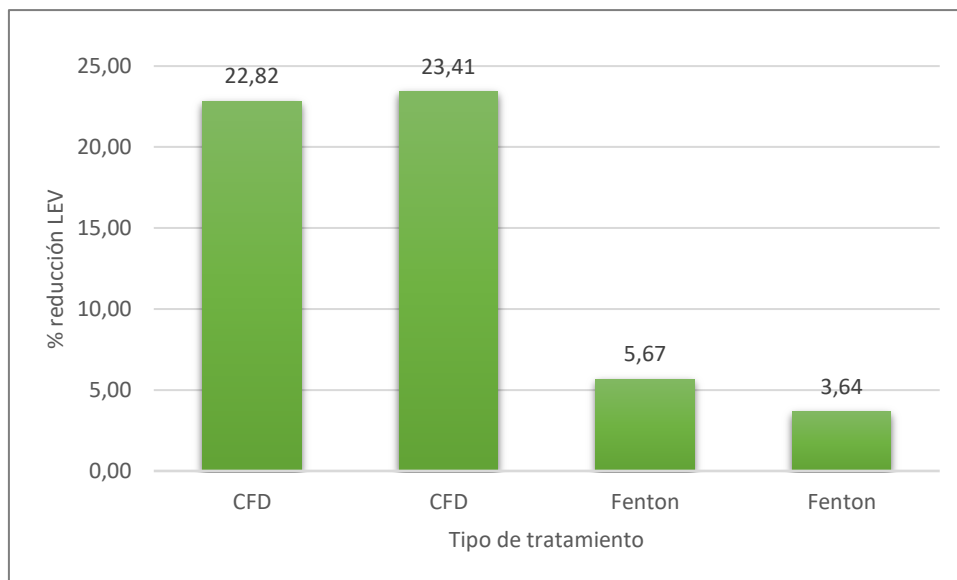


Figura 5 - Valores medidos de % reducción de levofloxacin en función de la presencia de agente oxidante en el tratamiento aplicado con una concentración de ferrato de 200 mg/L

En la Figura 6 se recoge la influencia de la concentración de ferrato sobre el % reducción de levofloxacin. La diferencia entre ambos casos es significativa, se lleva a la conclusión de que a bajas concentraciones de ferrato al añadir agente oxidante el tratamiento de eliminación es más eficaz, alcanzando valores de 50% de degradación de levofloxacin. Por lo tanto, el proceso Fenton modificado mediante el uso de ferrato potásico como fuente de hierro mejora las capacidades de oxidación del sistema de oxidación convencional (CFD) cuando se trabaja a baja concentraciones de los dos oxidantes, sin embargo un exceso en ambos agentes empeora notablemente el tratamiento de oxidación.

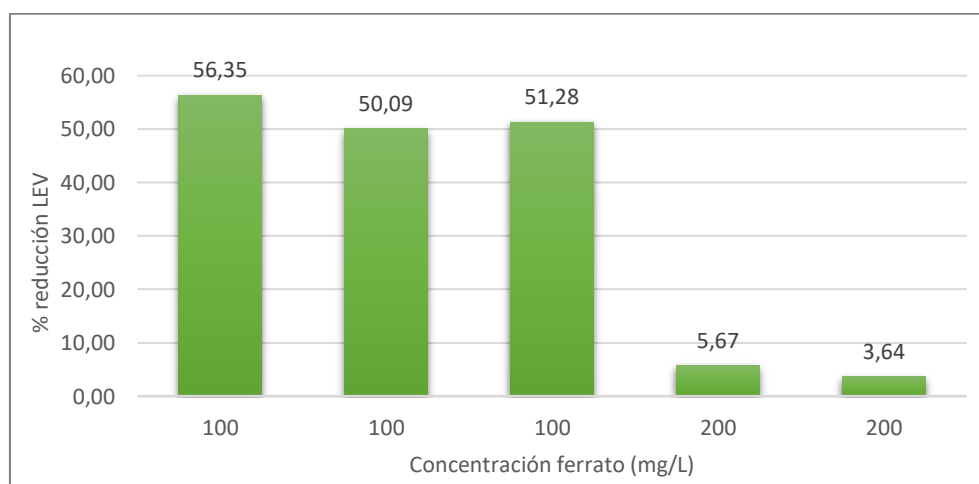


Figura 6 – Efecto de la concentración de ferrato en el tratamiento Fenton modificado

#### 4.4 Tratamiento de oxidación avanzada, Foto-Fenton

En este apartado se analizan los resultados de los experimentos de oxidación avanzada basados en la reacción Fenton y en el uso de radiación UV/Vis cuyo procedimiento se explica en el apartado 3.5.

En primer lugar, se analiza el efecto del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en los experimentos de 1 h de tratamiento Foto-Fenton. Los valores de reducción de levofloxacin así como las condiciones de operación se recogen en la Tabla 11.

En la Figura 7 se representan los resultados con el objetivo de evaluar el efecto de la variable concentración de peróxido de hidrógeno sobre la reducción del antibiótico

Tabla 11 – Valores % reducción de LEV en función de la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al aplicar tratamiento Foto-Fenton 1h

N.º Experimento	ferrato (mg/L)	LEV (mg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	% reducción
15	100	20	325	25,95
16	100	20	325	25,51
24	100	20	325	22,29
19	100	20	200	12,14
20	100	20	200	11,98
22	100	20	200	10,37

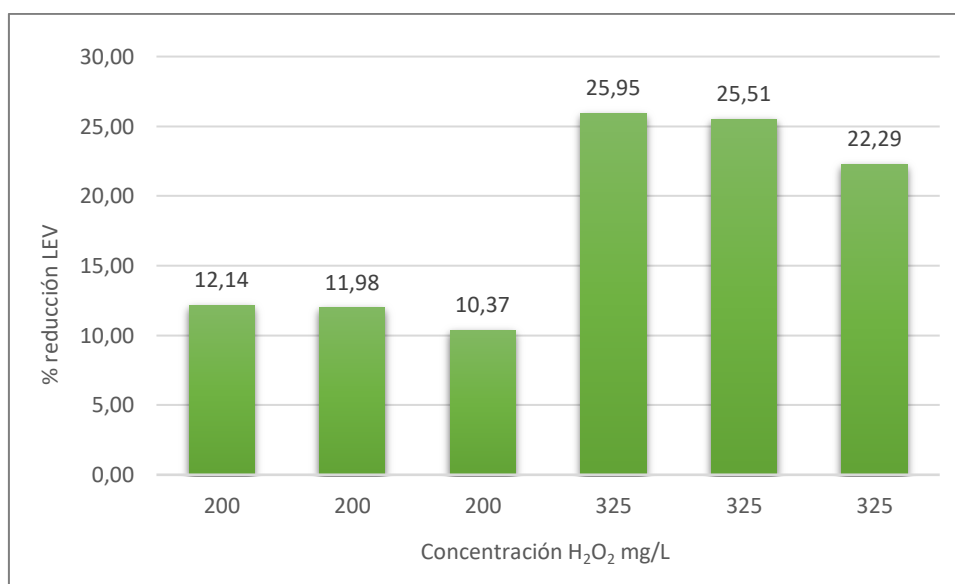


Figura 7 - % Reducción de levofloxacin en función de la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en tratamientos 1 h Foto-Fenton

En el tratamiento de aguas reales con Foto-Fenton tras una hora de proceso y a una concentración de ferrato constante, la adición de mayor concentración de agente oxidante favorece la eliminación del antibiótico. Un aumento de 135 mg/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> supone un 13% más de eliminación, alcanzándose valores alrededor del 25% de eliminación.

En la Tabla 12 se recogen los datos de eliminación de levofloxacin en el conjunto de experimentos Foto-Fenton realizados durante 1 h para una concentración constante de peróxido y variando la concentración de ferrato para poder conocer la influencia de la concentración de dicho agente sobre la degradación de levofloxacin. Esta comparación se realiza exclusivamente con los experimentos a

concentración 325 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/L ya que son los más relevantes en cuanto a reducción de levofloxacina, como se ha observado en la Figura 7.

Tabla 12 – Valores % reducción de LEV en función de la concentración de ferrato al aplicar tratamiento Foto-Fenton 1h

N.º Experimento	ferrato (mg/L)	LEV (mg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	% reducción
17	200	20	325	25,10
18	200	20	325	22,29
15	100	20	325	25,95
16	100	20	325	25,51
24	100	20	325	22,29

En la Figura 8 se observa como la influencia del ferrato sobre el % eliminación es inapreciable para las condiciones de operación utilizadas, por lo que se supone que la mayor influencia sobre la degradación de la levofloxacina en tratamientos Foto-Fenton es la variable concentración de peróxido.

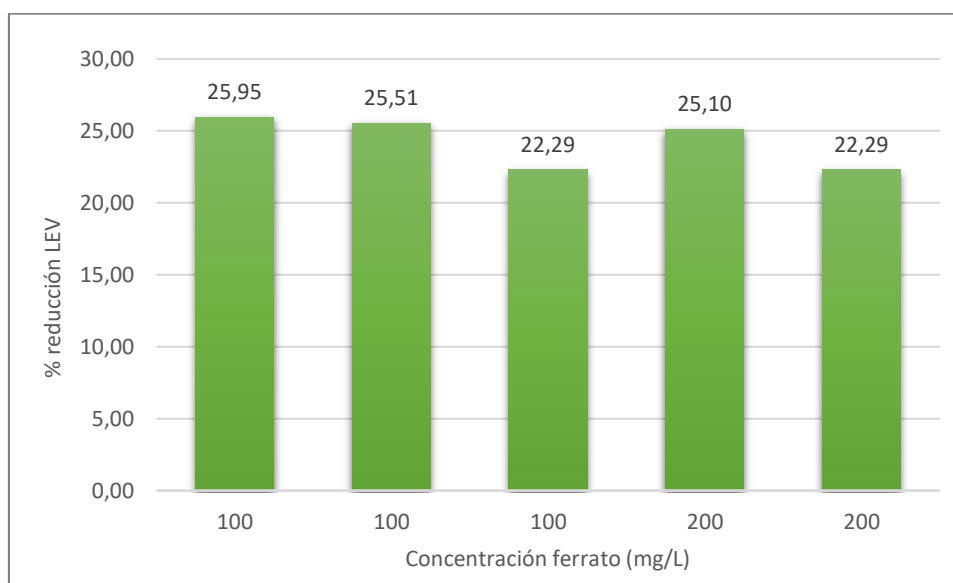


Figura 8 - % reducción de levofloxacina en función de la concentración de ferrato en tratamientos Foto-Fenton 1h

En la Figura 9 se muestran resultados de evolución de la degradación del contaminante con el tiempo de tratamiento. A mayor tiempo de tratamiento, mayor % reducido. Se observa en los experimentos de 2 h, como en la primera mitad del tratamiento la eliminación es mayor que en la última parte. La tendencia muestra que a partir de la segunda hora, la eliminación del antibiótico se estabiliza y no se eliminaría más mediante el tratamiento propuesto.

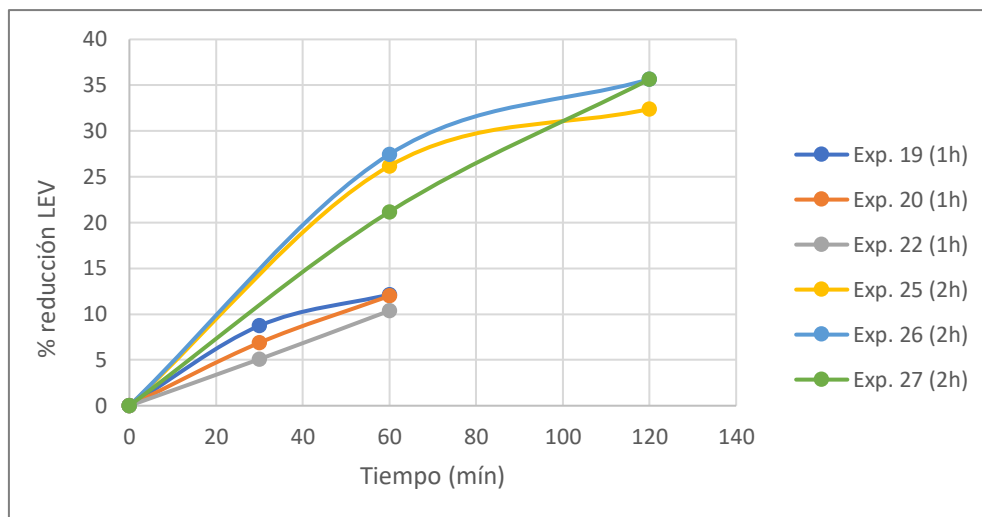


Figura 9 – Efecto del tiempo de tratamiento en Foto-Fenton

Como se puede observar en la Figura 9, se alcanzan rendimientos máximos de eliminación de levofloxacin del 35%.

Es por ello que se continuó con los tratamientos Foto-Fenton de dos horas de duración para poder llegar a ese máximo de reducción de levofloxacin.

Como consecuencia de los resultados obtenidos en la eliminación de levofloxacin presente en aguas reales mediante procesos Foto-Fenton modificados para tiempos de reacción más altos (2 horas) se decidió seguir investigando en este proceso mediante el uso de concentraciones superiores de ferrato potásico a pesar de los resultados mostrados en el apartado 4.3 basados en el uso de un proceso de coagulación-floculación-decantación con adición de peróxido de hidrógeno.

En la Tabla 13 se recogen los datos de eliminación en el estudio de la influencia de la concentración de ferrato.

Tabla 13 - Valores % reducción de LEV en función de la concentración de ferrato al aplicar tratamiento Foto-Fenton 2h

N.º Experimento	ferrato (mg/L)	LEV (mg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	% reducción
30	400	20	325	50,49
31	400	20	325	54,51
32	400	20	325	61,60
33	400	20	325	67,50
36	800	20	325	65,39
37	800	20	325	63,00

En la Figura 10 se observa que la concentración de ferrato influye en la reducción de levofloxacin, cuanto más adición de ferrato mayor eliminación del antibiótico. Sin embargo, se observa que al duplicar la concentración de 400 a 800 mg/L, el aumento de % reducción es alrededor del 6%. Para alcanzar

valores de degradación de estas magnitudes el proceso se encarecería en exceso con concentraciones tan altas de ferrato.

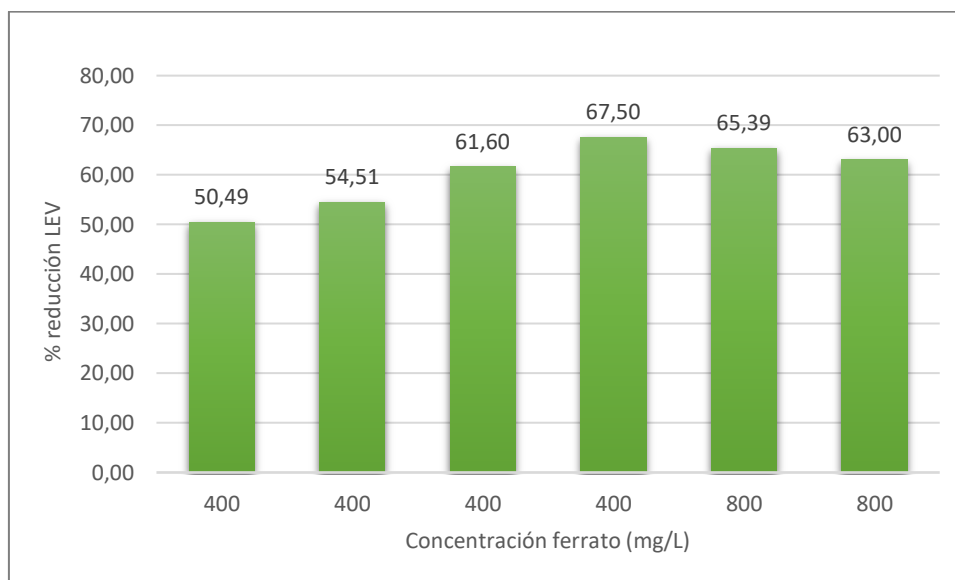


Figura 10 - % reducción de levofloxacin en función de la concentración de ferrato en tratamientos Foto-Fenton 2h

Para los experimentos 27 y 28 (Ver condiciones de operación en Tabla 20; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) se analizó la actividad antibiótica. A continuación se detallan los resultados de las muestras de control y de los experimentos en la Tabla 14 y Tabla 15.

Tabla 14 – Resultados de la actividad antibiótica de las muestras de control para los experimentos 27 y 28

Muestra	Ø halo (cm)
Agua destilada	0
EDAR	0
EDAR fortificada	2,9

Tabla 15 – Resultados de la actividad antibiótica para los experimentos 27 y 28

Experimento 27		Experimento 28	
Tiempo del tratamiento	Ø halo (cm)	Tiempo del tratamiento	Ø halo (cm)
Inicial	2,5	Inicial	3
60 mín de tratamiento	2,6	60 mín de tratamiento	3
90 mín de tratamiento	2,55	90 mín de tratamiento	3
120 mín de tratamiento	2,55	120 mín de tratamiento	3

En estos experimentos se pretendía observar la influencia de la concentración de ferrato en procesos Foto-Fenton sobre la actividad antibiótica. Como se puede observar en la Tabla 15, el experimento 27 consiguió reducir el halo inicial de la muestra de EDAR fortificada (Tabla 14) al añadir los agentes

oxidantes (ferrato y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Sin embargo, el propio tratamiento Foto-Fenton no fue capaz de reducir el halo de forma significativa.

Por otro lado el experimento 28 no ha conseguido disminuir el halo inhibitor de la muestra inicial. Esto podría ser debido a la presencia de productos intermedios con mayor actividad antibiótica que el producto original, inhibiendo el crecimiento de la bacteria.

Comparando los resultados de actividad antibiótica para tratamientos de oxidación convencional (CFD) y oxidación avanzada (Foto-Fenton), se observa que el ferrato como oxidante no es capaz de eliminar la actividad antibiótica por sí solo (Figura 3), únicamente cuando se adiciona junto al peróxido de hidrógeno se ve favorecida la reducción de la actividad (Tabla 15).

Debido a que la reacción Fenton está influenciada por el pH de la reacción se decidió estudiar la influencia de dicho parámetro en el proceso objeto de estudio, para ello se modificó el pH en varios experimentos y se comparó con el mismo experimento a pH real. Los experimentos 34 y 35 de la Tabla 16 son los que han sufrido una modificación del pH.

*Tabla 16 – Estudio del ajuste de pH en los valores de reducción de levofloxacin*

<b>N.º Experimento</b>	<b>ferrato (mg/L)</b>	<b>LEV (mg/L)</b>	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (mg/L)</b>	<b>pH</b>	<b>% reducción</b>
32	400	20	325	9,5	61,60
33	400	20	325	9,7	67,50
34	400	20	325	6,29	90,85
35	400	20	325	5,78	91,68

Como se puede observar en la Tabla 16, una ligera acidificación del medio mejora notablemente el proceso de reducción de levofloxacin mediante el tratamiento Foto-Fenton modificado.

En la Figura 11 se comparan los experimentos Foto-Fenton con (34-35) y sin modificación del pH (32-33).

Como se muestra en la Figura 11, y tal y como se acaba de indicar, un medio más ácido favorece la reducción del antibiótico hasta un valor promedio de 91,27%. La Figura 12 muestra el % de reducción en las dos medidas tomadas experimentalmente, a la mitad del tratamiento y al final de este. Se observa que en los experimentos con ajuste de pH la reducción en el primer tramo es mayor, lo que concuerda con la bibliografía (Pignatello et al., 2006) sobre lo favorecida que se encuentra la reacción Foto-Fenton en medios ácidos, produciendo más agentes capaces de oxidar la materia.

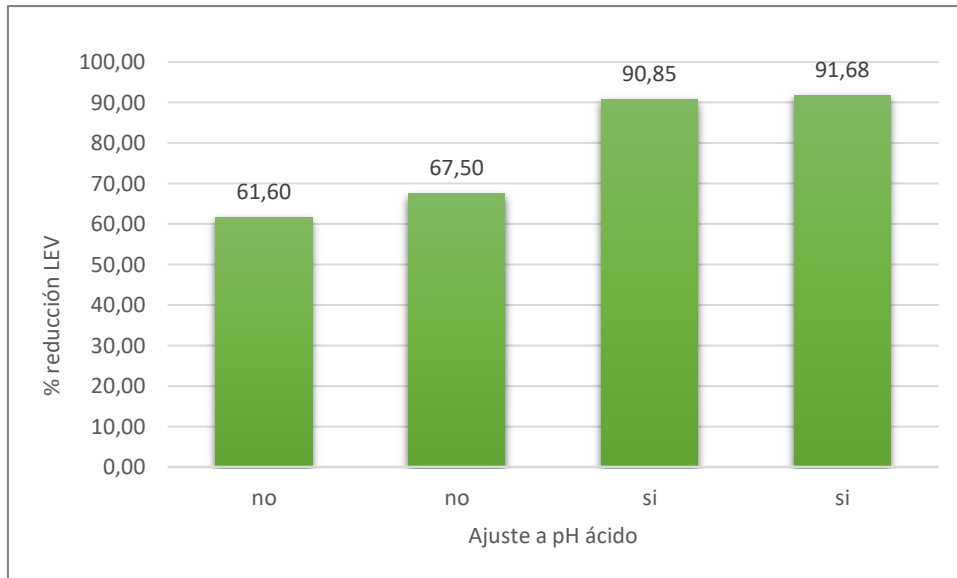


Figura 11 – Efecto del ajuste del pH con concentración de ferrato 400 mg/L

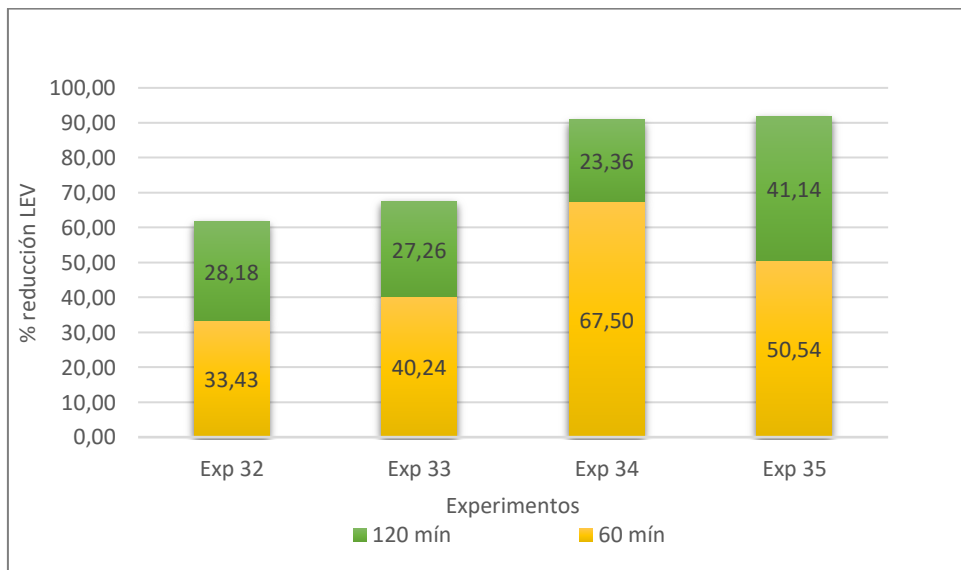


Figura 12 – Degradación de levofloxacina en el proceso final de Foto-Fenton

## 5 Conclusiones

La investigación desarrollada en el Trabajo Fin de Grado ha generado las siguientes conclusiones:

- El tratamiento Fenton modificado basado en ferrato potásico como fuente de hierro supone una mejora en la oxidación de la levofloxacin respecto al sistema de oxidación convencional basado en el procedimiento de CFD cuando se trabaja a bajas concentraciones de los dos agentes oxidantes, ferrato y peróxido de hidrógeno. Un exceso de ambos empeora la eliminación del antibiótico.
- En todos los tratamientos, mayor concentración de ferrato no se traduce en una mayor eliminación del antibiótico en las condiciones de operación estudiadas
- El tratamiento Foto-Fenton basado en ferrato genera las reducciones de antibiótico más elevadas. La variable más influyente es el pH, una ligera acidificación del medio permite una mayor degradación de levofloxacin, los mejores resultados de reducción del antibiótico objeto de estudio alcanzan valores del 90 % con las siguientes condiciones de operación: tratamiento aplicado Foto-Fenton 2 horas, concentración de ferrato 400 mg/L y concentración de peróxido 325 mg/L. Seguida del tiempo de tratamiento y de la concentración de peróxido. Se alcanzan rendimientos máximos de eliminación cuando el tratamiento se alarga hasta 2 h.
- El ferrato como oxidante no es capaz de eliminar la actividad antibiótica por sí solo, únicamente cuando se adiciona junto al peróxido de hidrógeno se ve favorecida la reducción de la actividad. Con ninguna operación de las trabajadas en este análisis la actividad antibiótica del medio se elimina completamente.
- La presencia de materia en suspensión genera alteraciones en las medidas y en el análisis de la degradación de los antibióticos objetos de estudio.
- Este estudio demuestra que los tratamientos de oxidación avanzada basados en ferrato potásico como fuente de hierro tienen potencial como tecnología en la eliminación de antibióticos.

## 6 Bibliografía

- Aguilar, M. I., Saéz, J., Lloréns, M., Soler, A., & Ortuño, J. F. (2002). *Tratamiento físico-químico de aguas residuales. Coagulación- Floculación* (1ª Edición, 2002). Universidad de Murcia, Servicio de Publicaciones, 2002.
- Barlsçl, S., & Dimoglo, A. (2016). Review on the Stability of Ferrate (VI) Species in Aqueous Medium and Oxidation of Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) by Ferrate (VI): Identification of Transformation By-Products. *ACS Symposium Series*, 1238, 287–335. <https://doi.org/10.1021/bk-2016-1238.ch012>
- Cuerda-Correa, E. M., Alexandre-Franco, M. F., & Fernández-González, C. (2020). Advanced oxidation processes for the removal of antibiotics from water. An overview. In *Water (Switzerland)* (Vol. 12, Issue 1). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/w12010102>
- de 2022/1307. (2022). Decisión de Ejecución (UE) 2022/1307 de la Comisión. *Diario Oficial de La Unión Europea*.
- dos S. Grignet, R., Barros, M. G. A., Panatta, A. A. S., Bernal, S. P. F., Ottoni, J. R., Passarini, M. R. Z., & da C. S. Gonçalves, C. (2022). Medicines as an emergent contaminant: the review of microbial biodegradation potential. In *Folia Microbiologica* (Vol. 67, Issue 2, pp. 157–174). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00941-6>
- Dr. Calvo-Flores, F. G., Dr. Isac-García, J., & Dr. Dobado, J. A. (2018). *Emerging Pollutants: Origin, Structure and Properties*. Wiley-VCH.
- Hernando Giménez, E. (2021). *Estudio de eliminación de antibióticos durante las etapas de una estación de tratamiento de agua potable* [Trabajo Fin de Grado]. Escuela de Ingeniería y Arquitectura de Zaragoza.
- Itzarbe, I., Gómez, J., Chérrez, J., & Mosteo, R. (2022). *APLICACIÓN DE FERRATO POTÁSICO EN DEPURACIÓN DE AGUAS A ESCALA DE LABORATORIO Y PILOTO: VENTAJAS E INCONVENIENTES*. Libro de abstract.
- Jorge, N., Teixeira, A. R., Matos, C. C., Lucas, M. S., & Peres, J. A. (2021). Combination of coagulation–flocculation–decantation and ozonation processes for winery wastewater treatment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(16). <https://doi.org/10.3390/ijerph18168882>
- Juste Díez de Pinos, J. L., Adrover Rigó, M., & Ribas Sala, J. (2000). Levofloxacin, fluorquinolona de tercera generación. *Farm Hosp*, 24(5), 288–295.

- Martins, A. F., Frank, C. da S., & Wilde, M. L. (2007). Treatment of a trifluraline effluent by means of oxidation-coagulation with Fe(VI) and combined fenton processes. *Clean - Soil, Air, Water*, 35(1), 88–99. <https://doi.org/10.1002/clen.200600017>
- Matin, A. R., Yousefzadeh, S., Ahmadi, E., Mahvi, A., Alimohammadi, M., Aslani, H., & Nabizadeh, R. (2018). A comparative study of the disinfection efficacy of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ferrate and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ferrate processes on inactivation of *Bacillus subtilis* spores by response surface methodology for modeling and optimization. *Food and Chemical Toxicology*, 116, 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.04.002>
- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. (2022). *Estado y calidad de las aguas. Contaminantes emergentes*. <https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/estado-y-calidad-de-las-aguas/contaminantes-emergentes/>
- Moles, S., Directores, A., Mosteo, R., Jairo, A., & Muñoz, G. (2021). *ELIMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS DE AGUAS CONTAMINADAS MEDIANTE FOTOCATÁLISIS Y ADSORCIÓN*. <http://iqtma.cps.unizar.es>
- Moles, S., Gozzo, S., Ormad, M. P., Mosteo, R., Gómez, J., Laborda, F., & Szpunar, J. (2022). Long-Term Study of Antibiotic Presence in Ebro River Basin (Spain): Identification of the Emission Sources. *Water (Switzerland)*, 14(7). <https://doi.org/10.3390/w14071033>
- Molina Salazar, E. (2020). *Aplicación de procesos de oxidación para la reducción de contaminantes emergentes presentes en aguas residuales urbanas* [Trabajo Fin de Grado]. Facultad de Ciencias. Universidad de Zaragoza.
- Patiño, Y., Díaz, E., & Ordóñez, S. (2014). MICROCONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS: TIPOS Y SISTEMAS DE TRATAMIENTO. *Avances En Ciencias e Ingeniería*, Vol. 5, Núm 2, Abril-Junio, 1–20.
- Pignatello, J. J., Oliveros, E., & MacKay, A. (2006). Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the fenton reaction and related chemistry. In *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* (Vol. 36, Issue 1, pp. 1–84). <https://doi.org/10.1080/10643380500326564>
- Song, G., He, Y., & Cai, Z. (2004). The Interaction Between Levofloxacin Hydrochloride and DNA Mediated by Cu<sup>2+</sup>. In *Journal of Fluorescence* (Vol. 14, Issue 6).
- Terán Solíz, M. C. (2016). *Estudio de la aplicación de procesos de oxidación avanzada a aguas contaminadas* [Trabajo Fin de Grado]. Escola Universitària d'Enginyeria Tècnica Industrial de Barcelona.

Vela Murillo, I. (2020). *Estudio de la degradación de cafeína presente en aguas mediante la aplicación de ferrato de potasio* [Trabajo Fin de Grado]. Escuela de Ingeniería y Arquitectura, Universidad de Zaragoza.

Zhang, R. C., & Madan, C. R. (2021). How does caffeine influence memory? Drug, experimental, and demographic factors. In *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* (Vol. 131, pp. 525–538). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.09.033>

## ANEXO I – Metodología analítica

### I. Espectroscopía UV/Vis

#### I.I Concentración de la cafeína

##### A. Espectro UV-VIS de la cafeína

Antes de la calibración se realiza un barrido en todo el espectro para determinar la longitud de onda a la que absorbe la cafeína. En la bibliografía consultada (Vela Murillo, 2020), se analizó el barrido para muestras de diferentes concentraciones de cafeína. Finalmente se observó (Figura 13) que la longitud de onda a la que absorbe la cafeína es 272,5 nm.

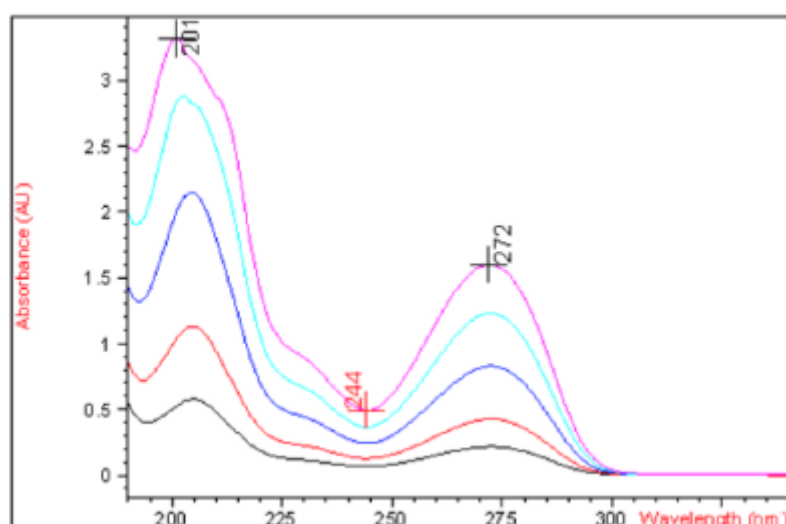


Figura 13 – Espectro de absorbancia de la cafeína (Vela Murillo, 2020)

##### B. Curva de calibrado de la cafeína

Se realiza una recta de calibrado para diferentes concentraciones de cafeína: 0, 5, 10, 15 y 20 mg/L y su absorbancia en el espectrofotómetro UV-Vis con el fin de poder cuantificar las concentraciones de las muestras preparadas al inicio y la concentración final tras el final del experimento. Esta relación se puede observar en la Figura 14.

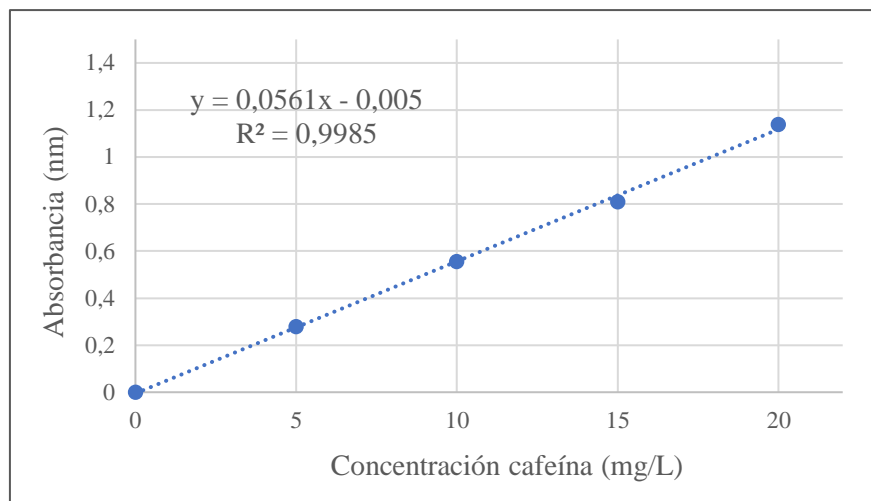


Figura 14 – Recta de calibrado de la cafeína para el espectrofotómetro

## I.II Concentración de la levofloxacin

### A. Espectro UV-Vis de la levofloxacin

Se ha analizado el barrido para cuatro muestras de diferente concentración de enrofloxacin. En la siguiente Figura 15 se puede observar que la longitud de onda a la que absorbe la enrofloxacin es 328 nm. Como la levofloxacin y la enrofloxacin pertenecen a la misma familia de antibióticos, las fluoroquinolonas, presentan propiedades similares. Se ha asumido a lo largo de todo el trabajo que ambas especies absorben a la misma longitud de onda.

Aunque la levofloxacin adsorbe en la longitud de onda 328 nm, en el proceso experimental se mide a 320 nm en el espectrofotómetro. Este cambio en la longitud de onda se debe a que el modelo del equipo de medida utilizado en este trabajo realiza un cambio de lámpara a la longitud de onda 325 nm. Cuando se mide a 328 nm se genera una inestabilidad en las medidas que interfiere en los resultados.

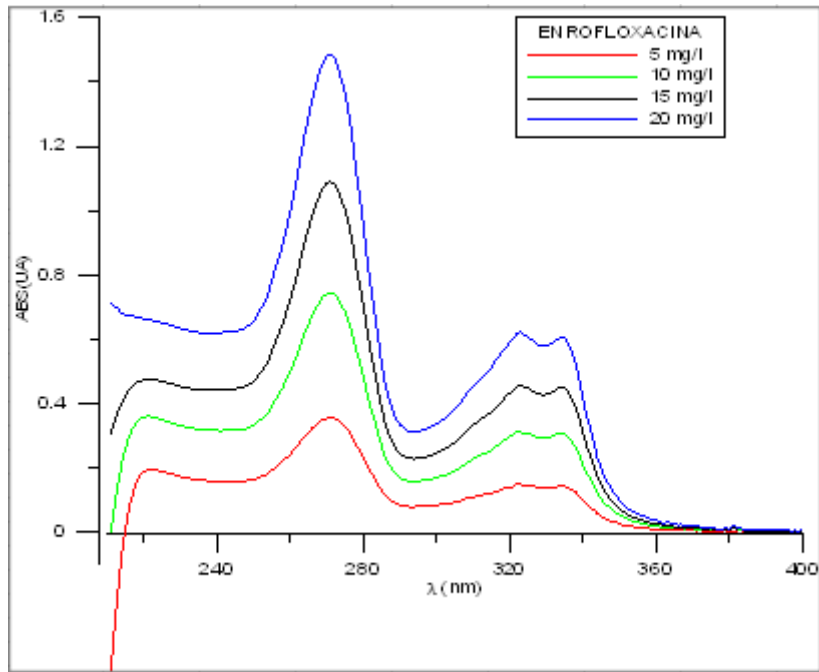


Figura 15 – Espectro de absorbanca para diferentes concentraciones de enrofloxacina

### B. Curva de calibrado de la levofloxacin

De igual manera se realizó la recta de calibrado de la levofloxacin. Se prepararon 5 muestras patrón de concentraciones 5, 10, 15 y 20 mg/L de la disolución de antibiótico. La recta de calibrado se visualiza en la (Figura 16).

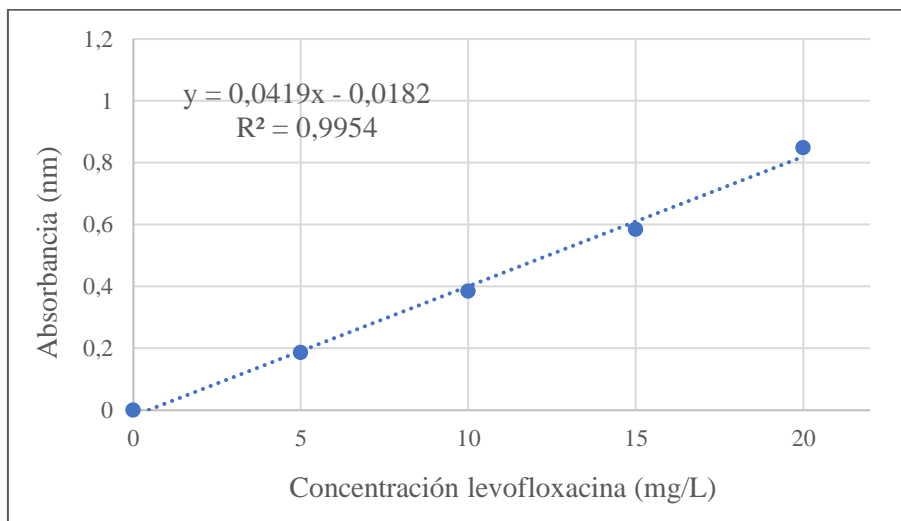


Figura 16 – Recta de calibrado de la levofloxacin para el espectrofotómetro

## I.III Concentración de la doxiciclina

### A. Espectro UV-Vis de la doxiciclina

Según la bibliografía disponible se conoce que la longitud de onda a la que la doxiciclina absorbe es 228 nm. En la Figura 17 se observa el barrido realizado del antibiótico.

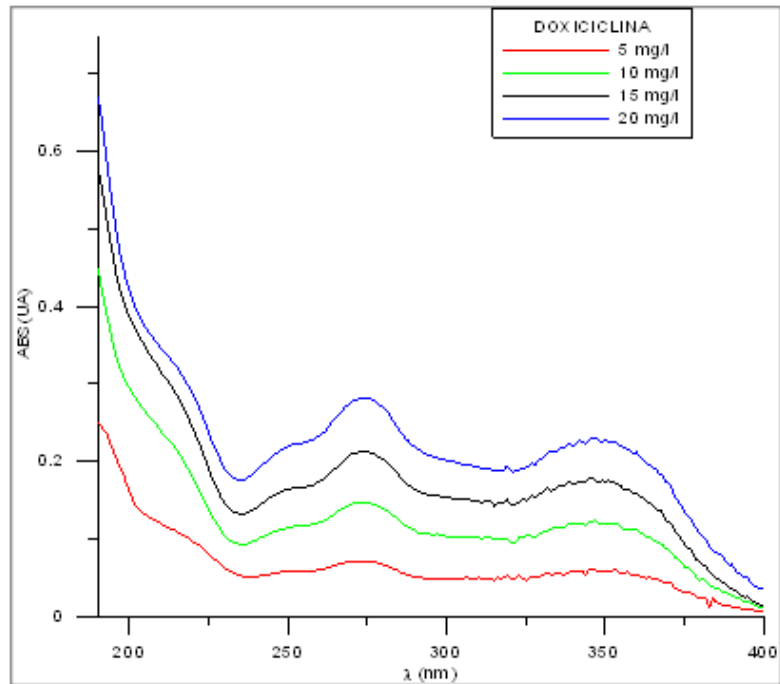


Figura 17 – Espectro de absorción de la doxiciclina

### B. Recta de calibrado de la doxiciclina

Análogamente a los anteriores contaminantes objeto de estudio, se prepararon 5 muestras patrón de concentraciones 5, 10, 15 y 20 mg/L de disolución de antibiótico. La recta de calibrado se visualiza en la (Figura 18).

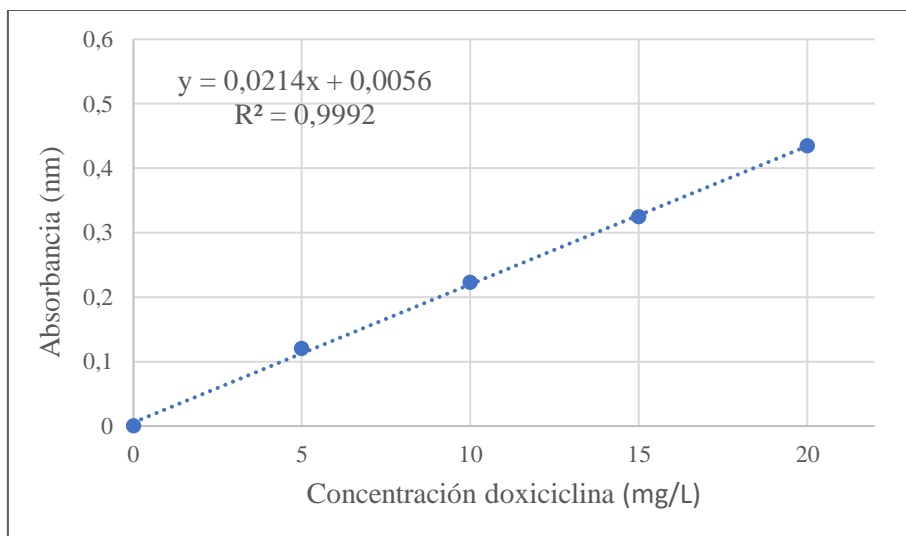


Figura 18 – Recta de calibrado de la doxiciclina para el espectrofotómetro

## II. Actividad antibiótica

Para llevar a cabo la siguiente metodología analítica se deben seguir los siguientes pasos:

1. Preparación del material
2. Preparación de los medios de cultivo y esterilización del suero fisiológico
3. Cultivo bacteriano
4. Resiembra de las cepas y adición de las muestras
5. Medición de los halos de inhibición y resultados
6. Limpieza y tratamiento del material utilizado

Tras preparar los dos medios de cultivo, Agar nutritivo y Müller Hinton (M-H), se inoculan las placas que contienen M-H con la disolución de *E.coli* que se ha preparado para que sea la cepa bacteriana estándar que permita observar la actividad antibiótica. Cuando la siembra está seca se adicionan en cada placa una serie de recipientes circulares que van a servir de guía para la medición.

Se adicionan unos 15  $\mu\text{L}$  de la muestra objeto de estudio en cada recipiente circular, considerando que debe haber un control para verificar que la prueba es válida. En él la muestra adicionada contiene únicamente agua destilada. Finalmente se introducen las placas a la incubadora a 36 °C durante 24 h.

Una vez transcurren las 24h se leen los resultados. Si la muestra presenta un halo de inhibición de crecimiento bacteriano se determina que presenta actividad antibiótica. No obstante, al medir diámetro de la zona de inhibición se puede hacer un seguimiento en función de la concentración del contaminante o de la influencia del proceso de desinfección usado a diferentes tiempos de tratamiento. A mayor diámetro mayor actividad antibiótica. Para que la medida del radio sea válida, la zona de inhibición debe ser perfectamente circular, pues alguna desviación indica el efecto de otro factor sobre el crecimiento de la cepa objeto de estudio .

## III. Valoración del $\text{H}_2\text{O}_2$

Cada vez que empiece a usar una botella de peróxido de hidrógeno, se debe hacer la normalización de este producto para determinar su concentración.

El procedimiento a seguir es el siguiente (Terán, 2016):

1. Preparación de la solución de  $\text{KMnO}_4$ . Para ello pesar 0,35g de  $\text{KMnO}_4$  y agregar 100 mL de agua destilada. Tapar el vaso con un vidrio de reloj y hervir la solución suavemente por 15-30 min. Se deja enfriar a temperatura ambiente y se filtra la disolución, a continuación se guarda en un frasco ámbar para evitar su degradación.
2. Estandarización de la solución de  $\text{KMnO}_4$  con  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  de concentración conocida. Pesar 0,1 g de  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  seco en un Erlenmeyer de 250 mL y disolver en 75 mL de ácido sulfúrico 1,5

N. Calentar la solución recién preparada entre 80 y 90°C y titular lentamente con la solución de  $\text{KMnO}_4$  agitando constantemente con movimientos circulares. El punto final lo determina la aparición de un color rosa tenue que persiste por lo menos 30 segundos.

3. Valoración del  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Disolver 1 mL de peróxido de hidrógeno en 100 mL de agua destilada. Disolver 1 mL de esta disolución en un Erlenmeyer de 250 mL con 25 mL de agua destilada y mezclar bien. Añadir 20 mL de ácido sulfúrico 2 N. Titular en frío con la solución valorada de  $\text{KMnO}_4$  hasta la aparición del primer rosado permanente.

Con este procedimiento se puede calcular la normalidad del  $\text{KMnO}_4$  y la concentración del  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

## ANEXO II – Resultados

Tabla 17 – Recopilación de los resultados experimentales previos de cafeína al aplicar tratamiento CFD

N.º experimento	Matriz	cafeína (mg/L)	ferrato (mg/L)	Abs i	cafeína i (mg/L)	Abs f	cafeína f (mg/L)	% eliminado
1	Destilada	10	100	0,919	16,47	0,734	13,17	20,13
2	Destilada	10	100	0,819	14,69	0,706	12,67	13,80
3	Destilada	10	100	0,966	17,31	0,795	14,26	17,70
4	Destilada	10	100	0,923	16,54	0,788	14,14	14,63
5	Salida EDAR	10	100	0,483	8,70	0,462	8,32	4,35
6	Salida EDAR	10	100	0,525	9,45	0,499	8,98	4,95
7	Salida EDAR	10	100	0,413	7,45	0,508	9,14	Error

Tabla 18 - Recopilación de los resultados experimentales previos de cafeína al aplicar tratamiento Foto-Fenton

N.º experimento	Matriz	cafeína (mg/L)	Ferrato (mg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	Tiempo trat. (mín)	Abs i	cafeína i (mg/L)	Abs f	cafeína f (mg/L)	% eliminado
8	EDAR	40	100	325	30	2,434	43,476	2,445	43,672	Error
9	EDAR	40	100	325	30	2,585	46,168	2,583	46,132	0,077
10	EDAR	40	100	650	30	2,700	48,217	2,662	47,540	1,407
11	EDAR	40	100	650	30	2,579	46,061	2,562	45,758	0,659
12	EDAR	40	100	650	60	2,798	49,964	2,518	44,973	10,007
13	EDAR	20	100	650	60	1,030	18,449	1,279	22,888	Error
14	EDAR	20	100	650	60	1,039	18,610	1,173	20,998	Error
15	EDAR	20	50	200	120	0,856	15,348	0,879	15,758	Error

Tabla 19 – Recopilación total de los resultados experimentales de los tratamientos de CFD y Fenton modificado (CFD+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

N.º experimento	Tratamiento	ferrato (mg/L)	levofloxacin (mg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	Control de la concentración				
					Abs i	LEV i (mg/L)	Abs f	LEV f (mg/L)	% reducción
1	CFD	100	20	-	0,740	18,095	0,608	14,945	17,84
2	CFD	100	20	-	0,658	16,138	0,537	13,251	18,39
3	CFD	100	20	-	0,557	13,728	0,429	10,673	22,98
4	CFD	100	20	-	0,864	21,055	0,633	15,542	26,74
5	Fenton	100	20	200	0,543	13,394	0,237	6,091	56,35
6	Fenton	100	20	200	0,523	12,916	0,450	11,174	13,96
7	Fenton	100	20	200	0,527	13,012	0,263	6,711	50,09
8	Fenton	100	20	200	0,509	12,582	0,248	6,353	51,28
9	CFD	200	20	-	1,179	28,573	0,903	21,986	23,41
10	CFD	200	20	-	1,205	29,193	0,93	22,630	22,82
11	Fenton	200	20	200	0,564	13,895	0,532	13,131	5,67
12	Fenton	200	20	200	0,549	13,537	0,529	13,060	3,64
13	CFD	400	20	-	0,623	15,303	0,470	11,652	24,56
14	CFD	400	20	-	0,587	14,444	0,466	11,556	20,61

Tabla 20 - Recopilación de los resultados experimentales del tratamiento Foto-Fenton

N.º experimento	Tratamiento	ferrato (mg/L)	LEV (mg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	Duración trat. (h)	Control de la concentración						Ajuste pH		
						Abs i	LEV i (mg/L)	Abs m	LEV m (mg/L)	Abs f	LEV f (mg/L)	% reducción	¿Ajuste?	pH inicial
15	Foto-Fenton	100	20	325	1	0,501	12,391	0,460	11,413	0,371	9,289	25,95		
16	Foto-Fenton	100	20	325	1	0,592	14,563	0,467	11,580	0,441	10,959	25,51		
17	Foto-Fenton	200	20	325	1	0,494	12,224	0,252	6,449	0,370	9,265	25,10		
18	Foto-Fenton	200	20	325	1	0,489	12,105	0,427	10,625	0,380	9,504	22,29		
19	Foto-Fenton	100	20	200	1	0,527	13,012	0,481	11,914	0,463	11,484	12,14		
20	Foto-Fenton	100	20	200	1	0,509	12,582	0,474	11,747	0,448	11,126	11,98		
21	Foto-Fenton	100	20	200	1	0,501	12,391	0,460	11,413	0,371	9,289	25,95		
22	Foto-Fenton	100	20	200	1	0,492	12,177	0,467	11,580	0,441	10,959	10,37		
23	Foto-Fenton	100	20	200	1	0,494	12,224	0,252	6,449	0,370	9,265	25,10		
24	Foto-Fenton	100	20	325	1	0,489	12,105	0,427	10,625	0,380	9,504	22,29		
25	Foto-Fenton	100	20	200	2	0,466	11,556	0,344	8,644	0,315	7,952	32,40		
26	Foto-Fenton	100	20	200	2	0,488	12,081	0,354	8,883	0,314	7,928	35,66		
27	Foto-Fenton	100	20	200	2	0,491	12,153	0,387	9,671	0,316	7,976	35,64		
28	Foto-Fenton	200	20	200	2	0,491	12,153	0,426	10,601	0,437	10,864	11,00		
29	Foto-Fenton	200	20	200	2	0,492	12,177	0,442	10,983	0,470	11,652	4,47		
30	Foto-Fenton	400	20	325	2	0,919	22,368	0,498	12,320	0,455	11,294	50,49		
31	Foto-Fenton	400	20	325	2	0,965	23,465	0,545	13,442	0,439	10,912	54,51		
32	Foto-Fenton	400	20	325	2	1,047	25,422	0,697	17,069	0,402	10,029	61,60		
33	Foto-Fenton	400	20	325	2	1,240	30,029	0,741	18,119	0,403	10,053	67,50		
34	Foto-Fenton	400	20	325	2	1,126	27,308	0,366	9,169	0,103	2,893	90,85	si	6,29
35	Foto-Fenton	400	20	325	2	1,106	26,831	0,547	13,489	0,092	2,630	91,68	si	5,78
36	Foto-Fenton	800	20	325	2	0,627	15,399	0,302	7,642	0,217	5,613	65,39		9,32
37	Foto-Fenton	800	20	325	2	0,673	16,496	0,384	9,599	0,249	6,377	63,00		10,21
38	Foto-Fenton	800	20	325	2	0,150	4,014	0,146	3,919	0,118	3,251	21,33	si	7,63

Tabla 20 - Recopilación de los resultados experimentales del tratamiento Foto-Fenton (Continuación)

39	Foto-Fenton	800	20	325	2	0,136	3,680	0,132	3,585	0,091	2,606	33,09	si	7,41
40	Foto-Fenton	400	20	325	2	0,612	15,041		0,434	0,644	15,804	Error		
41	Foto-Fenton	400	20	325	2	0,742	18,143		0,434	0,87	21,198	Error	si	7,4
42	Foto-Fenton	800	20	325	2	1,128	27,356		0,434	1,144	27,737	Error		
43	Foto-Fenton	800	20	325	2	0,723	17,690		0,434	1,048	25,446	Error	si	7,96