



**COORDINACIÓN DE TRATAMIENTO Y CALIDAD DEL AGUA  
SUBCOORDINACIÓN DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES**

**TC2014.1 Desarrollo de tecnologías para  
tratamiento de aguas residuales:  
Etapa 2. Remoción de compuestos emergentes  
mediante procesos avanzados.**

**Informe final**

Elaboraron:

Dra Petia Mijaylova Nacheva  
Ing. Luis Alberto Ramírez Vargas  
M.I. Sandra Ortiz Gómez

JIUTEPEC, MORELOS, 2020



# Índice

1.	Introducción, antecedentes y justificación del proyecto .....	1
2.	Objetivos.....	4
3.	Marco teórico .....	5
3.1.	Contaminantes emergentes.....	5
3.2.	Compuestos farmacéuticos y de cuidado personal.....	7
3.3.	Validación de métodos analíticos.....	14
3.3.1.	Conceptos para validación de un método.....	14
3.3.2.	Métodos de detección y cuantificación de compuestos emergentes.....	16
3.3.2.1.	Cromatografía de gases acoplada a un detector selectivo de masas.....	17
3.3.2.2.	Extracción en fase sólida.....	19
3.3.2.3.	Derivatización.....	20
3.4.	Procesos de oxidación avanzada.....	23
3.4.1.	POA utilizados en la degradación de los CF.....	27
3.4.1.1.	Fenton.....	27
3.4.1.2.	Foto-Fenton.....	28
3.4.1.3.	Sonoelectroquímica.....	29
3.4.1.4.	Oxidación anódica o electrooxidación.....	30
3.4.1.5.	Procesos electroquímicos.....	32
3.4.1.6.	Electro-Fenton y Fotoelectrofenton.....	32
3.4.1.7.	Proceso Fered-Fenton.....	33
3.4.1.8.	Radiación de Ultravioleta al Vacío (VUV).....	34
3.4.2.	Procesos de oxidación avanzada fotocatalíticos.....	35
A)	Procesos foto-fenton en sistemas homogéneos:.....	35
B)	Fotocatálisis heterogénea basada en semiconductores.....	36
3.4.3.	Fotocatalizadores.....	36
3.5.	Fundamentos y mecanismo de la fotocatalisis heterogénea en TiO <sub>2</sub> .....	39
3.6.	Características y propiedades del titanio y dióxido de titanio.....	41
3.7.	Películas nanotubulares de TiO <sub>2</sub> .....	43
3.7.1.	Películas nanotubulares de TiO <sub>2</sub> .....	46
3.7.2.	Anodización electroquímica.....	46



- 3.7.3. Formación de Nanotubos de TiO<sub>2</sub> utilizando iones de F<sup>-</sup> .....48
- 3.7.4. Técnicas de analíticas para la caracterización de nanotubos .....50
  - 3.7.4.1. Microscopía electrónica de barrido .....50
  - 3.7.4.2. Difracción de Rayos X .....51
- 3.8. Especies reactivas de oxígeno .....52
- 4. Metodología..... 56
  - 4.1. Técnica analítica para la determinación de compuestos emergentes por cromatografía de gases - masas con y sin derivatización ..... 56
  - 4.2. Fotooxidación catalítica ..... 65
    - 4.2.1. Síntesis y caracterización de los nanotubos en placas de titanio ..... 65
      - 4.2.1.1. Material y equipo..... 65
      - 4.2.1.2. Preparación de láminas de Titanio ..... 66
      - 4.2.1.3. Proceso de anodización electroquímica..... 66
      - 4.2.1.4. Caracterización físico-química ..... 68
  - 4.3. Pruebas experimentales con el reactor fotocatalítico..... 70
    - 4.3.1. Reactivos y materiales ..... 70
    - 4.3.2. Equipo ..... 70
    - 4.3.3. Sistema experimental ..... 70
    - 4.3.4. Procedimiento experimental..... 73
      - 4.3.4.1. Experimentos en el reactor ..... 74
        - 4.3.4.1.1. Experimento de adsorción ..... 74
          - 4.3.4.1.2. Experimento de fotólisis..... 75
          - 4.3.4.1.3. Experimentos de preliminares..... 76
          - 4.3.4.1.4. Experimentos para determinar el tiempo de tratamiento..... 76
          - 4.3.4.1.5. Evaluación del efecto de las variables del proceso sobre la degradación de los compuestos farmacéuticos en estudio ..... 77
  - 4.4. Cinética del proceso, subproductos de degradación y evaluación de la toxicidad aguda 80
- 5. Resultados y discusión..... 81
  - 5.2. Síntesis de nanotubos en placas de titanio..... 103
    - 5.2.1. Análisis mediante FE-SEM (Vista superficial) ..... 103
    - 5.2.2. Análisis mediante FE-SEM de las placas fotocatalíticas después del proceso de lavado 107
    - 5.2.3. Instalación del sistema experimental ..... 109
    - 5.2.4. Experimentos preliminares ..... 110



5.2.5. Estudio del efecto de las variables sobre la degradación del metoprolol mediante oxidación fotocatalítica utilizando estructuras nanotubulares de TiO <sub>2</sub> .....	119
6. Conclusiones.....	124
7. Bibliografía.....	127



## Índice de tablas

Tabla 1. Concentración de algunos CE en diversos compartimentos .....	7
Tabla 2. Ejemplos de cartuchos aplicados para la extracción en fase sólida (EFS) de acuerdo con tipos de compuestos en matrices acuosas .....	20
Tabla 3. Principales reacciones de derivatización. ....	21
Tabla 4. Potencial redox de algunas especies oxidantes .....	24
Tabla 5. Algunas ventajas y desventajas de los POA .....	27
Tabla 6. Energía de separación (Egap) de algunos fotocatalizadores. ....	38
Tabla 7. Detalles de los CF de estudio, se incluye el uso, el tiempo de retención y los iones característicos. ....	57
Tabla 8. Parámetros considerados en el proceso de anodización para las películas .....	67
Tabla 9. Condiciones establecidas en el experimento de adsorción .....	75
Tabla 10. Condiciones establecidas en el experimento de adsorción. ....	75
Tabla 11. Condiciones establecidas en el experimento de adsorción. ....	77
Tabla 12. Intervalo experimental y niveles de las variables independientes. ....	78
Tabla 13. Factores e intervalos de trabajo realizados en otros estudios de degradación.....	78
Tabla 14. Matriz de Diseño factorial 2 <sup>5</sup> .....	79
Tabla 15. Matriz del Diseño Central Compuesto .....	79
Tabla 16. Compuestos farmacéuticos propuestos para su análisis.....	81
Tabla 17. Pruebas de escalamiento para síntesis de NT-TiO <sub>2</sub> .....	103
Tabla 18. Condiciones de trabajo para sintetizar NT-TiO <sub>2</sub> . ....	105
Tabla 19. Parámetros de trabajo utilizados en la síntesis utilizando pulido espejo. ....	107
Tabla 20. Tiempo de retención hidráulica para los tres volúmenes de trabajo....	110
Tabla 21. Número de ciclos de trabajo .....	110
Tabla 22. Resultados de la remoción del metoprolol obtenidos a pH 7 .....	115
Tabla 23. Resultados de la remoción del metoprolol obtenidos a pH 3 .....	116
Tabla 24. Resultados de la remoción del metoprolol obtenidos a pH 9 .....	116
Tabla 25. Propiedades fisicoquímicas del metoprolol.....	118
Tabla 26. Mejores condiciones de degradación para metoprolol .....	122



## Índice de figuras

Figura 1. Fuentes y destino de compuestos emergentes en medio acuático.....	6
Figura 2. Rutas de distribución de los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PFCP).....	9
Figura 3. Fuentes de contaminación ambiental por uso de CF.....	11
Figura 4. Esquema de un sistema de GC/MS.....	17
Figura 5. Clasificación de los procesos de oxidación avanzada.....	26
Figura 6. Clasificación de los POA electroquímicos basados en la reacción Fenton y que son utilizados en la remoción de los compuestos orgánicos presentes en las PTAR .....	32
Figura 7. Diagrama de energía de la banda de valencia (BV) y la banda de conducción (BC).....	37
Figura 8. Catalizadores y su banda prohibida (banda gap).....	39
Figura 9. Mecanismos efectuados en la fotocátalisis.....	40
Figura 10. Estructura cristalina de rutilo y anatasa, en azul se representa el ion $Ti^{+4}$ y en rojo el $O^{-2}$ .z.....	43
Figura 11. Principales parámetros considerados para la síntesis de nanotubos de $TiO_2$ .....	45
Figura 12. Esquema general del proceso de anodización electroquímica para la fabricación de nanotubos y nanoporos.....	47
Figura 13. Curva típica de Intensidad - tiempo después de un salto de voltaje en la ausencia (----) y presencia (-) de iones de flúor presentes en el electrolito de trabajo.....	50
Figura 14. Microscopio electrónico de barrido y sus componentes.....	51
Figura 15. Difractómetro de rayos X Bruker D8-Advance. ....	51
Figura 16. Estructura de las especies reactivas de oxígeno .....	52
Figura 17. Representación de la generación de las especies reactivas de oxígeno.....	54
Figura 18. Mecanismo fotocatalítico en una partícula de $TiO_2$ que conduce a la producción de ERO.....	55
Figura 19. Cromatógrafo de gases utilizado en la cuantificación de los CF estudiados .....	58
Figura 20. Esquema de los componentes principales que integran el sistema de CG-MS/MS utilizado en la determinación de los fármacos.....	59
Figura 21. Condiciones de operación del CG-MS con triple cuadrupolo .....	61
Figura 22. (a) Muestras provenientes de los experimentos, (b) Extracción en fase sólida de las muestras.....	62
Figura 23. Pasos por seguir para implementar una técnica de cuantificación de CF.....	64
Figura 24. Procedimiento por seguir para la síntesis de NT- $TiO_2$ .....	65



Figura 25. Partes de la celda de teflón. a) base con lamina de titanio. b) ensamble de la celda .....66

Figura 26. Representación esquemática del proceso de anodización electroquímica. (a) fuente de poder, (b) electrodo de Pt (cátodo), (c) celda electrolítica, (e) electrodo de trabajo (ánodo), (f) lámina de Ti .....67

Figura 27. Tratamiento térmico. a) Mufla, b) placas sintetizadas dentro de la mufla .....68

Figura 28. FE-SEM utilizado en la caracterización de las películas nanotubulares de trabajo .....68

Figura 29. Difractómetro utilizado en el análisis de las fases cristalinas .....69

Figura 30. Metodología de la técnica de anodización electroquímica y análisis de las placas de nanotubos de TiO<sub>2</sub> .....69

Figura 31. Diagrama del sistema experimental. (1) Depósito de 2L, (2) bomba peristáltica, (3) reactor fotocatalítico, (4) válvula de muestreo, (5) concentrador de oxígeno, (6) agitación magnética.....71

Figura 32. Sistema experimental y sus componentes .....72

Figura 33. Representación esquemática del reactor fotocatalítico. (1) lámpara UV, (2) reactor fotocatalítico, (3) placas NT-TiO<sub>2</sub>, (4) cámara de fotólisis.....72

Figura 34. Vista superior del reactor fotocatalítico .....73

Figura 35. Condiciones cromatográficas aplicadas a la columna en la sección de gases.....82

Figura 36. Condiciones para la espectrometría de masas .....83

Figura 37. Cromatograma y iones principales para ibuprofeno.....83

Figura 38. Porcentaje de similitud de en librería para ibuprofeno .....84

Figura 39. Cromatograma y iones principales para carbamazepina .....84

Figura 40. Porcentaje de similitud de en librería para carbamazepina .....85

Figura 41. Cromatograma y iones principales para diclofenaco.....85

Figura 42. Porcentaje de similitud de en librería para Diclofenaco..... 86

Figura 43. Cromatograma y iones principales para fenofibrato.....86

Figura 44. Porcentaje de similitud de en librería para fenofibrato.....87

45. Cromatograma para mezcla de los 13 fármacos.....88

Figura 46. Cromatograma de la inyección de acetona.....89

Figura 47. Cromatograma de la inyección de acetonitrilo.....89

Figura 48. Cromatograma de la inyección de acetato de etilo.....90



Figura 49. Cromatograma de la inyección de hexano .....90

Figura 50. Condiciones cromatográficas aplicadas a la columna en la sección de gases.....91

Figura 51. Condiciones para la espectrometría de masas .....91

Figura 52. Cromatograma para mezcla de CF.....92

Figura 53. Tabla elaborada a partir del cromatograma..... 92

Figura 54. Iones de referencia para carbamazepina.....93

55. Iones de referencia para diclofenaco .....93

Figura 56. Iones de referencia para fenofibrato.....94

Figura 57. Ventana Smart data base.....95

Figura 58. Ventana COAST .....95

Figura 59. Ventana MRM\_OPTIMIZATION\_TOOL.....96

Figura 60. Condiciones cromatográficas aplicadas a la columna en la sección de gases.....97

Figura 61. Condiciones para la espectrometría de masas.....97

Figura 62. Ventana MRM OPTIMIZATION.....97

Figura 63. Condiciones de la curva de calibración.....98

Figura 64. Linealidad para fenofibrato.....99

Figura 65. Linealidad para diclofenaco.....99

Figura 66. Linealidad para carbamazepina.....100

Figura 67. Proceso de extracción en fase solida.....101

Figura 68. Proceso de evaporación mediante nitrógeno de alta pureza.....102

Figura 69. Imágenes de la película nanotubular de TiO<sub>2</sub> obtenidas con la solución de glicerol en su vista superior y tiempo de trabajo de 2:30 h.....103

Figura 70. Imágenes de FE-SEM con modificación en el tiempo de trabajo (2:15 h).....104

Figura 71. Imágenes de la superficie y el corte transversal donde se aprecia la forma ordenada de los nanotubos y su longitud.....105

Figura 72. Síntesis de NT-TiO<sub>2</sub> en placas de Ti recicladas y con pulido espejo y tratamiento térmico a 550°C.....106



Figura 73. Placas con diferentes condiciones de lavado. (a) Utilizando agua desionizada, (b) con agua desionizada y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, (c) agua desionizada y metanol, (d) metanol con baño ultrasónico .....108

Figura 74. Comparación de dos placas lavadas con metanol. (a) Utilizando agua desionizada y metanol (b) con metanol y utilizando el baño ultrasónico.....108

Figura 75. Sistema experimental: A) Caja negra, la cual en el interior contiene el Reactor Fotocatalítico (RF), B) Vaso de precipitados de 3 L, C) Parrilla de agitación, D) Bomba peristáltica (Master flex, modelo 07591-00), E) Concentrador de oxígeno marca Aeroflux..... 109

Figura 76. Agitación de la solución de metoprolol con una concentración de 5 µg L<sup>-1</sup> .....111

Figura 77. Muestras del agua a tratar y tratada.....111

Figura 78. Acondicionamiento de los cartuchos Oasis HLB..... 112

Figura 79. Muestras para la elución.....112

Figura 80. Proceso de elución.....113

Figura 81. Concentración de muestras.....113

Figura 82. Concentración a sequedad.....114

Figura 83. Viales de 2 ml con las muestras de los experimentos realizados.....114

Figura 84. Concentración de muestras.....114

Figura 85. Resultados de remoción para los experimentos pH neutro .....116

Figura 86. Resultados de remoción para los experimentos pH de 3.....117

Figura 87. Resultados de remoción para los experimentos pH de 9.....117

Figura 88. Diagrama de Pareto que ilustra el efecto de las variables y sus interacciones..... 119

Figura 89. Efectos principales sobre la degradación del metoprolol.....121

Figura 90. Representación de la interacción de las variables por pares sobre la degradación del metoprolol .....122

Figura 91. Gráfica de superficie de respuesta y de contorno para la interacción de 2 factores, el flujo de oxígeno y a la altura de la irradiación, pH3, tiempo de 60 min, tirante de solución 1.5 cm.....123



## 1. Introducción, antecedentes y justificación del proyecto

La calidad del agua en la VIII Fase del Programa internacional hidrológico, PIH (2014-2021), tiene alta prioridad que se refleja en el Tema 3 “Abordar la escasez y la calidad del agua”.

Este tema contribuye a la Agenda 2030, Objetivo 6 para el Desarrollo Sostenible, Meta 6.3, de mejorar la calidad del agua reduciendo la contaminación, eliminando el vertimiento y minimizando la emisión de productos químicos y materiales peligrosos, reduciendo a la mitad el porcentaje de aguas residuales sin tratar y aumentando considerablemente el reciclado y la reutilización sin riesgos.

Uno de los principales objetivos de la Iniciativa Internacional sobre Calidad del Agua (IIWQ por sus siglas en inglés) del PIH de la UNESCO es reforzar su capacidad científica, técnica y política para gestionar riesgos para la salud humana y el medioambiente causados por contaminantes emergentes en agua superficiales, subterráneas y aguas residuales, a través de la mejora de la calidad del agua y gestión de aguas residuales y la promoción de la reutilización de aguas residuales, contribuyendo a la seguridad hídrica y alimentaria.

La cromatografía de gases-masas-masas (GC-MS/MS) es una técnica que combina la capacidad de separación con la sensibilidad y capacidad selectiva del detector de masas. Esta combinación permite analizar y cuantificar compuestos trazas en mezclas complejas con un alto grado de efectividad, sin embargo, para la determinación de los contaminantes emergentes (CE) las técnicas analíticas son más específicas. La extracción se realiza en fase sólida mediante cartuchos (Oasis HLB®). Después, debido a la poca volatilidad de algunos CE y la presencia de varios grupos polares en la molécula, ha sido necesario implementar el procedimiento de derivatización para obtener productos más volátiles y aumentar la sensibilidad de la técnica. La derivatización es diferente para CE ácidos y neutros y se hace con diferentes derivatizantes, lo cual aumenta el tiempo y el costo del método. La mayoría de los métodos analíticos propuestos en la literatura aplican procedimientos con derivatización antes del análisis GC-MS/MS.

Recientemente se publicó un método basado en extracción y análisis directo del extracto por GC-MS/MS, evitando el tedioso paso de derivatización. Los autores son del Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua en Barcelona, España, con el cual en 2019 se propuso firmar un convenio de colaboración. Considerando las amplias ventajas que traerá la implementación de una técnica analítica que evite el paso crítico de derivatización en el equipo GC-MS/MS Shimadzu del IMTA, se propone como primer objetivo de este proyecto el de



desarrollar e implementar una técnica analítica similar para la determinación de CE ácidos y neutros sin derivatización.

Los CE son compuestos de diverso origen y naturaleza química, cuya presencia y consecuencias en el medio ambiente han pasado inadvertidas durante mucho tiempo ya que están presentes en el agua en bajas concentraciones ( $\text{ng L}^{-1}$  a  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Estos contaminantes son considerados muy perjudiciales para la salud humana y el medio ambiente, ya que pueden causar diversos efectos en los organismos, tales como toxicidad crónica, disrupción endócrina y bioacumulación. Los CE incluyen una gran variedad de productos; se pueden clasificar en: fármacos, productos de higiene personal, tensoactivos, agentes industriales, retardantes de llama bromados, plaguicidas polares y drogas entre otros. Actualmente las PTAR convencionales están diseñadas para remover básicamente SST, materia orgánica, nutrientes y patógenos. Debido a las bajas concentraciones y diversas propiedades fisicoquímicas, los CE pueden pasar por las PTAR y terminar en el medio ambiente. No es tarea sencilla remover estos compuestos, ya que poseen diferentes propiedades fisicoquímicas (polaridad, solubilidad, estructura química) y tienen diferentes reacciones a los procesos del tratamiento, sean estos abióticos (sorción, volatilización, fotodegradación) o bióticos (biodegradación).

Los impactos ambientales se evalúan no solo con la toxicidad de los compuestos, intervienen otros factores como la persistencia y la bioacumulación en diferentes organismos. Los compuestos de alta persistencia son difíciles de biodegradar y se acumulan en el ambiente, en la flora y fauna. Se ha revelado que los productos farmacéuticos y de cuidado personal pueden causar carcinogenicidad, teratogenicidad, mutagenicidad, disruptores endocrinos y toxicidad para el desarrollo reproductivo. Se ha demostrado que existe una relación entre la exposición a estos contaminantes y las variaciones en el metabolismo, problemas de crecimiento, fertilidad y la feminización en varios tipos de organismos, además los CE pueden inducir la aparición de genes de resistencia bacteriana, lo que presenta efectos adversos irreversibles para el ecosistema y el ser humano. Los estudios sobre el tema de la persistencia y bioacumulación han revelado que una gran cantidad de los CE son persistentes. Por lo cual se necesita desarrollar métodos adecuados para su remoción en el agua.

Un grupo de procesos que podría proporcionar solución a estos problemas es el de los procesos de oxidación avanzada (POA). Estos son procesos fisicoquímicos, que se basan en la generación de radicales y especies oxidantes en una concentración suficiente para degradar los contaminantes persistentes. Algunos procesos POA son: ozonación, oxidación con oxidantes fuertes y catalizadores, oxidantes con fotocatalizadores y radiación ultravioleta (UV) o visible, procesos electroquímicos entre otros. Se ha estudiado la fotocatálisis con  $\text{TiO}_2$ , pero no se



ha probado hasta el momento la fotocatalisis usando películas delgadas con estructura nanotubular de  $\text{TiO}_2$ , lo cual se propone realizar en este estudio.

Este trabajo se realizará con la participación de la Dra. Cecilia Cuevas Arteaga del CIICAP, UAEM, quien realizará este año una estancia de investigación en el IMTA, ella es experta en síntesis de nanotubos y con la participación de la alumna de Doctorado Sandra Ortiz Gómez quien desarrolla su tesis en este tema.

### **Beneficios que genera el proyecto**

Social y Ambiental: Desarrollo de tecnología novedosa para el tratamiento del agua residual que permita asegurar la protección de la salud pública y evitar impactos negativos al medio ambiente.

Científico: Generación de conocimientos para el desarrollo de nuevos procesos y sistemas de tratamiento de aguas residuales para remover contaminantes emergentes.

Tecnológico y económico: Generación de tecnología novedosa para el manejo sostenible de aguas residuales.



## 2. Objetivos

**Objetivo general:** Evaluar la remoción de compuestos emergentes mediante la aplicación de procesos avanzados en el tratamiento de las aguas residuales.

**Objetivos específicos:**

1. Desarrollar e implementar una técnica analítica que permite la determinación de microcontaminantes emergentes ácidos y neutros sin derivatización de las muestras.
2. Elucidar la degradación de compuestos farmacéuticos en agua mediante oxidación fotocatalítica usando películas con estructura nanotubular de  $\text{TiO}_2$ .



### 3. Marco teórico

#### 3.1. Contaminantes emergentes

El agua es un medio que puede ser contaminado por la presencia de múltiples compuestos disueltos o suspendidos. Si bien hay compuestos que pueden estar presentes en los cuerpos de agua sin afectar su calidad (materia orgánica, iones y sales), hay compuestos que aún en concentraciones traza pueden originar daños en organismos y a la salud humana (Barceló y López, 2008). Muchos de estos compuestos utilizados comúnmente contienen componentes químicos que pueden persistir a través de las plantas de tratamiento de aguas residuales y entrar en el medio acuático como compuestos principales, metabolitos o subproductos.

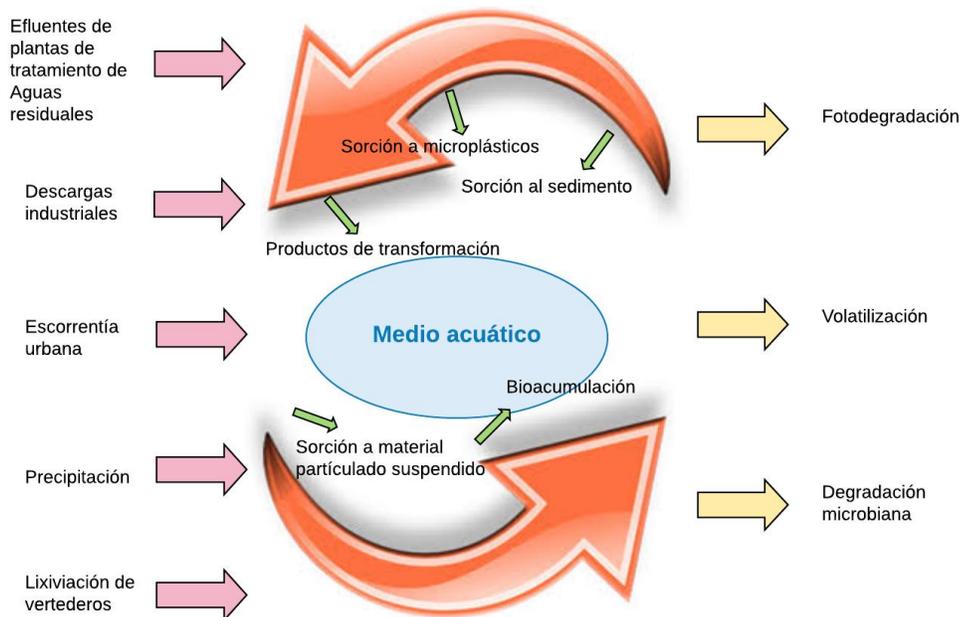
Los contaminantes emergentes (CE) también llamados microcontaminantes, se definen como productos químicos sintéticos o naturales, o cualquier microorganismo que no se monitorea en el medio ambiente pero que tienen el potencial de entrar en él y causar efectos adversos a la salud humana y al ecosistema (Rosales et al., 2019). En general, estos productos químicos se producen en gran escala a nivel mundial, tiene un vasto número de aplicaciones y se han vuelto indispensables para nuestra sociedad moderna (Silva et al., 2011), han sido detectados en el agua (típicamente ng/L) y nuevas investigaciones manifiestan que también se encuentran ligados a sedimentos y partículas plásticas (típicamente ng /g) (Wilkinson et al., 2016).

La liberación de los contaminantes emergentes al medio ambiente probablemente ha ocurrido durante mucho tiempo, pero no se habían reconocido hasta que se desarrollaron nuevos métodos de detección (Geissen et al., 2015). Se catalogan según el riesgo probable o real que pueda generar a la salud humana y/o al medio ambiente. Su origen es distinto, que van desde el industrial o proveniente de aguas residuales municipales, los compuestos químicos agrícolas, los hospitales y laboratorios. Estos CE se clasifican principalmente en tres categorías:

- Compuestos farmacéuticos (CF),
- Productos de cuidado personal (PCP) ,
- Compuestos de alteración endocrina (CAE).

Pero no se limitan a lo anterior, también incluyen nanomateriales (NM), metabolitos de CE, drogas ilegales, organismos genéticos, entre otros. Los NM afectan la biomasa bacteriana durante el tratamiento de aguas residuales y disminuye su eficacia en la eliminación de CE (Wang et al., 2012). Los CE están presentes en aguas superficiales, aguas subterráneas e incluso en el océano; las industrias, tormentas, descargas de aguas puntuales y no puntuales facilitan su entrada al medioambiente, pero las PTAR municipales son consideradas como su

principal fuente (Ternes et al., 2004). Actualmente existe una creciente preocupación por la gestión de lodos con altos niveles de CE presentes en ellos (**Figura 1**), el diseño de las PTAR actuales no se encuentra hecho para contención y eliminación de los CE y sus metabolitos, estas PTAR se han diseñado para eficientar el desempeño de las tecnologías para la eliminación de nutrientes, originando que estos compuestos sean liberados en ríos o arroyos con alta biodiversidad (Gogoi et al., 2018).



**Figura 1.** Fuentes y destino de compuestos emergentes en medio acuático.

Algunos ejemplos de los CE son los compuestos perfluorados, antibióticos, fragancias, conservadores antimicrobianos (parabenos) utilizados en cosméticos y alimentos (Gogoi et al., 2018), subproductos de desinfección, protectores solares, retardantes de llama, dioxano, pesticidas y sus subproductos de degradación, fármacos de uso veterinario, esteroides, hormonas y productos químicos (Inostroza et al., 2017). Las concentraciones encontradas en el agua van desde unos pocos ng/L hasta  $\mu\text{g/L}$ . La baja concentración y la diversidad no sólo complica procedimientos de detección y análisis, sino que también crean desafíos para el diseño de nuevos procesos de tratamiento de aguas contaminadas (Luo et al., 2014), la efectividad en la eliminación aplicando las técnicas tradicionales de tratamiento de aguas residuales como la sedimentación, la floculación y el tratamiento de lodos activados es en la mayoría de los casos muy baja (Santos et



al., 2007). En la **Tabla 1** se indican las concentraciones de algunos CE en diversos medios ambientales.

**Tabla 1.** Concentración de algunos CE en diversos compartimentos, Gogoi (2017).

CE	Aguas residuales tratadas	Agua superficial	Agua subterránea	Agua potable
Analgesicos y antiinflamatorios	60 µg l <sup>-1</sup>	5 µg l <sup>-1</sup>	--	0.12 µg l <sup>-1</sup>
Reguladores de lípidos	5 µg l <sup>-1</sup>	0.2 µg l <sup>-1</sup>	7.5 µg l <sup>-1</sup>	0.17 µg l <sup>-1</sup>
B-bloqueadores	9 µg l <sup>-1</sup>	2 µg l <sup>-1</sup>	--	0.27 µg l <sup>-1</sup>
Antibióticos	6 µg l <sup>-1</sup>	1.9 µg l <sup>-1</sup>	0.2 µg l <sup>-1</sup>	--
Antiepilépticos	22 µg l <sup>-1</sup>	1.8 µg l <sup>-1</sup>	1.1 µg l <sup>-1</sup>	0.05 µg l <sup>-1</sup>
Estrona (E1)	<0.1–19 ng l <sup>-1</sup>	<0.1–17 ng l <sup>-1</sup>	--	0.2–0.6 ng l <sup>-1</sup>
17β-estradiol (E2)	<0.1–650 ng l <sup>-1</sup>	<0.1–6 ng l <sup>-1</sup>	<13–80 ng l <sup>-1</sup>	0.2–2.1 ng l <sup>-1</sup>
Estriol (E3)	5–7.3 ng l <sup>-1</sup>	1 -2.5 ng l <sup>-1</sup>	--	--
Bisfenol A	4.8–258 ng l <sup>-1</sup>	0.5-250 ng l <sup>-1</sup>	3–1410 ng l <sup>-1</sup>	0.5.44 ng l <sup>-1</sup>

Recientemente, la Unión Europea estableció regulaciones de estas sustancias y elaboró una lista de vigilancia en común acuerdo con la Directiva de Normas de Calidad Ambiental (Environmental Quality Standards Directive), en esta lista, tres sustancias pertenecientes a los CE fueron incluidas (Decisión 2015/495), las cuales son: la hormona natural estradiol, la hormona sintética etinilestradiol y el antiinflamatorio diclofenaco, con el objetivo de facilitar la determinación de medidas apropiadas para bordar el riesgo evidenciado por esas sustancias (Rosales et al., 2019).

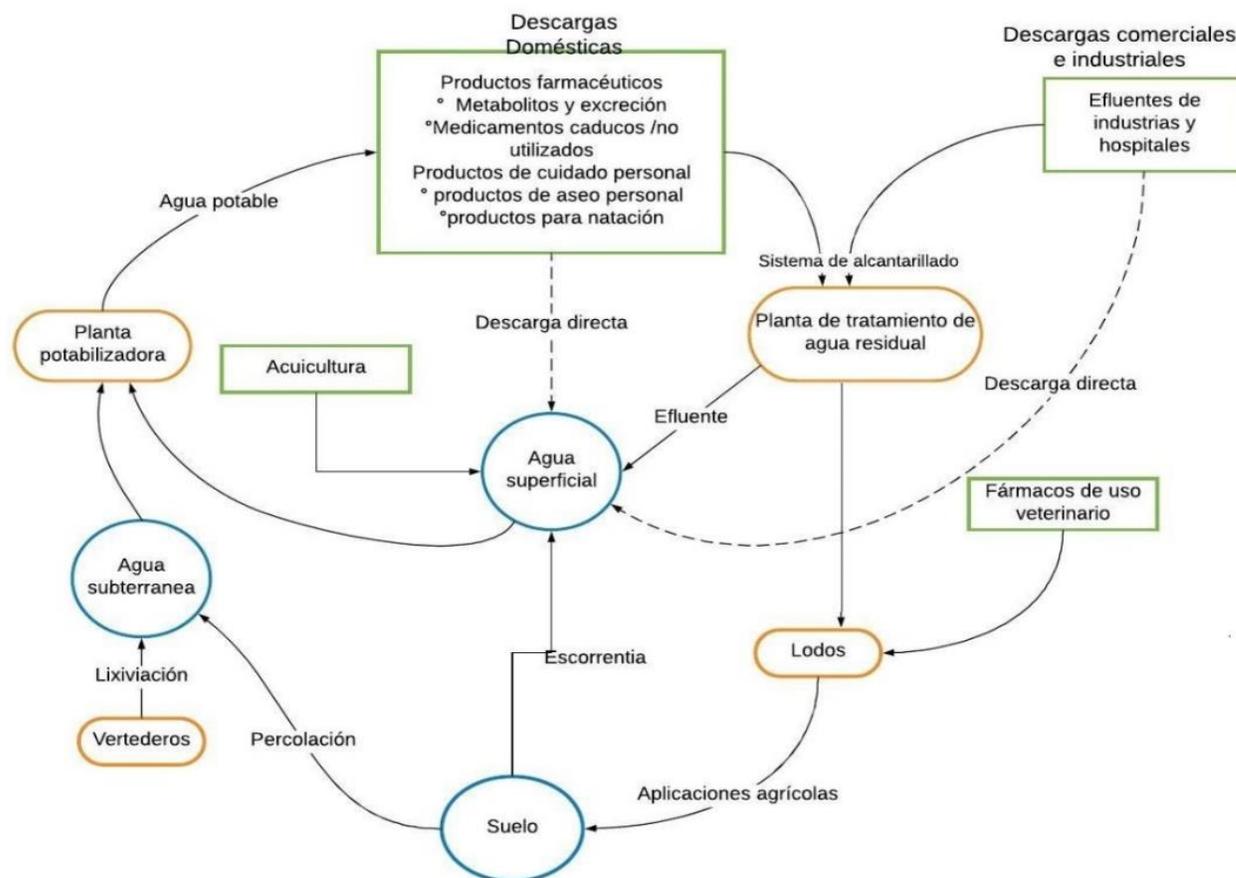
### 3.2. Compuestos farmacéuticos y de cuidado personal

Los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PFCP) se reconocen como CE debido a su presencia persistente en medios acuáticos, son de interés científico y público, recibiendo una atención considerable en la última década con respecto a su destino ambiental y propiedades toxicológicas (Evgenidou et al., 2015). El término PFCP se refiere a cualquier producto con fines médicos que se usa para prevenir o tratar enfermedades y aquellos del cuidado de la salud empleados para el bienestar, los PFCP pueden utilizarse tanto en humanos como en animales (Yi et al., 2017). En los últimos diez años, el consumo anual global de



estos compuestos ha aumentado, los principales países consumidores son: Brasil, Rusia, India, China y Sudáfrica. Hasta la fecha, se han producido más de 3000 PPCP y el desarrollo constante de nuevos compuestos químicos ha llevado a una mayor abundancia y variedad de estos en el medio ambiente (Awfa et al., 2018). La presencia de una pequeña concentración de los PFCP se asocia a la toxicidad crónica, la alteración endocrina (Rosal et al., 2010). Esta serie de compuestos incluyen pesticidas, hormonas naturales y sintéticas, productos químicos industriales (como retardantes de llama, plastificantes, aditivos alimenticios), analgésicos, antibióticos, anticonceptivos, reguladores de lípidos, además de los ingredientes activos de jabones, detergentes, perfumes y productos para la piel, el cabello y el cuidado dental (Rizzo et al., 2019., Alharbi et al., 2017). En los últimos 30 años, el interés sobre la seguridad de estos compuestos se ha incrementado (Schumock et al., 2014) por su presencia en los diversos compartimentos del medio acuático (agua, sedimentos y biota) a concentraciones capaces de causar efectos perjudiciales (Ebele et al., 2017) en peces e invertebrados. Se ha considerado que los PFCP también contribuyen al desarrollo de bacterias resistentes a diversos antibióticos (Oliveira et al., 2015) y se ha demostrado que existe una relación entre la exposición a estos contaminantes y las variaciones en el metabolismo, problemas en el crecimiento, fertilidad y la feminización en varios tipos de organismos (Pal et al., 2010). Los estudios sobre los efectos en humanos han ido en aumento, encontrándose relaciones entre la exposición durante el embarazo o a edades tempranas y diversas afectaciones en el desarrollo de los órganos que podrían convertirse en afectaciones permanentes (Yi et al., 2017).

Estudios recientes han indicado la detección continua de esos compuestos en ambientes acuáticos de agua dulce (Kuzmanović et al., 2015; Ebele et al., 2017) registrando su presencia en agua subterránea y ríos. Las rutas consideradas para el ingreso de los PFCP (**Figura 2**) son la escorrentía agrícola y urbana, los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Inostroza et al., 2017) la disposición de lodos y por derrames accidentales (Virkytyte et al., 2010). Un creciente número de comunidades tiene fuentes de abastecimiento de agua que se suministra directa o indirectamente de efluentes provenientes de aguas residuales, algunas concentraciones de ftalatos, bisfenol A, productos farmacéuticos, desinfectantes y hormonas se han reportado en influentes y efluentes de plantas de tratamiento (Deblonde et al., 2011).



**Figura 2.** Rutas de distribución de los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PFPC). Adaptado de Yang et al. (2017).

La presencia y el destino de los compuestos farmacéuticos en las aguas residuales urbanas es una preocupación ambiental importante debido a su presencia generalizada (Luo et al., 2014). Su estudio va en aumento en los últimos años y el agua dulce se considera un sumidero de estos compuestos orgánicos debido a las descargas directas en los diversos cuerpos de agua; estudios recientes realizados en ríos advierten la presencia de estos CF en peces, sedimentos, partículas suspendidas, fase coloidal (5 kDa a 1  $\mu$ m) y fase disuelta (<5 kDa), concluyendo que las partículas suspendidas y coloides pueden servir de portadores de los CF en el sistema acuático, exhibiendo un alto potencial de bioacumulación principalmente en los peces. Estudios demuestran que la concentración total más alta de los CF en los peces se encontró en el riñón, seguida del cerebro, el hígado, las branquias y por último en los músculos (Liu et al., 2018). Los CF son moléculas complejas las cuales se han desarrollado y utilizado debido a su actividad biológica específica. El consumo de CF en los países de la Unión Europea se cifra en toneladas por año, de las cuales, cerca de



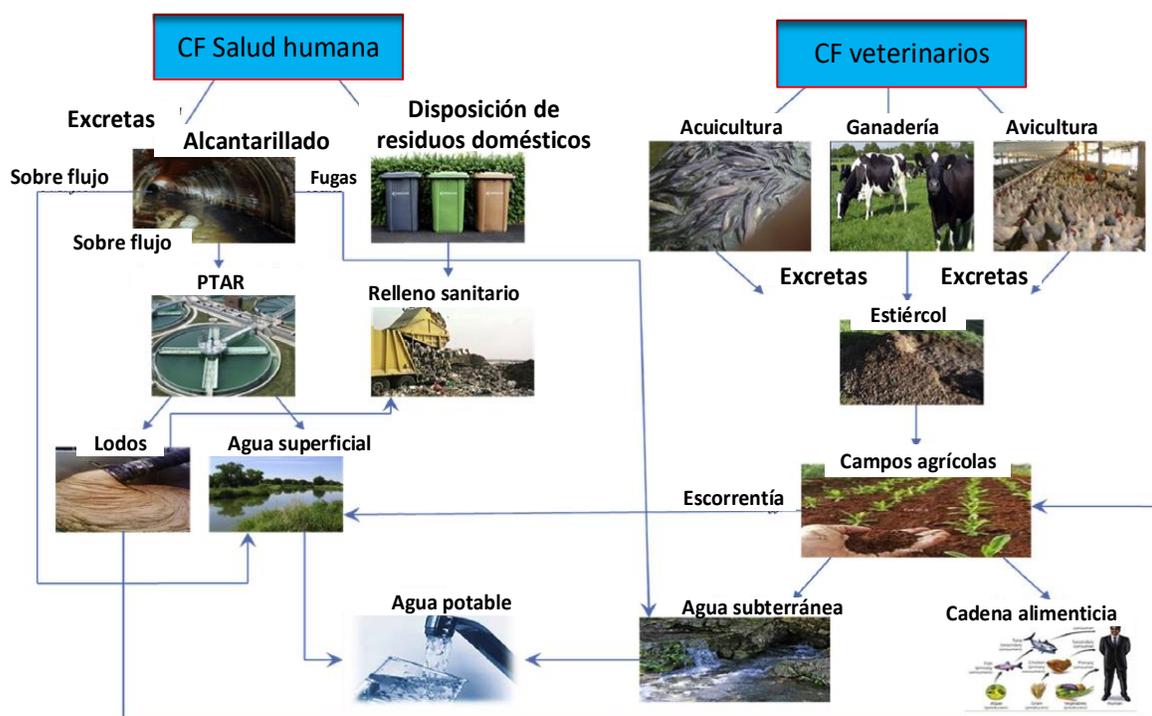
3000 sustancias diferentes se utilizan como CF, entre los que destacan: los beta-bloqueadores, tranquilizantes, reguladores de lípidos y antibióticos (Avisar et al., 2013). Por otra parte, los antibióticos, se emplean en cantidades similares a las de los pesticidas. Las primeras evidencias de la presencia de fármacos en el medio acuático se registraron en los años 70 con la identificación en aguas residuales en EEUU del ácido clofíbrico, que es el metabolito activo de varios reguladores de lípidos en sangre (clofibrato, etofilin clofibrato, y etofibrato). Entre los CF más prescritos en medicina humana destacan los analgésicos/antiinflamatorios como el ibuprofeno, el diclofenaco, el ketoprofeno y naproxeno los cuales se han detectado en lagos, ríos y efluentes de plantas de tratamiento en concentraciones de 5 a 3500 ng/L, los antiepilépticos como la carbamazepina, antibióticos como la amoxicilina, eritomicina, el sulfametoxazol, la ranitidina, la glibenclamida, el ácido clofíbrico, los  $\beta$ - bloqueadores como el metoprolol y algunas estatinas utilizadas para reducir los niveles del colesterol, además de encontrarse en ríos se han cuantificado en sedimentos (Ferreira da Silva., 2011). A éstos, cabe añadir los, cada vez más utilizados en veterinaria, en actividades como la acuicultura, la ganadería y la avicultura (Barceló y López, 2008).

Después de su uso, los CF se liberan al medio ambiente a través de diferentes rutas (**Figura 3**). Son liberados a través de múltiples fuentes, pero la contribución humana que incluye principalmente la excreción en orina y heces es considerada una de las principales fuentes de contaminación, y en cierta medida, la eliminación inadecuada del medicamento no utilizado (Fick et al., 2009). Después de su ingesta, estos compuestos farmacéuticamente activos se someten a procesos metabólicos en el organismo. Fracciones significativas del compuesto original se excretan en forma no metabolizada o como metabolitos (activos o inactivos) en sistemas de tratamiento de aguas residuales y aguas residuales sin tratar. Los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales se descargan a cuerpos de agua o se reutilizan para el riego, los biosólidos producidos se reutilizan en la agricultura o se desechan en vertederos (Ebele et al., 2017). Por lo tanto, la metabolización y excreción del cuerpo seguidas por el tratamiento de las aguas residuales es considerada la principal vía de los productos farmacéuticos hacia el medio ambiente (Ruhoya, y Daughton, 2008).

Otros orígenes son los residuos de plantas de fabricación farmacéutica, los residuos de hospitales, el uso de drogas ilícitas y el uso de drogas veterinarias (especialmente antibióticos y esteroides). Los productos veterinarios y agrícolas se liberan al medio ambiente a través de la excreción animal o durante la aplicación del estiércol en la tierra. El uso y posterior liberación de CF en el medio ambiente derivados del uso en animales son particularmente preocupantes, ya que aproximadamente el 80% de todos los antibióticos utilizados en los Estados

Unidos se destina a la agricultura / acuicultura. (Yang et al., 2014). La basura es otra fuente de entrada, pero se desconoce su importancia relativa con respecto a los niveles generales de productos farmacéuticos en el medio ambiente.

Los CF ingresan al agua subterránea mediante la lixiviación del suelo y por la escorrentía de la tierra tratada con biosólidos usados en la agricultura, representando una amenaza para el agua potable (Nikolaou et al., 2007). Una especial atención recibe el tema de los compuestos veterinarios, que se liberan cuando los desechos animales, ya sea en estado sólido o líquido, se esparcen en el campo agrícola como fertilizante, la escorrentía agrícola puede ingresar a los sistemas de agua dulce y lixiviar al agua subterránea (La Farré et al., 2008).



**Figura 3.** Fuentes de contaminación ambiental por uso de CF. Adaptado de Ebele et al., 2017

Tomando en cuenta las propiedades físico-químicas de los fármacos y sus metabolitos, los productos de degradación y las características de los suelos, estas sustancias pueden llegar a alcanzar las aguas subterráneas y contaminar los acuíferos o bien quedar retenidas en el suelo y acumularse consiguiendo afectar al ecosistema y a los humanos a través de la cadena trófica. (Focazio et al., 2008) Analgésicos/antiinflamatorios, antiepilépticos,  $\beta$ -bloqueantes,



reguladores de lípidos, medios de contraste en rayos X, anticonceptivos orales, esteroides y otros, como broncodilatadores, tranquilizantes. A pesar de que las concentraciones son generalmente muy bajas en el medioambiente (ng/L a µg/l), pueden inducir efectos tóxicos (Hernando et al., 2006; Gogoi et al., 2018).

Las tetraciclinas son el grupo de antibióticos que con más frecuencia se detecta en las aguas residuales. Estos fármacos se han encontrado en el afluente de algunas PTARs en los Estados Unidos en concentraciones de entre 0.1 y 0.6 mg/L. En Canadá, la concentración de tetraciclinas en el efluente de una PTAR se identificó en 1.0 mg/L. La eficiencia de eliminación de estos compuestos en las PTARs es de aproximadamente 68% (Castro et al., 2015). En China han reportado una cantidad considerable de ofloxacino, eritromicina, claritromicina, roxitromicina, sulfametoxazol y carbamazepina en el efluente de plantas de tratamiento (Lui et al., 2017).

El ácido clofíbrico se ha estudiado ampliamente debido a su presencia en efluentes de plantas de tratamiento y en agua subterránea, estudios en China y Europa detectaron reguladores de lípidos tales como benzofibrato, gemfibrozil y ácido clofíbrico. En Alemania, Italia Francia y Finlandia así como Estados Unidos se reportaron concentraciones de ácido clofíbrico entre 2.5 -734 ng L<sup>-1</sup> (Yang et al., 2017).

La carbamazepina y el diclofenaco son dos de los fármacos más frecuentemente detectados en efluentes de PTAR, agua superficial y agua subterránea, incluso se ha encontrado en agua potable. La carbamazepina (CBZ) es ampliamente prescrita para tratar varios desordenes psiquiátricos como la epilepsia, el consumo per cápita promedio mundial por año se estima en 15 g y en regiones industrializadas su consumo se encuentra entre los 50 g y 150 g (Zhang et al., 2008). Se estima que su frecuencia en el medio acuático (a menudo se encuentra en 1-2 µg L<sup>-1</sup>) está vinculado a su alta persistencia, continuo ingreso y al inadecuado tratamiento en las PTAR, la eficiencia de eliminación con los métodos convencionales es estima en 10% (Ghasemian et al., 2017). El diclofenaco (DCF) es un antiinflamatorio no esteroideo considerado el más utilizado en todo el mundo para el tratamiento del dolor e inflamación (32 toneladas/año consumidas en España). Las concentraciones promedio detectadas están en un rango de µg L<sup>-1</sup> en influentes y efluentes de PTAR municipales y aguas superficiales en Austria, Pakistán, Alemania y los Estados Unidos (Yu et al., 2013). Su toxicidad ha sido estudiada mostrando efectos adversos incluso a bajas concentraciones en hígado y riñones (Martínez et al., 2011). La ruta metabólica indica que el 1% de la dosis administrada se elimina como DCF, 11% como DCF conjugado y el resto como metabolitos (Vieno et al., 2014).



Dentro de los nuevos compuestos que se están estudiando se encuentra el metilfenidato o italin, actualmente ya se ha determinado la presencia de su metabolito principal el ácido ritalínico en concentraciones de 4- 23 ng L<sup>-1</sup> en cuerpos de agua en Alemania, además, se observó la presencia en efluentes de plantas de tratamiento con concentraciones de 50-170 ng L<sup>-1</sup>, lo cual corresponde a la carga per cápita de 17.7 µg d<sup>-1</sup> (Letzel et al., 2010).

Otros productos farmacéuticos que se están introduciendo en el entorno y se consideran dentro de los más abundantes es la metformina, debido a que se consume en altas dosis y se excreta sin alteración o parcialmente metabolizado (Markiewicz et al., 2017), se ha registrado en el efluente de los sistemas de las plantas de tratamiento en concentraciones de 1 µg L<sup>-1</sup> a 47 µg L<sup>-1</sup> y en aguas superficiales a concentraciones de 0.06 µg L<sup>-1</sup> a 3 µg /L (Blair et al., 2013; Oosterhuis et al., 2013).

Los clofibratos son otros fármacos que se han utilizado desde los años 60's como drogas antilipídicas, posteriormente fueron desarrollados el gemfibrozil, benzafibrato y fenofibrato. Los fibratos y sus derivados (clofibrato) son fármacos que se utilizan para el tratamiento de la hipertrigliceridemia, la prevención de arterosclerosis y para reducir los niveles de triglicéridos. En México, la hipertrigliceridemia es la dislipidemia más común y está asociada con la diabetes tipo 2 ya que el 74% de los casos tiene triglicéridos sanguíneos por arriba de 150 mg·L<sup>-1</sup>. Para prevenir y controlar esta enfermedad se utilizan los fármacos reguladores de lípidos, también son considerados como CE (Yunlong et al., 2014).

Estudios realizados en el Valle del Mezquital ubicado en Hidalgo, han revelado que el agua residual contiene CF y posibles disruptores endocrinos. Los fármacos como el ibuprofeno, naproxeno, y diclofenaco estaban en presencia constante, mientras otros como el gemfibrozil, el ácido clofíbrico y ketoprofeno se encontraban por debajo del límite de detección (Gibson et al., 2010). A su vez, otros estudios reportaron una acumulación de bisfenol-A, triclosan y carbamezapina en sedimentos tomados de diversos puntos a lo largo del Valle del Mezquital. El riego de los suelos con aguas residuales no tratadas en este Valle, realizado desde hace varias décadas da como resultado una acumulación de sulfametoxazol, ciprofloxacina, y carbamezapina, sin embargo, durante los últimos 19 a 28 años se alcanzó un límite superior reflejo de las condiciones entre la entrada y la disipación de los fármacos así como también por la emisión de las aguas residuales durante largos periodos de tiempo, reportándose concentraciones de ciproflaxina de 1.2 mg·kg<sup>-1</sup> en el suelo (Gutiérrez, 2015; Chávez et al., 2011).



### 3.3. Validación de métodos analíticos

De acuerdo con ISO 9000, la validación de un método se define como la confirmación a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para un uso o aplicación específico previsto. Por lo tanto, validar un método es básicamente el proceso para definir un requisito analítico, y la confirmación de que cuenta con capacidades consistentes con las aplicaciones requeridas (Eurolab, 2016). El trabajo de validación de un método puede también implicar el concepto de la adaptación de un método ya existente realizando cambios menores para adecuarlo a una nueva aplicación.

Para un método farmacéutico, lo que se valida generalmente son los siguientes conceptos: selectividad, límite de detección, límite de cuantificación, intervalo de trabajo (linealidad), veracidad (sesgo) y precisión (repetibilidad y precisión intermedia).

#### 3.3.1. Conceptos para validación de un método

a) **Blancos**. Permiten evaluar la señal del analito, se clasifican en:

Blancos de reactivo. Son los reactivos estándar que incluyen analitos y disolventes.

Blancos muestra. Son muestras sin presencia del analito de interés.

b) **Soluciones fortificadas**. Son soluciones donde el analito de interés ha sido agregado a una concentración conocida a una muestra, lo cual permite incrementar la respuesta del analito a determinar en la muestra.

c) **Selectividad analítica**. Se relaciona con “el grado en el que un método puede ser utilizado para determinar analitos particulares en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes de comportamiento similar” (Selectivity in analytical chemistry (IUPAC recommendations 2001), Pure Appl. Chem., 2001, 73(8), 1381).

d) **Límite de detección (LD)**. El objetivo de la determinación del límite de detección (LD) es, establecer la concentración más baja del analito presente en una muestra, que puede ser detectada utilizando un procedimiento de medida dado, con un nivel de confianza específico. Para fines de validación de un método se recomiendan de 6-15 réplicas para estimar la desviación estándar. Para el LD, se aplica la siguiente ecuación (Flores, 2017):

$$LD = St_{(n-1), 1-\alpha/\alpha=0.99}$$

Donde,



$t = t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)}$  = valor para la función de distribución de t de Student a 99% de confianza para n-1 grados de libertad,

S= desviación estándar de las réplicas,

n= número de réplicas.

Para obtener el límite de detección de un método, el LD debe basarse en el análisis de muestras que hayan sido sometidas a todo el proceso de medición obteniendo resultados calculados con la misma ecuación que para las muestras de ensayo. El dato más útil para la validación del método es el límite de detección.

e) **Límite de cuantificación (LC)**. Es establecido a una concentración que es mayor de tres veces el límite de detección o mediante la concentración en la curva de calibración a la cual la relación señal-ruido sea mayor de cinco o diez veces la desviación estándar usada para detectar el límite de detección (Flores, 2017)

$$LC=10(S)+x$$

Donde,

S= desviación estándar de las réplicas

x= promedio de las réplicas (soluciones fortificadas)

f) **Intervalo de trabajo (linealidad)**. Es el intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable. El extremo inferior del intervalo de trabajo está determinado por el límite de cuantificación (LC). El extremo superior del intervalo de trabajo está definido por las concentraciones a las cuales se observan anomalías significativas en la sensibilidad analítica. Cuando una muestra requiere ser procesada antes de la medición en el equipo, se tienen dos intervalos de trabajo: el intervalo de trabajo del método (dado en el alcance del método) y el intervalo de trabajo del instrumento que está definido en términos de la concentración de una solución estándar procesada.

g) **Exactitud**. Proximidad de un resultado a un valor de referencia, se expresa como sesgo. Para determinarla se utiliza el término de recuperación relativa en porcentaje:

$$\%R = \text{concentración promedio} / \text{concentración teórica} \times 100$$

h) **Precisión**. Es una medida de cuan cerca están los resultados entre sí, se expresa como la desviación estándar, calculada a partir de los resultados obtenidos mediante la realización de mediciones repetidas en un material adecuado en condiciones específicas.

$$CV = \text{desviación estándar} / \%R \times 100$$



i) **Robutez.** Un "ensayo de robustez" implica hacer cambios deliberados en el método, e investigar el efecto subsiguiente en el desempeño. Permite identificar variables que podrían tener un efecto significativo en el desempeño del método. Por ejemplo, la estabilidad de las soluciones estándares bajo diferentes condiciones (temperatura, preparación), o de las muestras.

### **3.3.2. Métodos de detección y cuantificación de compuestos emergentes**

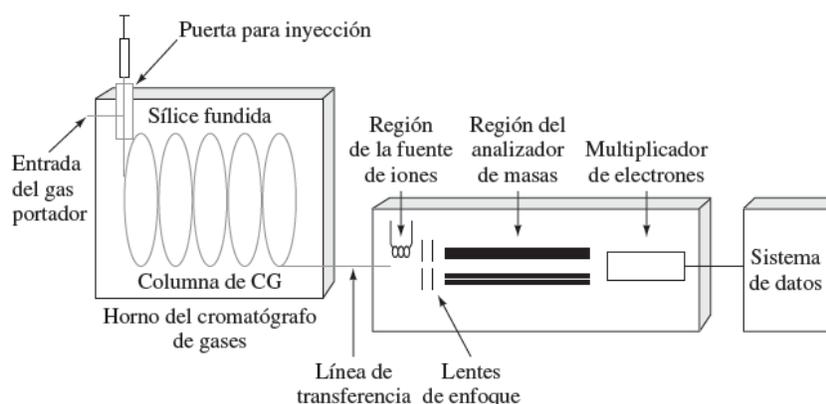
El rápido desarrollo de la instrumentación analítica muy sensible y automatizada en la última parte del siglo XX, ha significado que en el siglo XXI podamos ver un gran número de sustancias en el medio ambiente acuático que antes eran indetectables, a pesar de haber sido potencialmente presentes por muchos años (Taylor y Senac, 2014). El rápido desarrollo y la mejora de estos métodos durante los últimos años ofrece la oportunidad no sólo de determinar niveles trazas de contaminantes emergentes en muestras ambientales, sino también identificar y detectar sus productos de transformación. Esto es particularmente un paso importante hacia la protección de la calidad ambiental y la salud humana (Sharma, 2012).

Parámetros fisicoquímicos como el coeficiente de distribución octanol /agua ( $K_{ow}$ ), la constante de Henry y la constante de disociación permiten describir su equilibrio químico y dinámico, y proporcionan información sobre el procedimiento analítico ideal para su identificación (Jiménez, 2011). Para el análisis de fármacos se han empleado fundamentalmente la cromatografía de gases y de líquidos, pero la tendencia es emplear, tanto en una como en otra, la espectrometría de masas para poder diferenciar entre posibles isómeros (Tejada et al., 2014).

Los dos métodos más comunes para la cuantificación de fármacos en muestras ambientales acuosas son la cromatografía de gases acoplada a un detector selectivo de masas (GC/MS por sus siglas en inglés) y la cromatografía de líquidos con detector selectivo de masas (LC/MS por sus siglas en inglés). Se ha determinado que ambos sistemas LC/MS y GC/MS hay un efecto de matriz. Sin embargo, el sistema LC/MS es más susceptible a este tipo de interacciones. Otra ventaja de la CG/MS es que se puede hacer un análisis de varios compuestos al mismo tiempo en una sola muestra. En cambio, en la LC/MS, se requieren diferentes condiciones de análisis para cada compuesto, lo que eleva el costo, el número de muestras y el tiempo. Sin embargo, antes de la GC/MS, las técnicas de preparación de muestras deben ser cuidadosamente seleccionadas y optimizadas pues las bajas concentraciones de los fármacos y sus metabolitos pueden dificultar la detección de estos en las matrices ambientales de estudio (Campos et al., 2017).

### 3.3.2.1. Cromatografía de gases acoplada a un detector selectivo de masas

El equipo de GC/MS consta de un cromatógrafo de gases con un inyector, una columna capilar, una cámara de ionización y un analizador másico (Badillo, 2010). Una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica (Gutiérrez y Droguet, 2002), en este proceso la muestra se somete a una temperatura suficientemente elevada como para producir un vapor molecular (Cengage Learning Editores, 2008). El efluente (vapor molecular) de la columna cromatográfica del GC es ionizado y fragmentado por un bombardeo de electrones en la cámara de ionización (Badillo, 2010). Los electrones son emitidos por un filamento caliente de wolframio o de renio y se les acelera mediante la aplicación de alrededor de 70 V entre el filamento y el ánodo. Las trayectorias de los electrones y las moléculas son perpendiculares entre sí y se cruzan en el centro de la fuente, donde chocan y tiene lugar la ionización (Cengage Learning Editores, 2008). Los iones son acelerados y dirigidos hacia el analizador másico, en donde el analizador permite separar los fragmentos según su relación masa/carga ( $m/z$ ) (Badillo, 2010). Es decir, el producto principal son iones con una única carga positiva que se forman cuando los electrones de elevada energía se acercan lo suficiente a las moléculas para hacerles perder electrones por repulsión electrostática (Cengage Learning Editores, 2008). Posteriormente el detector transforma los iones separados en señales eléctricas, capaces de ser medidas e interpretadas por un software informático. Cada uno de estos compuestos se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas (Gutiérrez y Droguet, 2002). En la **Figura 4**, se muestra el esquema de un sistema de GC/MS.



**Figura 4.** Esquema de un sistema de GC/MS (Cengage Learning Editores, 2008).



La técnica de GC/MS es bastante sensible que puede alcanzar límites de detección de picogramos, sin embargo, en el caso de mezclas complejas, el cromatograma obtenido puede presentar muchos picos, algunos de ellos muy próximos, resultando difícil la identificación rápida y fiable de algún compuesto de interés (Gutiérrez y Droguet, 2002). Por lo cual, el modo de análisis puede ser un barrido total de iones (SCAN por sus siglas en inglés) o un monitoreo selectivo de iones (SIM por sus siglas en inglés). Sin embargo, existen otros análisis que complementan a estos dos, los cuales permiten confirmar al compuesto que se desea identificar.

**Barrido completo (SCAN):** El primer cuadrupolo hace un barrido completo y registra los espectros de masa de cada uno de los analitos que emergen de la columna GC, se ionizan y se fragmentan en iones moleculares y sus diferentes iones-producto. Los otros cuadrupolos solo operan en modo de transmisión de iones (Stashenko y Martínez, 2010). Este análisis muestra un Cromatograma Iónico Total (TIC siglas en inglés) (Gutiérrez y Droguet, 2002).

**Ion seleccionado (SIM: Selected Ion Monitoring).** Una vez obtenido el análisis SCAN, se selecciona un ion característico ( $m/z$ ) del compuesto, la recomendación es seleccionar un ion que presente peso molecular similar al compuesto para poder realizar los diversos análisis que permiten verificar que la procedencia de ion efectivamente es del compuesto. El primer cuadrupolo deja pasar un ion o iones seleccionados ( $m/z$ ), característicos del compuesto que se busca, los otros dos cuadrupolos solo transmiten estos iones filtrados por el primer cuadrupolo.

**Ion producto (Product ion scan).** Consiste en la selección de un ion precursor (ion-padre) en el primer cuadrupolo, que opera en modo de ion seleccionado, SIM (solo filtrando iones de interés). El ion-padre seleccionado por el primer cuadrupolo se dirige a la celda de colisión, el segundo cuadrupolo opera con radiofrecuencia aplicada que permite transmitir los iones desde el primer cuadrupolo al tercer cuadrupolo. El gas de colisión, suministrado a la celda (generalmente, He, Ar o  $N_2$ ), por medio de choques con los iones seleccionados en el primer cuadrupolo les proporciona la energía adicional (proceso de excitación de iones); un potencial aplicado en el segundo cuadrupolo permite acelerar los iones y convertir parte de su energía cinética en la energía interna adicional (rotacional, vibracional y electrónica). El incremento de la energía interna de los iones, verbigracia, su “activación”, conduce a su disociación y a la formación de diversos iones-fragmento (iones-producto), que se dirigen luego al segundo analizador. En este analizador, se hace el barrido (scan) de los componentes U y V de las corrientes directa y alterna, en el rango de masas ( $m/z$ ) menores que la masa del ion-padre seleccionado ( $m/z$ )

**Ion precursor (Parent ion scan).** Permite encontrar en un espectro de masas a todos aquellos iones (precursores) que pueden generar un ion-fragmento (ion-



producto) dado. En este caso, el primer cuadrupolo opera en el modo de barrido completo (scan) desde la masa superior a la del ion-producto seleccionado, mientras que el tercer cuadrupolo trabaja en monitoreo del ion seleccionado (SIM). Este ion seleccionado es el ion-producto, cuyos precursores precisamente se buscan. Estos iones, atraviesan la celda de colisión activada, donde se fragmentan, generando, entre otros, los iones-producto de interés, que se filtran luego por el triple cuadrupolo operado en el modo SIM.

**Pérdida de carga neutra.** El primer cuadrupolo opera en modo scan dejando pasar los iones a la celda de colisión activada, donde éstos se “activan” y se fragmentan; los iones-producto se analizan en el segundo cuadrupolo, también operado en modo full scan, pero los barridos en el primer cuadrupolo y segundo cuadrupolo se hacen de forma enlazada, de tal manera que mientras el primer analizador deja pasar los iones con masas  $m_0$ , el segundo analizador hace el barrido de fragmentos con masas  $(m_0 - \Delta m)$ . Como resultado final, se registran todos los iones que se disocian con la pérdida de un fragmento neutro ( $\Delta m$ ) de masa predeterminada.

**Monitoreo de reacción múltiple (Multiple reaction monitoring).** Registran las reacciones de transición entre los pares de iones (precursor y producto). En el primer cuadrupolo se filtran iones precursores seleccionados F1 (operación en modo SIM), mientras que en el segundo cuadrupolo se dejan pasar solo iones-producto F2 de la transición o reacción de disociación  $F1 \rightarrow F2$ . Ambos iones, F1 y F2, deben ser estables y, por lo general, abundantes en el espectro de masas del analito. El monitoreo de la reacción de transición de iones precursor e hijo (ion-producto), anula casi completamente la probabilidad de coincidencias de señales del analito con los del fondo. Típicamente, el registro de dos transiciones independientes, junto con la retención cromatográfica (tR), permiten confirmar inequívocamente la ocurrencia de un analito-target en una mezcla compleja.

### 3.3.2.2. Extracción en fase sólida

La baja concentración de los compuestos farmacéuticos y de sus metabolitos en las muestras ambientales dificulta su detección. Por esta razón, la extracción en fase sólida (EFS) es una de las técnicas más usadas para efectuar una preconcentración de contaminantes en muestras ambientales. En ella tiene lugar la distribución de los analitos entre un material adsorbente o absorbente sólido, y la fase líquida donde están disueltos. Los analitos quedan retenidos en el material, del cual son eluidos, tras una etapa de lavado, con un volumen relativamente pequeño de un disolvente adecuado (Ruano, 2009). Las ventajas de la EFS son:

- Elevado factor de preconcentración de los analitos.
- Fácil automatización.



- Bajo consumo de disolventes orgánicos.

Una desventaja que presenta el método de EFS es que se requiere de grandes volúmenes de muestra, los cuales deben ser filtrados para evitar la saturación del cartucho o membrana utilizados en esta técnica. La filtración consume tiempo, especialmente en el caso en que la muestra contenga altos niveles de partículas suspendidas (Badillo, 2010).

El material adsorbente o absorbente sólido se denomina cartucho, el cual es un polímero constituido por sílica o resina orgánica.

En la **Tabla 2** se muestran ejemplos de cartuchos aplicados a compuestos orgánicos.

**Tabla 2.** Ejemplos de cartuchos aplicados para la extracción en fase sólida (EFS) de acuerdo con tipos de compuestos en matrices acuosas.

Tipo de cartucho	Compuestos	pH
Oasis MXC®	Compuestos orgánicos polares Omeprazol	1.5 – 3.0 7.0 – 7.5
Licholt EN®	Compuestos orgánicos polares	3.0-9.0
Bakerbond C18®	Amoxicilina	8.0-9.0
Oasis HLB®	Omeprazol Amoxicilina	7.0 8.5-9.0

Fuente: Modificado de Ortega, 2017.

### 3.3.2.3. Derivatización

La etapa de derivatización consiste en hacer reaccionar las especies polares con un agente químico que transforme al analito en un compuesto menos polar. Las reacciones de derivatización se han empleado durante años, aunque han ido evolucionando los reactivos derivatizantes, haciéndolos más específicos (Pindado et al., 2006). La naturaleza química, así como la reactividad de los analitos, van a fijar el tipo de derivatización que se ha de llevar a cabo.

Las ventajas importantes de la derivatización:

- Mejoran la separación y detectabilidad de los analitos.
- Aumenta la volatilidad y disminuye la polaridad de compuestos polares
- Mejora la estabilidad térmica de los analitos.

Las principales reacciones de derivatización se muestran en la **Tabla 3**.

**Tabla 3.** Principales reacciones de derivatización.

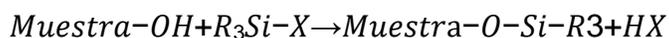
Reacción de derivatización	Definición	Ventajas	Reactivos
<b>Sililación</b>	Un hidrógeno activo es reemplazado por grupo alquilsilil como por ejemplo el trimetilsilil (TMS) o el t-butildimetilsilil (t-BDMS). Estos agentes derivatizantes son capaces de derivatizar grupos –OH, de ácidos y alcoholes.	Capacidad para silanizar un amplio número de compuestos.  Gran número de reactivos disponibles  Facilidad para prepararlos	BSA (N,O-bis (trimetilsilil) Acetamida) -BSTFA (N,O-bis (Trimetilsilil) Trifluoroacetamida) -HMDS (Hexametildisilazano) -MSTFA (N-Metil-N-(Trimetilsilil) Trifluoroacetamida) -TMCS (Clorotrimetilsilano) -TMSDEA (N-(Trimetilsilil) Dietilamina) -TSIM (N-(Trimetilsilil) Imidazol)
Metilación (alquilación)	Reemplaza los hidrógenos activos por grupos alquilo. Modifica compuestos con algún hidrógeno ácido, (ácidos carboxílicos y fenoles). Finalmente se generan ésteres, éteres, alquil aminas y alquil amidas.	Disponibilidad de reactivos Condiciones de reacción muy amplias (medios muy ácidos a medios muy básicos) Algunas de las reacciones pueden realizarse en medios acuosos Derivados muy estables.	-DMF (Dialquilacetales) -TBH (Hidróxido de tetrabutilamonio) -BF <sub>3</sub> en metanol / butanol -PFBBr (Pentafluorobencil de Bromo)
<b>Acilación</b>	Reduce la polaridad de los grupos amino, hidroxilo, tioles y adiciona funcionalidades halogenadas	Aumento de la señal en un detector de captura electrónica Estabilidad en medio acuoso Incremento en la sensibilidad al aumentar el peso molecular	-Anhídridos fluorados: - TFAA (Anhídrido trifluoroacético) - PFPA (Anhídrido pentafluoropropionico) - HFBA (Anhídrido heptafluorobutírico) -Fluoro acil imidazoles: - TFAI (Trifluoroacetil imidazol) - PFPI (Pentafluoroacetil imidazol) - HFBI (Heptafluorobutil imidazol) -MBTFA (N-metilbis(trifluoroacetamida)) -PFBCl (Pentafluorobencil cloruro) -PFPOH (Pentafluoropropanol)

Fuente: Modificado de Pindado et al., 2006.



De las reacciones de derivatización que se mencionan en la tabla anterior, la reacción de

sililación es la más aplicada para los compuestos farmacéuticos. La reacción general se muestra en la siguiente ecuación:



La ecuación anterior implica un ataque nucleofilo sobre el átomo de silicio del donante de sililo, produciendo un estado de transición molecular.

Los factores para considerar de la derivatización mediante sililación son:

- Los derivados del sililo son sensibles a la humedad. La humedad descompondrá tanto los reactivos trimetilsilil como los derivados. El uso de un exceso de reactivo de derivatización y disolvente puede ayudar a minimizar los problemas de interferencia de humedad u otras impurezas de la muestra. El agua reacciona con el reactivo y se elimina químicamente de la reacción. Los disolventes adecuados pueden no contener átomos de hidrógeno activos.

La sililación requiere calentamiento.

- El tiempo de derivatización varía en función del compuesto a derivatizar. Compuestos con baja solubilidad requieren calentamiento para derivatizarse. Alcoholes primarios sin impedimentos estéricos se derivatizan a temperatura ambiente inmediatamente.
- El reactivo de sililo a menudo sirve como disolvente. Los disolventes orgánicos no polares, como el hexano, el éter, el benceno y el tolueno son excelentes disolventes para el reactivo, ya que sus subproductos de reacción no aceleran la velocidad de reacción.
- Los derivados de sililo tienen la propiedad indeseable de los detectores de ionización de llama incrustante con depósitos de sílice, especialmente cuando las muestras se inyectan en exceso de reactivo. Estos depósitos se reducen mediante el uso de reactivos que contienen flúor, como BSTFA.
- Use un revestimiento de puerto de inyección de vidrio o inyección directa en la columna cuando trabaje con reactivos de sililación.
- Los derivados de TMS y los reactivos de sililación reaccionan y son sensibles a los átomos de hidrógeno activos. Deben evitarse las fases estacionarias que contienen estos grupos funcionales. Las fases basadas en siloxano son las más útiles para los derivados de TMS: combinan la inercia y la estabilidad con excelentes características de separación para estos derivados.



- Pueden surgir múltiples picos debido a las condiciones de derivación empleadas. Para eliminarlos, el método de sililación debe ser optimizado. Los factores para considerar en la optimización serían solventes, reactivo de derivatización, catalizador, temperatura y tiempo de reacción. Los aldehídos y las cetonas pueden formar picos. Usar un exceso de un reactivo o sustituir otro reactivo de sililo puede reducirlos. Múltiples picos pueden indicar que la reacción de sililo no se completó.

Los derivatizantes más usados son el MSTFA (N-Metil-N-(Trimetilsilil)Trifluoroacetamida) y el BSTFA (N,O-bis (Trimetilsilil) Trifluoroacetamida).

### **3.4. Procesos de oxidación avanzada**

Tradicionalmente se consideraban el uso de tratamientos terciarios como proceso de afino para sustraer contaminantes que no podían eliminarse en las fases de tratamiento anterior. Además, los tratamientos terciarios a utilizar dependían mucho del uso posterior del agua ya depurada. Sin embargo, en la actualidad los tratamientos terciarios se han generalizado y en el caso de las aguas industriales, muchas veces es el único que se realiza para eliminar contaminantes específicos. Los sistemas de tratamiento terciario actuales usados en las plantas de tratamiento de agua residual incluyen microfiltración, ultrafiltración, osmosis inversa, adsorción en carbón activado y filtros de arena. Sin embargo, ninguno de esos métodos es suficientemente eficaz para producir agua con niveles aceptables de contaminantes orgánicos persistentes (COP). Una etapa de tratamiento adicional es necesaria para conseguir este objetivo. Esta etapa puede implicar la aplicación de procesos de oxidación avanzada (POA) que proporciona una opción de tratamiento debido a la oxidación y atenuación viable y efectiva de una amplia gama de productos químicos orgánicos en cantidades trazas que se encuentran presentes en agua (Miklos et al, 2018).

Los POA constituyen una tecnología prometedora para la eliminación de PFCP; se recomiendan cuando los contaminantes tienen una alta estabilidad química y/o baja biodegradabilidad (Poyatos et al., 2010). Son métodos capaces de mineralizar productos químicos orgánicos y transformarlos en CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y sales inorgánicas e incluso inactivar bacterias. El nivel de mineralización generalmente se expresa mediante la disminución de la cantidad de carbono orgánico total (COT). Una mineralización completa implica un 100% de eliminación de COT (Canle et al., 2017).

Estas tecnologías se basan en procesos fisicoquímicos capaces de producir cambios profundos en la estructura química de los contaminantes, su principio



básico consiste en la generación in situ de oxidantes fuertes como son los radicales HO•, principalmente pero no exclusivamente (Comninellis et al., 2008). Generando a su vez otras especies reactivas de oxígeno (ROS), que son altamente oxidantes y no selectivas (Martínez et al., 2011), las cuales incluyen los radicales sulfatos y las especies cloradas (Miklos et al, 2018).

El radical puede ser generado por varios medios y es comúnmente acelerado por la utilización de reactivos químicos como ozono (O<sub>3</sub>), peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) y radiación UV (Huerta, 2015), todos ellos producen radicales HO• (ecuación 1). Estos radicales son muy reactivos, atacan la mayoría de las moléculas orgánicas y no son selectivos (Poyatos et al., 2010). La siguiente reacción nos muestra de forma general.



En la **Tabla 4** se muestran los agentes oxidantes más conocidos.

**Tabla 4.** Potencial redox de algunas especies oxidantes  
(Brillas et al., 2009., Metcalf y eddy, 2003)

Oxidante	Reacción de reducción	Potencial (E° / V vs. SHE)
Iúor (F <sub>2</sub> )	$\text{F}_{2(\text{g})} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{HF}$	3.05
	$\text{F}_{2(\text{g})} + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{F}^-$	2.87
Radical hidroxilo (OH•)	$\text{HO}\bullet + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	2.80
Radical sulfato (SO <sub>4</sub> • <sup>-</sup> )	$\text{SO}_4^{\bullet-} + \text{e}^- \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$	2.60
Ion ferrato (O <sub>2</sub> )	$\text{FeO}_4^{2-} + 8\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightarrow \text{Fe}^{3+} + 4\text{H}_2\text{O}$	2.20
Ozono (O <sub>3</sub> )	$\text{O}_{3(\text{g})} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{O}_{2(\text{g})} + \text{H}_2\text{O}$	2.075
Ion peroxodisulfato (S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> <sup>2-</sup> )	$\text{S}_2\text{O}_8^{2-} + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{SO}_4^{2-}$	2.05
Peróxido de hidrógeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1.763
Ion permanganato (I)	$\text{MnO}_4^- + 4\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightarrow \text{MnO}_{2(\text{s})} + 2\text{H}_2\text{O}$	1.67
Ion hidroperoxil (I)	$\text{HO}_2\bullet + 3\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1.65
Ion permanganato (II)	$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightarrow \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$	1.51
Ion hidroperoxil (II)	$\text{HO}_2\bullet + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	1.44
Ion dicromato	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$	1.36
Cloro	$\text{Cl}_{2(\text{g})} + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cl}^-$	1.358
Oxígeno	$\text{O}_{2(\text{g})} + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1.229
Bromo	$\text{Br}_{2(\text{l})} + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{Br}^-$	1.065

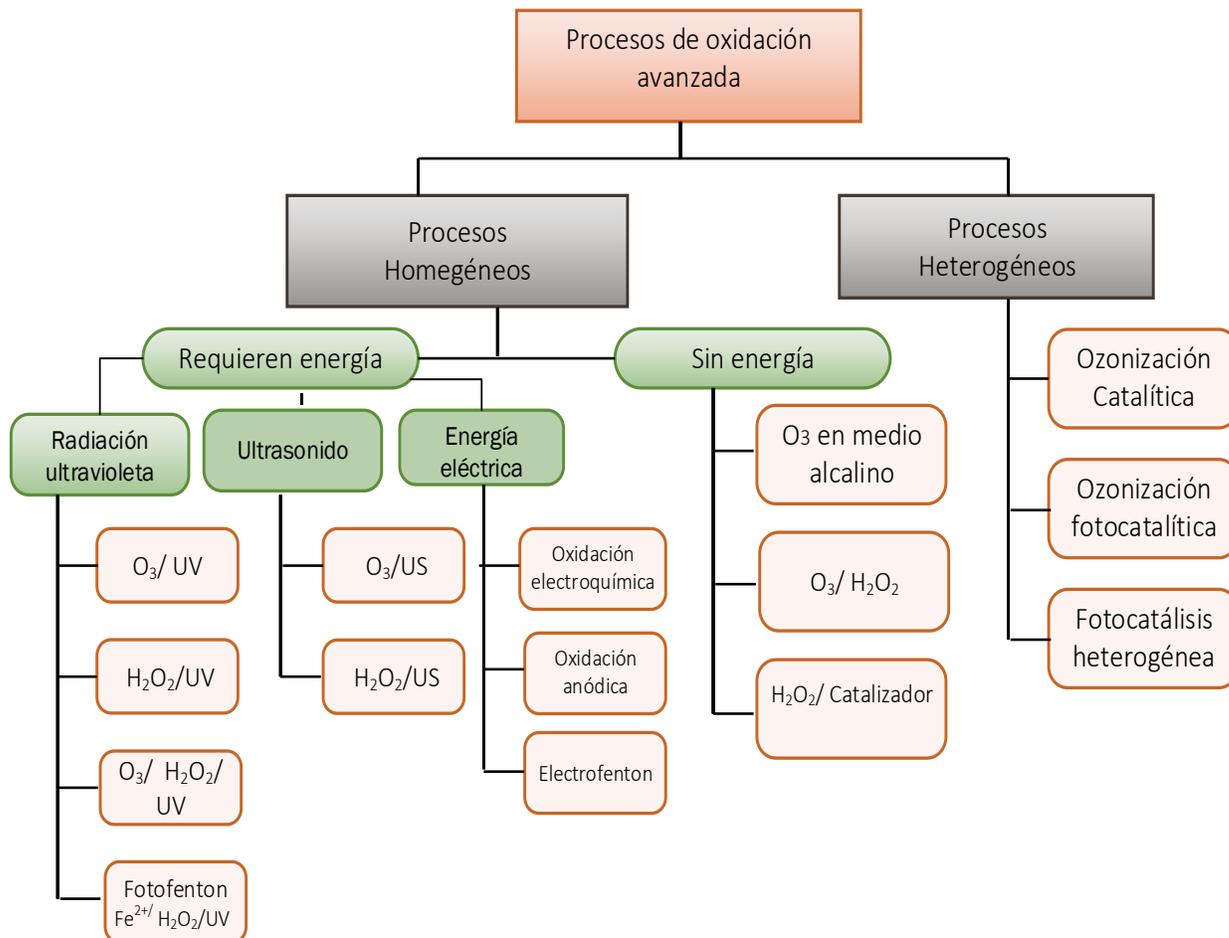


Después del flúor el radical HO<sup>•</sup> presenta un poder de oxidación muy alto presentando una velocidad de reacción de  $10^6 - 10^{12}$ , más rápida que otros oxidantes alternativos como el O<sub>3</sub>.

Todos los POA comprenden dos pasos, la formación in situ de especies oxidativas y la reacción de las estas especies con los contaminantes objetivo. Los mecanismos de la formación de los radicales dependen de los parámetros específicos del proceso y se ve afectada por el diseño del sistema y la calidad del agua.

Varios autores clasifican a los POA en dos bloques: procesos homogéneos y heterogéneos tomando en cuenta el sistema generador de radicales HO<sup>•</sup> (Miklos et al., 2018; Bin et al., 2012; Poyatos et al., 2010). Dentro de esta clasificación encontramos los que incluyen fotocátalisis homogénea y heterogénea basados en radiación ultravioleta (UV) o visible, electrólisis, ozonización, reactivo de Fenton, ultrasonido (US), procesos electroquímicos y de oxidación en aire húmedo (Dewil et al., 2017), mientras que es menos convencional (y por lo tanto menos estudiada) pero que va evolucionando aquellos procesos fotocatalíticos que incluyen  $\gamma$ -radiación, microondas, plasma pulsado y feroreactivo. Aunque el tratamiento aguas residuales es el área más común de trabajo, los POA también han encontrado aplicaciones diversas como el tratamiento de aguas subterráneas, la remediación de suelos, el acondicionamiento de las aguas residuales municipales, la producción de agua ultrapura, tratamiento de compuestos orgánicos volátiles y control de olores (Comninellis et al., 2008).

En la **Figura 5** se muestra una clasificación de los POA tomado en cuenta la fase de trabajo empleada en la degradación de contaminantes. Los procesos heterogéneos presentan la ventaja de una fácil separación de los productos del medio de reacción, posee la limitación de la transferencia de materia inherente a los sistemas con más de una fase, problema que no existe en el caso de los procesos homogéneos. Una de sus principales ventajas en comparación con las tecnologías convencionales es que degradan de manera efectiva los componentes recalcitrantes sin generar una corriente de desechos secundaria como es el caso de los procesos de membrana. Además, en la mayoría de los casos, la formación de especies peligrosas en el efluente es limitada. Este es un beneficio específicamente importante sobre las tecnologías competidoras, como por ejemplo la oxidación con cloro de compuestos orgánicos, durante el cual se forma especies organocloradas (Pablos et al., 2013).



**Figura 5.** Clasificación de los procesos de oxidación avanzada. Adaptado de Poyatos et al (2010).

Los POA presentan limitaciones y ventajas, en la siguiente tabla se presentan de forma general, muchos autores coinciden en las que se enlistan a continuación (**Tabla 5**):



**Tabla 5.** Algunas ventajas y desventajas de los POA (Metcalf y Eddy., Zaragoza, 2018., Chong et al., 2010).

<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<p>Generación in situ de especies transitorias altamente reactivas (<math>\text{OH}^\bullet</math>, <math>\text{O}_3</math>, <math>\text{H}_2\text{O}_2</math>) y poco selectivo para degradar materia orgánica.</p> <p>Transforma químicamente los contaminantes y no solo lo cambia de fase o los concentra como en la coagulación o adsorción.</p> <p>Eficientes para degradar contaminantes en concentraciones bajas y no hay generación de lodos.</p> <p>Eficientes en la degradación de compuestos orgánicos refractarios, que otro método como el biológico resiste su degradación</p> <p>Eliminación de la toxicidad a causa de desinfectantes y oxidantes residuales como el cloro.</p> <p>Mineralización de compuestos orgánicos, patógenos del agua y subproductos de desinfección.</p>	<p>Se requieren pruebas piloto para evaluar su factibilidad técnica.</p> <p>Los costos operacionales son elevados cuando se utilizan reactivos como el <math>\text{H}_2\text{O}_2</math> y <math>\text{O}_3</math>.</p> <p>Altas concentraciones de carbonatos y bicarbonatos pueden reaccionar con los radicales <math>\text{OH}^\bullet</math> reduciendo la eficiencia del proceso.</p> <p>El material suspendido, pH la materia orgánica puede afectar la eficiencia del tratamiento.</p> <p>La vida media de los radicales <math>\text{OH}^\bullet</math> es de corto tiempo (nanosegundos).</p> <p>No son económicamente viables para efluentes con DQO superior a 5 g/L.</p>

### 3.4.1. POA utilizados en la degradación de los CF

#### 3.4.1.1. Fenton

En 1876, el trabajo pionero de Fenton señaló el posible uso de una mezcla de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{Fe}^{2+}$  para destruir el ácido tartárico, esta reacción de oxidación es conocida como “proceso Fenton”, pero no fue hasta 1930, cuando Haber y Weiss sugirieron un mecanismo radical para la descomposición catalítica del  $\text{H}_2\text{O}_2$  por las sales de hierro. Por esta razón, la reacción también es conocida como Haber-Weiss (Brillas et al., 2009). Desde entonces, es ampliamente usada y estudiada.

El proceso Fenton se basa en la combinación de peróxido de hidrogeno y  $\text{Fe}^{2+}$  (o  $\text{Fe}^{3+}$ ) que actúa como catalizador, para la formación de radicales  $\text{HO}^\bullet$ . Esta reacción puede tener variaciones, como el uso de radiación UV, proceso que es llamado foto-Fenton que en comparación con el método Fenton convencional o la

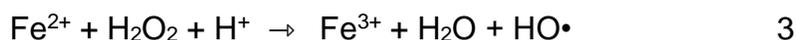


fotólisis UV puede tener una mayor eficiencia en la degradación de contaminantes orgánicos, este incremento en la velocidad de reacción es atribuido principalmente a la fotoreducción de los iones ferrosos (González et al. 2011).

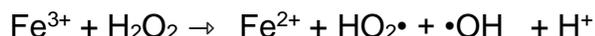
El mecanismo del proceso de Fenton se inicia generalmente con la formación de un radical hidroxilo de acuerdo con la reacción clásica de Fenton (reacción 2).



Como esta reacción tiene lugar en un medio ácido (reacción ), puede escribirse como:



La generación de HO• en el proceso de Fenton se confirman utilizando pruebas químicas y técnicas denominadas “atrapamiento de espín” (spin trapping), en conjunto con la espectroscopia de Resonancia de Espín Electrónico (REE) han permitido la detección de estas especies (Barriga, 2011). La técnica se vuelve operativa si la solución contaminada está a un pH óptimo de 2.8-3.0, donde se propaga por el comportamiento catalítico de la pareja Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> y con solo una pequeña cantidad catalítica de Fe<sup>2+</sup>, la participación del ion ferroso Fe<sup>2+</sup> en la reacción es catalítica, debido a que la especie oxidada Fe<sup>3+</sup> reaccionará nuevamente con el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generando a su vez radicales hidroperoxilo (HO<sub>2</sub>•), de menor poder oxidante (E = 1.76 V). En el proceso regresaría a su forma reducida, para dar comienzo de nuevo a la reacción anterior (Bautista et al., 2008).



Sin embargo, en la práctica los iones Fe<sup>3+</sup> formados en la reacción [I], mucho más rápidamente que la reacción [II], se acumulan progresivamente en solución acuosa hasta alcanzar su producto de solubilidad, dando lugar a la aparición de precipitados de hidróxido férrico Fe(OH)<sub>3</sub> de un característico tono pardo-rojizo y aspecto coloidal (Sánchez, 2015).

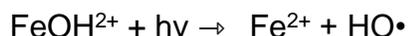
### 3.4.1.2. Foto-Fenton

Otra modificación de proceso Fenton se basa en utilizar energía luminosa para lograr la fotorreducción del Fe<sup>3+</sup> generado como resultado de la producción de radicales •OH, estudios pioneros demostraron que el ión [Fe(OH)]<sup>2+</sup>, la forma preeminente de la especie de hierro (III) a pH 2.8-3.5, juega un papel importante cuando el proceso Fenton realizado en la oscuridad es asistido por radiación UV. Este procedimiento puede utilizar como fuente de energía de luz UVA (λ) 315-400 nm, UVB (λ) 285-315 nm y UVC (λ <285 nm), pero se debe de considerar que la



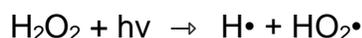
intensidad y la longitud de onda de la radiación tienen una influencia significativa en la tasa de destrucción de contaminantes orgánicos.

La acción de los fotones en el proceso de foto-Fenton es compleja. Al igual que el proceso Fenton convencional los  $\bullet\text{OH}$  se producen a partir de la reacción de Fenton. Como en el proceso Fenton convencional, el pH óptimo del proceso foto-Fenton se sitúa en el rango comprendido entre 2 y 4. En este rango de pH la especie de hierro (III) predominante en solución acuosa es el catión  $\text{FeOH}^{2+}$  que presenta una banda de absorción entre los 200 y los 410 nm (entre el UV medio y el visible). En presencia de radiación UV, el catión  $[\text{Fe}(\text{OH})]^{2+}$  da lugar a la generación de  $\bullet\text{OH}$  (reacción XX), la desventaja es la gran acumulación de especies de hierro (III) que desaceleran el tratamiento, sin embargo se puede evitar a partir de la fotólisis reductiva del  $[\text{FeOH}]^{2+}$ , regenerando de esta forma el  $\text{Fe}^{2+}$  y catalizando la reacción 1 para producir más cantidad de  $\text{HO}\bullet$ .



El rendimiento cuántico máximo de la reacción anterior se obtiene en torno a los 313 nm, en la región UV-C, lo que condiciona la selección de las lámparas UV empleadas en los procesos foto-Fenton.

La fotólisis del  $\text{H}_2\text{O}_2$  de las siguientes reacciones también puede ocurrir si se utilizan lámparas de arco Xe/Hg o lámparas de Hg de baja presión en la región UVC, con 90% a 253.7 nm y 10% a 184.9 nm. Estas dos radiaciones son útiles para aplicaciones de POA debido a que se encuentran dentro de los espectros de absorción de muchos contaminantes (Brillas et al., 2009).



### 3.4.1.3. Sonoelectroquímica

La sonólisis se basa en el efecto producido por la propagación de ultrasonido con frecuencias entre 20 kHz y 2 MHz. En este rango de frecuencia se produce una cavitación acústica que se produce cuando un campo de ultrasonidos se propaga, generando pequeñas burbujas (Rosales et al., 2019) que se expanden en el campo ultrasónico hasta que colapsan en un tamaño crítico. Al colapsar, se producen puntos calientes con temperaturas de hasta 5000 K y presiones de aproximadamente 1000 bar. En estas condiciones extremas, el enlace homolítico presente en la molécula del agua conduce a la generación de radicales hidroxilo y átomos de hidrógeno (reacción 1).

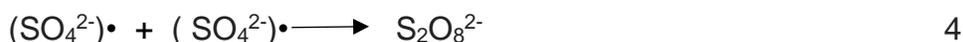




La formación electroquímica de radicales hidroxilos tiene lugar en la superficie del electrodo (ánodo) mediante una transferencia de electrones (reacción 2) y se asocia con la formación de peróxido de hidrógeno, ozono y oxígeno, como reacciones secundarias.



Otros oxidantes, como los peroxicompuestos o el cloro, podrían producirse a partir de los electrolitos utilizados, mediante la oxidación directa en el ánodo y/o procesos de recombinación, por ejemplo, la formación de un radical sulfato del anión sulfato (reacción 3) y una recombinación adicional a los oxidantes estables, como los peroxisulfatos (reacción 4).



Por otra parte, la formación de peróxido de hidrógeno se genera por la reducción catódica del oxígeno, en un potencial bajo de aproximadamente 0.7 vs. SHE (reacción 5), aumentando con esta formación la concentración del oxidante en el sistema.



Las especies oxidativas que son producidas por procesos sonoquímicos y electroquímicos oxidan los contaminantes orgánicos. Al combinar la irradiación ultrasónica y la oxidación electroquímica, se genera efectos sinérgicos tanto físicos como químicos. Los efectos físicos de los ultrasonidos, como son la transmisión y las ondas de choque contribuyen a aumentar la transferencia de masa, reduce la pasivación de los electrodos y minimiza la acumulación de burbujas de gas en los electrodos. Mientras que los efectos electroquímicos activan las reacciones (Finkbeiner et al., 2015).

#### **3.4.1.4. Oxidación anódica o electrooxidación**

Es uno de los POA más utilizado en el tratamiento de aguas residuales. La idea básica de estos procesos es la oxidación total (mineralización) o parcial (conversión de la materia orgánica a compuestos más sencillo más fácilmente degradables y menos contaminantes) de la materia orgánica utilizando la corriente eléctrica. Fundamentalmente, los métodos electroquímicos están constituidos por dos medios diferentes: el primero ocurre en el ánodo, en donde la oxidación se produce en la superficie del electrodo (electrólisis directa), y el segundo, cuando la oxidación se produce continuamente en la solución a través del mediador en la superficie anódica (electrólisis indirecta). En el primer caso, el contaminante se



oxida directamente mediante una reacción de transferencia de carga. En cambio, OA indirecta el contaminante se oxida gracias a la acción de especies oxidantes formadas durante la oxidación del agua en el ánodo (M) dando lugar a radicales hidroxilos fisiadsorbidos y protones (reacción 6).

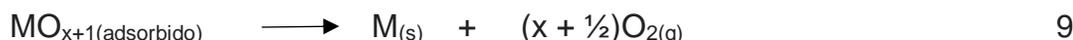


En la electrólisis directa, la velocidad de oxidación depende de la actividad del electrodo, la velocidad de difusión de los contaminantes y de la densidad de corriente. Por el otro lado, la temperatura, el pH y la velocidad de difusión de los oxidantes generados determinan la velocidad de oxidación en la electrólisis indirecta (Brillas, 2009). En esta última, es una práctica común adicionar sales como el NaCl o el KCl a las aguas residuales para mejorar su conductividad y para generar iones hipoclorito beneficiosos para la degradación.

El ánodo puede ser de diferentes materiales y su naturaleza condiciona en gran medida la eficiencia del proceso. Los electrodos se pueden englobar en dos grandes grupos. activos y no activos. Los electrodos activos, cuando el potencial anódico sobrepasa la formación del O<sub>2</sub> (E°=1.23 V), reacciones con los radicales •OH fisiadsorbidos (reacción 7), M(•OH), dando lugar a superóxidos quimiadsorbidos. Estos superóxidos poseen menor poder oxidante, lo que da lugar a que el contaminante inicial se degrade sólo hasta ácidos carboxílicos de cadena corta. Un ejemplo de electrodos activos son el Pt, RuO<sub>2</sub> o IrO<sub>2</sub> (Blanco, 2012).



Por otra parte, los superóxidos formados por su parte se consumen oxidando al contaminante (8) o descomponiéndose para formar O<sub>2</sub> (9) según:

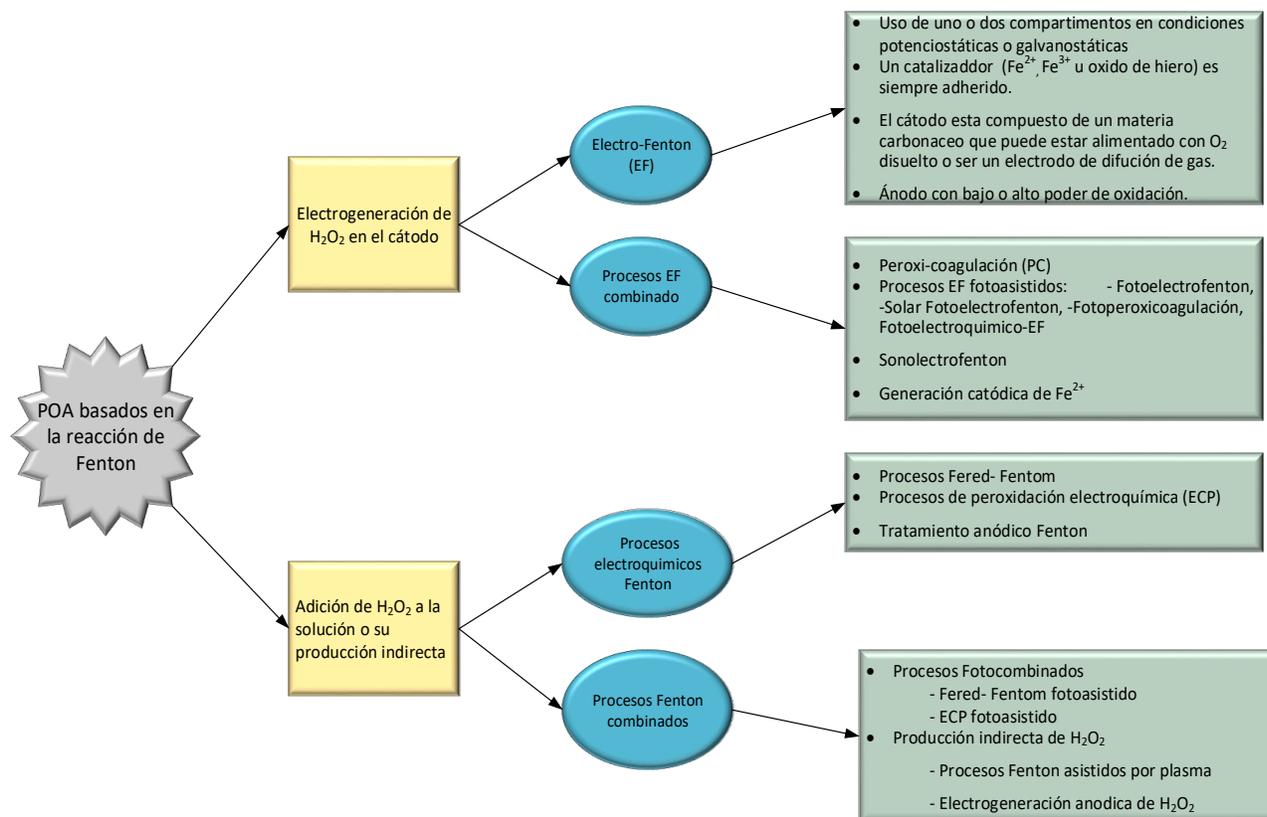


Por otro lado, existen los electrodos clasificados como no activos, este es el caso de los electrodos de PbO<sub>2</sub>, SnO<sub>2</sub> o de diamante dopado con boro (BDD). Se consideran inactivos porque los radicales M(OH•) fisiadsorbidos permanecen estables lo que permite su disponibilidad para lograr la completa mineralización del contaminante. Por todo lo mencionado el modelo de Comninellis de electrodos activos y no activos considera que los electrodos no activos no participan de modo directo sino solo de sumidero de electrones. Por ello las OA indirectas se pueden dividir a su vez según el producto final que originen en conversiones y combustiones. En las primeras, el contaminante se degrada hasta ácidos carboxílicos e implican el uso de ánodos activos. Sin embargo, en las combustiones (ánodos no activos) el contaminante inicial se degrada hasta CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y otros productos inorgánicos. Gracias a la elevada resistencia a la corrosión,

baja capacidad de adsorción, así como también su elevado sobrepotencial de desprendimiento de  $O_2$  se ha observado que el ánodo de BDD en el ánodo no activo que da lugar a unas mineralizaciones del contaminante más eficientes.

### 3.4.1.5. Procesos electroquímicos

Recientemente, se están desarrollando métodos de electro-oxidación indirecta como electrofenton (EF) y Fotoelectrofenton (FEF) para la remediación del agua. Estos procesos electroquímicos (**Figura 6**) de oxidación avanzada (PEOA) son tecnologías amigables con el medio ambiente.



**Figura 6.** Clasificación de los POA electroquímicos basados en la reacción Fenton y que son utilizados en la remoción de los compuestos orgánicos presentes en las PTAR, Adaptado de Brillas et al (2009).

### 3.4.1.6. Electro-Fenton y Fotoelectrofenton

Estas tecnologías basadas en el suministro continuo de  $H_2O_2$  a una solución contaminada, este suministro se realiza a partir de la reducción de dos electrones de  $O_2$ , el cual es inyectado durante la reacción, es considerada como una alternativa prometedora para la degradación de CE, debido a la generación in situ de  $H_2O_2$  en la superficie del cátodo (reacción 10) y por la regeneración del

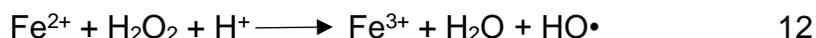


catalizador por efecto del campo eléctrico (reacción 11). Por lo tanto, la reacción de Fenton (reacción 12) es causada por la acción del campo eléctrico



El carbono vítreo reticulado, el fieltro de carbono, la fibra de carbono activada y los cátodos de difusión de O<sub>2</sub> se emplean generalmente para reducir eficazmente el O<sub>2</sub> de la reacción. En el proceso de EF, la capacidad oxidante del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> electrogenerado se incrementa en gran medida agregando a la solución una pequeña cantidad de Fe<sup>2+</sup> para producir un HO• y Fe<sup>3+</sup> (Sires et al., 2007).

El proceso EF es considerada como una alternativa prometedora para la degradación de CE, debido a la generación in situ de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la superficie del cátodo (reacción 10) y por la regeneración del catalizador por efecto del campo eléctrico (reacción 11). Por lo tanto, la reacción de Fenton (reacción 12) es causada por la acción del campo eléctrico.



El principal inconveniente asociado con EF es el rango estrecho de operación de pH que evita la formación y precipitación del hierro. Para superar esta limitación, el electro-Fenton heterogéneo (HEF) surgió como una alternativa al proceso homogéneo evitando la formación de lodos, extendiendo el rango de pH y la vida del catalizado y proporcionando una fácil recuperación con posibilidad de reutilización en lotes o Manera continua sin necesidad de regeneración o sustitución.

En el proceso fotoelectrofenton, la solución tratada se ilumina con luz UV, que a su vez actúa como catalizador para favorecer: la fotodescomposición de complejos de Fe<sub>3</sub><sup>+</sup> y la regeneración de más Fe<sup>2+</sup> con producción adicional de OH a partir de la fotorreducción de Fe(OH)<sup>2+</sup>, la especie Fe<sup>3+</sup> predominante en medio ácido.

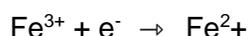
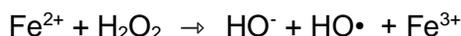


### 3.4.1.7. Proceso Fered-Fenton

A escala práctica, la oxidación de la especie catalizadora Fe<sup>2+</sup> a Fe<sup>3+</sup> durante el proceso Fenton da lugar a los inconvenientes de producción de lodos coloidales, consumo del catalizador y necesidad de acidificar y neutralizar secuencialmente los efluentes para separar los precipitados. Por este motivo, cualquier modificación del proceso Fenton que



facilite la reconversión de Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup> acelerará el proceso y favorecerá la reducción en la cantidad de lodos producidos. Asimismo, contribuirá a mantener una concentración de hierro en el efluente en valores admisibles para vertido o reutilización, no suponiendo un nuevo aporte contaminante a los efluentes tratados. En los procesos Fered-Fenton, este objetivo se consigue mediante la aplicación de una corriente eléctrica a la mezcla acuosa para producir la reducción catódica del Fe<sup>3+</sup>. Aunque existen otras configuraciones de sistemas de tratamiento Fenton electroquímicos como, por ejemplo, los basados en la producción catódica de peróxido de hidrógeno a partir de oxígeno, o en el empleo de ánodos de sacrificio para aportar Fe<sup>2+</sup>, el más extendido en la actualidad para el tratamiento de aguas residuales a escala industrial es el proceso Fered-Fenton (Sánchez, 2015).

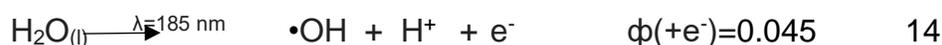


La regeneración electrolítica de Fe<sup>2+</sup> impide su precipitación como hidróxido y en consecuencia, permite una sensible reducción en la producción de lodos férricos que, de acuerdo con las informaciones comerciales, puede alcanzar hasta un 80% con respecto al proceso Fenton convencional.

### 3.4.1.8. Radiación de Ultravioleta al Vacío (VUV)

La fotólisis de agua ultravioleta al vacío (VUV) genera radicales OH•, átomos de hidrógeno (H) y en menor medida, electrones solvatados, se ha utilizado con éxito para la degradación oxidativa de contaminantes orgánicos en agua (Li et al., 2011). Estudios previos indican que la irradiación con VUV aumenta notablemente la eficiencia fotocatalítica en procesos que usan TiO<sub>2</sub>. (Sayed et al., 2016).

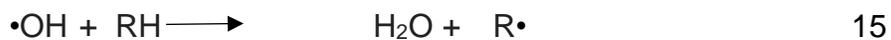
Como consecuencia del alto índice de absorbancia del agua de la radiación VUV, se produce una homólisis (Ruptura de un enlace químico para formar dos radicales), (13) y una ionización fotoquímica del agua (14). Los rendimientos cuánticos o fotoquímicos (ϕ), para estas reacciones son 0,33 y 0,045 (para longitudes de onda de 185 a 140 nm), respectivamente (Gonzalez et al., 2004). Los productos formados son altas concentraciones de radicales hidroxilos, átomos de hidrógeno y electrones solvatados (13 y 14) que inician múltiples reacciones de reducción y oxidación que implican a su vez la formación de oxígeno molecular y especies oxigenadas (Zoschke et al., 2014).



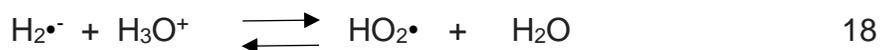
La degradación oxidativa de los contaminantes orgánicos se activa por los radicales •OH, ya sea por abstracción de hidrógeno (reacción 15), por adición electrofílica a los sistemas π o por reacciones de transferencia de electrones. Para una eficiente degradación oxidativa de los contaminantes, el oxígeno molecular disuelto contribuye a convertir los radicales centrados en C en radicales peroxilo



(ROO), (reacción 16), considerados intermedios clave de una variedad compleja de reacciones de oxidación que conducen eventualmente a la completa mineralización de la materia orgánica disuelta.



En paralelo, los átomos de H son atrapados por O<sub>2</sub> para generar radicales hidroperoxil (HO<sub>2</sub>•), (17), y una concentración bastante importante de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es producida por desprotonación (18) y dismutación del O<sub>2</sub><sup>-</sup> y HO<sub>2</sub> (reacciones 19), (Bianco et al., 2018).



Debido a la formación directa de HO•, la radiación VUV forma parte de los POA. Por lo que se concluye que la fotólisis VUV del agua es un método altamente eficiente para la generación de condiciones de oxidación avanzadas, además, la tasa de formación de HO• es comparable con otros POA. Estudios previos reportan degradaciones arriba del 90% para ácido clofíbrico (Li et al., 2011) melanina y atrazina.

### 3.4.2. Procesos de oxidación avanzada fotocatalíticos

El uso de catalizadores fotoactivos para los procesos de oxidación en el tratamiento del agua se ha investigado intensamente en las últimas décadas (Miklos et al., 2018., Vallejo et al., 2015). Aunque existen numerosos catalizadores con propiedades fotocatalíticas las investigaciones se han concentrado principalmente en dos tipos de reacciones que se basan basan en la solubilidad del catalizador:

#### A) Procesos foto-fenton en sistemas homogéneos:

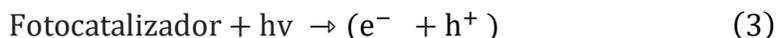
El reactivo de Fenton consiste en una disolución acuosa de peróxido de hidrógeno e iones ferrosos que proporcionan una importantes fuente de radicales OH•. Bajo condiciones ácidas (pH 2 a 4). Por otra parte, la velocidad de degradación aumenta proporcionando radiación UV/vis (ecuación 2).





## B) Fotocatálisis heterogénea basada en semiconductores

En general, el sistema de fotocatálisis heterogénea utiliza materiales semiconductores ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{WO}_3$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  o  $\text{ZrO}_2$ ) que consisten en una antena de recolección de luz y varias especies activas para facilitar la degradación del contaminante. Las series de reacciones oxido-reductoras en cadena que ocurren en la superficie que es activada por fotones ha sido ampliamente analizadas por varios autores (Dong et al., 2015; Kanakaraju et al., 2018., Chong et al., 2010), una propuesta general de las principales reacciones son las siguientes:



Los huecos fotogenerados oxidan directamente las moléculas adsorbidas o reaccionar con grupos hidroxilo superficiales o moléculas de agua para producir radicales  $\text{HO}^\bullet$  (Simonsen et al., 2010., Khataee et al., 2009). En este proceso, la naturaleza química del catalizador se ve inalterada, aunque durante el mismo, este puede formar especies intermedias.

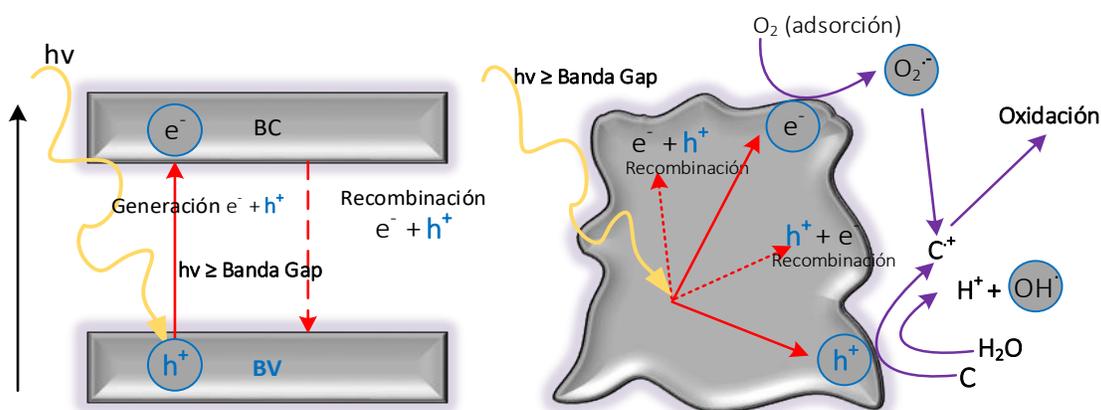
### 3.4.3. Fotocatalizadores

Un catalizador es una sustancia que aumentan la velocidad de una reacción químicamente mientras no se modifica, es decir; no se consume durante la reacción (Howland., 2013). En las reacciones de fotocatálisis, los semiconductores actúan como catalizadores y, por lo tanto, no se consumen en la reacción general. A estos semiconductores utilizados se les denomina fotocatalizadores. En la fotocatálisis la reacción química se activa por medio de fotones con contenido energético suficientemente alto para vencer la energía de la banda prohibida o ancho de banda, que es la separación energética entre la banda de valencia y la banda de conducción. Las principales propiedades que debe de reunir un fotocatalizador son las siguientes: mejor

- Debe ser fotoactivo
- Ser excitado en presencia de UV y/o visible
- Ser químicamente estable y resistente a la abrasión
- Mostrar una fácil regeneración
- No presentar toxicidad y ser económico

La fotocatálisis puede ser homogénea o heterogénea, dependiendo de si el catalizador forma una fase única con los reactivos o constituye una fase separada. Dentro de la fotocatálisis heterogénea se debe de elegir un catalizador que conserve sus propiedades específicas, como la porosidad, el área de superficie, la dispersión, la selectividad y la actividad. La morfología y el tamaño de los poros de los materiales de soporte seleccionados desempeñan un papel importante para

mejorar la estabilidad y el rendimiento del catalizador heterogéneo (Bagheri et al., 2014). Para que un semiconductor sea fotoquímicamente activo, el potencial redox de los huecos generados en la banda de valencia será lo suficientemente positivo para producir radicales  $\bullet\text{OH}$  que puedan oxidar el contaminante orgánico objetivo, mientras que el potencial redox de los electrones en la banda de conducción deberá ser lo suficientemente negativo para reducir el oxígeno adsorbido en la superficie y generar el anión superóxido  $\text{O}_2^{\bullet-}$ . Los semiconductores son materiales que requieren de un estímulo externo para conseguir la conducción eléctrica, de manera más estricta, su distribución electrónica es intermedia entre los metales y los aislantes, donde los primeros disponen de portadores libres de carga debido a la naturaleza de sus enlaces y los segundos son materiales que no permiten el transporte de portadores de carga debido a que las bandas de valencia y conducción se encuentran separadas impidiendo el movimiento de los electrones. La banda de valencia y la banda de conducción se encuentran separadas por una región de energía prohibida o banda gap (del inglés band gap energy), de tamaño  $E_{\text{gap}}$  (**Figura 7**). Cuando los electrones pasan de la banda de valencia a la banda de conducción (este proceso es una de las maneras en las que se puede producir una transición electrónica), se generan espacios vacíos en la BV llamados huecos de carga positiva ( $h^+$ ). A estos pares de electrones ( $e^-$ ) y huecos positivos ( $h^+$ ) se les denomina pares electrón-hueco, que son altamente reactivos y responsables de procesos químicos conocidos como redox (Quiroz, 2014).



**Figura 7.** Diagrama de energía de la banda de valencia (BV) y la banda de conducción(BC).

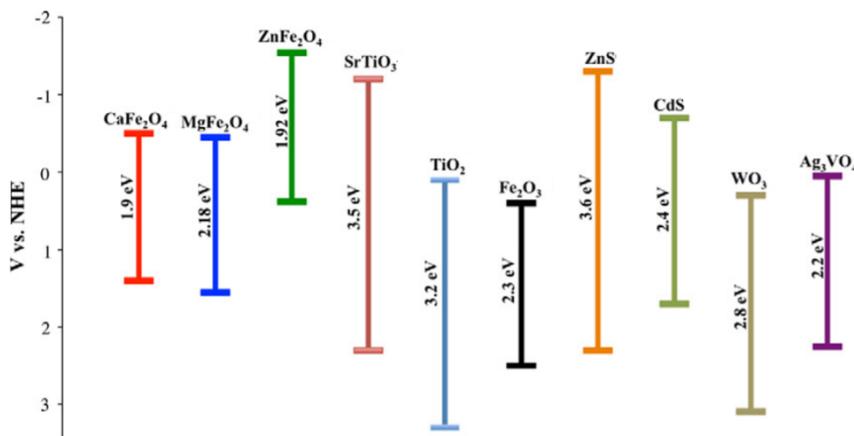


Cuando se selecciona un fotocatalizador, el intervalo de banda (Banda gap) del material determina la longitud de onda de la luz que puede ser absorbida, la diferencia entre el BV y el BC está inversamente relacionada con una longitud de onda de la luz (Casbeer et al., 20102). Tanto los óxidos como los sulfuros metálicos representan una extensa clase de materiales semiconductores, capaces de presentar aplicaciones fotocatalíticas. En la **Tabla 6** se proporciona la energía de ancho de banda o prohibida ( $E_{gap}$ ) de algunos fotocatalizadores utilizados en diferentes POA para la degradación de CE. Algunos de los fotocatalizadores como el  $TiO_2$ ,  $SnO_2$ ,  $WSe_2$  presentan un ancho de banda ( $E_{gap}$ ) más separada, presentando una mayor eficiencia en la región UV, por otra parte, cuando el ancho de banda es menor (Si, CdO,  $ZnFe_2O_4$ ) su eficiencia aumenta cuando se trabaja en la región visible.

**Tabla 6.** Energía de separación ( $E_{gap}$ ) de algunos fotocatalizadores (Hadj , 2012)

	<b>Energía de ancho de banda “Egap” (eV)</b>	<b>Fotocatalizador</b>	<b>Energía de ancho de banda “Egap” (eV)</b>
Si	1.1	CdO	2.1
$TiO_2$ (rutilo)	3.0	$TiO_2$ (anatasa)	3.2
$WO_3$	2.7	CdS	2.4
ZnS	3.7	$SrTiO_3$	3.4
$SnO_2$	3.5	$WSe_2$	1.2
$Fe_2O_3$	2.2	ZnO	3.2
$CaFe_2O_4$	1.9	$ZnFe_2O_4$	1.92

En comparación con otros fotocatalizadores utilizados en el tratamiento de aguas residuales,  $TiO_2$  y ZnO han recibido una atención considerable debido a su alto rendimiento fotocatalítico bajo irradiación con luz UV. El inconveniente de estos semiconductores, sin embargo, radica en que se encuentran inactivos bajo la irradiación de luz visible, debido a su amplio ancho de banda (banda gap), que impide su uso como fotocatalizadores de captación de energía solar. Para superar una deficiencia, se han intentado ciertas modalidades como el dopaje con elementos químicos que modifican las propiedades de los materiales del fotocatalizador para permitir una respuesta con la luz visible (Dong et al., 2015., Vallejo et al., 2015). En la siguiente figura (**Figura 8**) se muestra el espectro de absorbancia para la cantidad de energía solar que llega a la superficie de la Tierra como radiación ultravioleta (UV), visible e infrarroja IR. Se puede observar que la luz visible representa el 46% mientras que la luz UV solo representa el 5% de la energía total del sol y la parte restante corresponde a la región infrarroja.



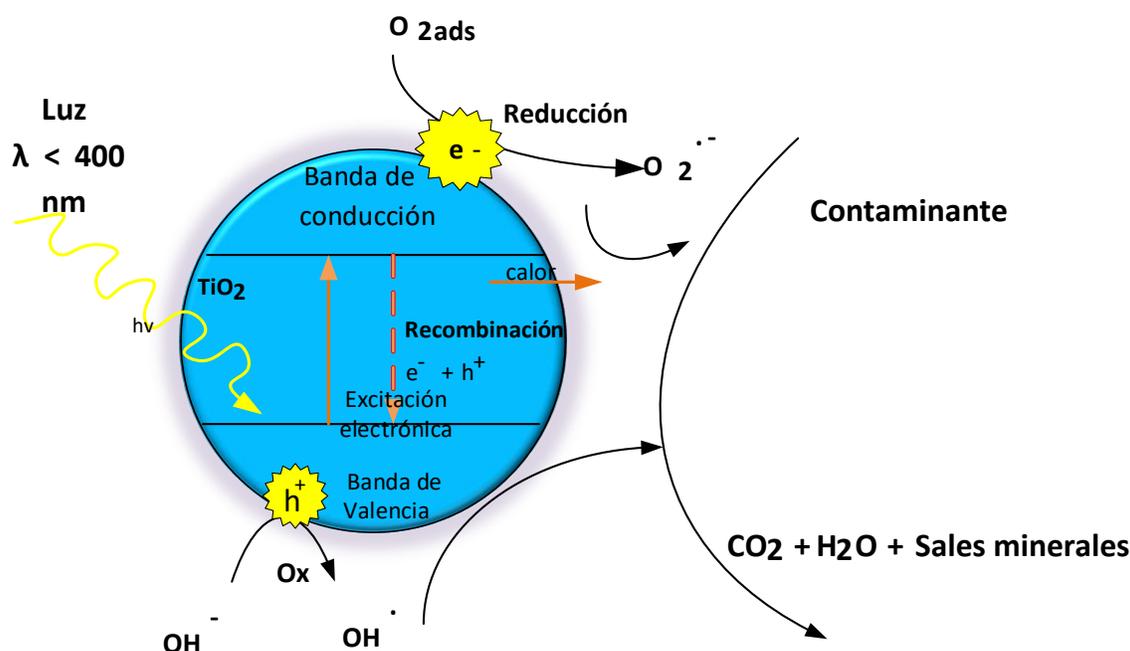
**Figura 8.** Catalizadores y su banda prohibida (banda gap), modificado de Casbeer et al (2104).

### 3.5. Fundamentos y mecanismo de la fotocatalisis heterogénea en TiO<sub>2</sub>

La fotocatalisis heterogénea que utiliza luz UV combinada con dióxido de titanio como catalizador es una técnica que se distingue por su potencial de aplicación y las ventajas económicas que posee, debido a que los catalizadores utilizados pueden ser reutilizados, eliminando la continua utilización de reactivos y la formación de lodos. El principio se basa en el uso de un semiconductor, que se excita mediante la absorción de radiación electromagnética con una energía que es igual o superior a la energía del intervalo de banda (Byrne et al., 2015), derivando en una serie de reacciones que conlleva la formación de los radicales HO<sup>•</sup> (Dong et al., 20015., Huerta, 2015). El TiO<sub>2</sub> es el semiconductor más utilizado para inducir reacciones oxidativas y reductoras en su superficie. Esta es una contribución única del electrón solitario en su orbital externo, el cual se fotoexcita a la banda de conducción vacía en femtosegundos. (He et al., 2016., Chong et al., 2010).

El TiO<sub>2</sub> en presencia de luz es capaz de excitarse, con una energía luminosa mayor o igual que el ancho de banda. La energía de TiO<sub>2</sub> ilumina en su superficie y de esta forma los electrones de la banda de valencia migran a la banda de conducción dejando su correspondiente hueco (Casbeer et al., 2012) en la banda de valencia y generándose los denominados pares electrón- hueco (e<sup>-</sup>/ h<sup>+</sup>). La energía necesaria para excitar el TiO<sub>2</sub> es de 3.2 V que corresponde a la energía UV para anatasa y de 3.0 V para rutilo, como consecuencia solo es capaz de absorber luz ultravioleta ( $\lambda < 385$  nm). Los pares e<sup>-</sup>/ h<sup>+</sup> pueden recombinarse o bien desplazarse a la superficie del catalizador. Para que no se produzca la recombinación de los pares es importante que exista un oxidante que actué como

aceptor de electrones (**Figura 9**). Generalmente este papel lo desempeña el  $O_2$  produciéndose el ion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ). Por otro lado, las moléculas de agua son adsorbidas en los huecos produciendo radicales hidroxilos ( $HO^{\cdot}$ ), esto radicales hidroxilos se caracterizan por un alto potencial de oxidación ( $E=2.8$  V), el cual es mayor al de otros oxidantes tradicionales ( $O_3=2.07$  V,  $H_2O_2=1.78$  V,  $ClO_2=1.57$ ,  $O_2=2.42$  V y  $Cl_2=1.36$  V). También se puede producir la oxidación de una molécula (contaminante orgánico) adsorbida en los huecos mediante transferencia de electrones (Ibarz, 2008). Los principales mecanismos realizados en la fotocatalisis se muestran en la figura siguiente.



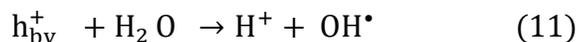
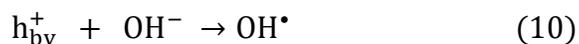
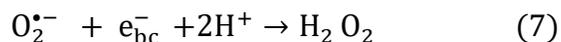
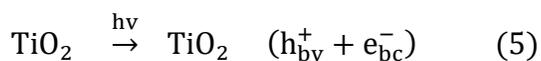
**Figura 9.** Mecanismos efectuados en la fotocatalisis.

El  $TiO_2$  en presencia de luz es capaz de excitarse, con una energía equivalente al salto energético, de esta forma los electrones de la banda de valencia migran a la banda de conducción dejando su correspondiente hueco en la banda de valencia (Nezar et al., 2018) y generándose los denominados pares electrón- hueco (Wetchakun et al., 2019).

La reacción fotoquímica que involucra el  $TiO_2$  se puede explicar por una serie de reacciones (ecuaciones 5 -12). El paso inicial de la fotocatalisis es la generación del par electrón-hueco dentro de la partícula de  $TiO_2$  (Simonsen et al., 2010) el hueco es originado en la banda de valencia ( $h_{bv}^+$ ) inducida por luz ( $\lambda < 385$  nm) y



el electrón ( $e_{bc}^-$ ) en la banda de conducción (ecuación 5). Este electrón estará disponible para donación de electrones a especies que son adsorbidas en la superficie de  $TiO_2$ . El electrón  $e_{bc}^-$  reduce al oxígeno para producir el radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) ecuación 6 y a su vez reduce al  $O_2^{\bullet-}$  para producir  $H_2O_2$  (ecuación 7). El  $O_2^{\bullet-}$  puede reaccionar con  $H_2O_2$  para producir el radical hidroxilo (Casbeer et al., 2012). La reducción de  $H_2O_2$  por  $e_{bc}^-$  puede generar así mismo el radical hidroxilo (ecuación 8 y 9). El hueco en la banda de valencia  $h_{bv}^+$  puede absorber electrones de las especies oxidable absorbidas y reacciona con la superficie de  $OH^-$  o  $H_2O$  para formar el radical hidroxilo (ecuaciones 10 y 11). La recombinación de radicales hidroxilos también produce  $H_2O_2$  (ecuación 12), (Cuevas et al., 2017, Huerta, 2015).



Los radicales hidroxilos se caracterizan por un alto potencial de oxidación ( $E=2.8$  V), que es mayor al de otros oxidantes tradicionales:  $O_3=2.07$  V,  $H_2O_2=1.78$  V,  $ClO_2=1.57$ ,  $O_2=2.42$  V y  $Cl_2=1.36$  V (Huerta, 2015., Casbeer et al., 2012).

### 3.6. Características y propiedades del titanio y dióxido de titanio

#### Titanio

El titanio forma parte de los elementos de transición y es el noveno elemento más abundantes de la corteza terrestre (constituye el 0.63%). En su forma pura es tan fuerte como el acero, pero menos denso (45% más ligero). Por lo que se utiliza como agente de aleación de muchos metales, incluido el aluminio, el molibdeno y el hierro. Debido a su baja densidad y su capacidad para soportar temperaturas extremas se utilizan en la fabricación de aviones y condensadores de centrales eléctricas. Presenta baja conductividad eléctrica y excelente resistencia a la



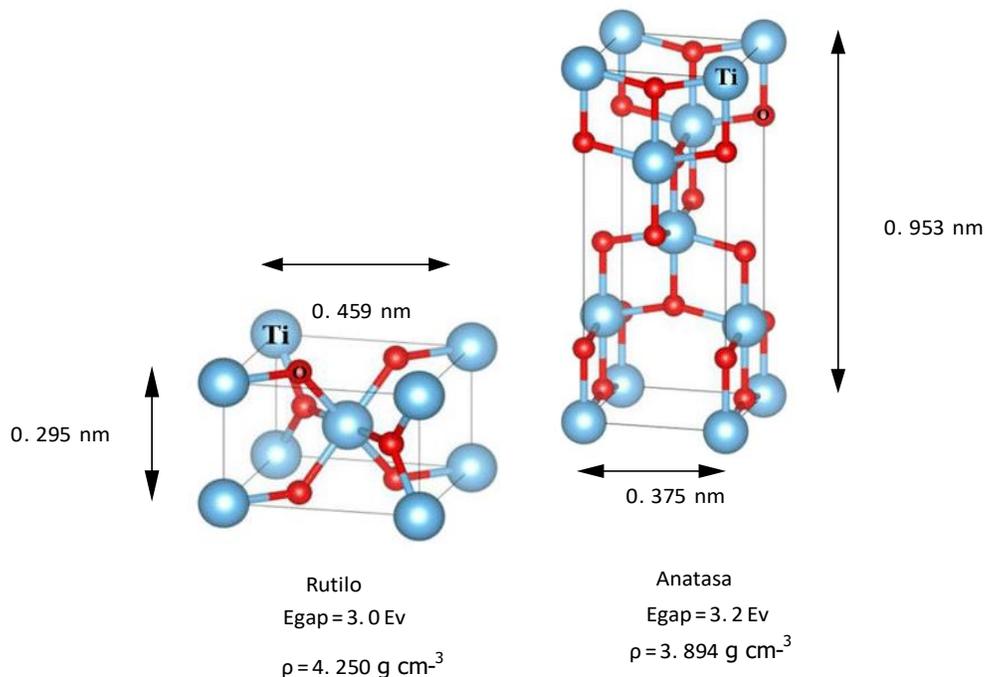
corrosión, utilizándose en plantas de desalinización y para proteger estructuras expuestas al agua de mar (SigmaAldrich y Royal Society 2018).

### **Dióxido de titanio**

El titanio en la naturaleza se encuentra mayoritariamente en combinaciones con oxígeno y hierro, cuando se combina con el oxígeno forma múltiples estados estables como óxidos ( $Ti_3O_2$ ,  $Ti_2O$ ,  $TiO$ ,  $Ti_2O_3$ ,  $Ti_3O_5$ ,  $Ti_4O_7$ ,  $Ti_5O_9$ ,  $TiO_2$ ,) siendo el más estable el dióxido de titanio. El  $TiO_2$  con un peso molecular de 79.87 g/mol, es un óxido metálico de transición, es un semiconductor, que presenta baja toxicidad, resistencia a la fotocorrosión, disponibilidad, efectividad y relativo bajo coste. El principal campo de aplicación del dióxido de titanio es el sector de los pigmentos por presentar un intenso color blanco, destinándose a tal uso el 95% de la producción mundial. También se utiliza en como catalizador en tratamientos relacionados con la industria textil, depuración de agua y aire. (Escuadra *et al.*, 2008). El  $TiO_2$  es el más utilizado en reacciones fotocatalíticas, puesto que es biológica y químicamente inerte, tiene bajo costo y no es tóxico (He *et al.*, 2016). Cuenta con una gran variedad de aplicaciones tecnológicas y la fabricación de cemento, plásticos, papel, cosméticos, filtros solares, refinación de aceites y control de la contaminación (Bagheri, et al., 2014., Pacheco el al., 2013). El  $TiO_2$  es el fotocatalizador más estudiado en la literatura debido a que permite obtener rendimientos muy altos en reacciones de degradación fotocatalítica de compuestos orgánicos (Nadjet, 2012), cristaliza en tres polimorfos diferentes: anatasa y rutilo en sistema tetragonal y brookita en estructura ortorrómbica (**Figura 10**). La estructura Rutilo es la forma cristalográfica más estable térmicamente de  $TiO_2$  y es considerado poco eficiente en actividad fotocatalítica. La Anatasa es estable en un rango de temperaturas bajas, pero vuelve a convertirse en rutilo a temperaturas superiores a 500-600 °C.

Las tres estructuras se describen como cadenas octaédricas de  $TiO_6$ , en donde cada ion de  $Ti^{4+}$  se encuentra rodeado por un octaedro de seis iones de  $O^{2-}$ . El ensamble y el patrón de esas cadenas y distorsión de cada octaedro es diferente en cada una de las estructuras cristalinas (Chaorui, 2014). Para el rutilo, el octaedro muestra una ligera distorsión ortorrómbica; en anatasa, el octaedro está significativamente distorsionado, de modo que su simetría es más baja que la ortorrómbica. Las distancias Ti - Ti en la anatasa son mayores, mientras que las distancias Ti - O son más cortas en comparación con el rutilo. En la estructura de rutilo, cada octaedro está en contacto con 10 octaedros vecinos (dos pares de oxígeno de borde compartido y ocho átomos de oxígeno de esquina compartidos), mientras que, en la estructura de anatasa, cada octaedro está en contacto con ocho vecinos (cuatro compartiendo un borde y cuatro compartiendo una esquina). Estos contrastes en la red cristalina provocan diferencias en sus densidades de masa y en las bandas electrónicas entre estas dos estructuras de  $TiO_2$  (Chen y

Mao, 2007). La estructura de brookita pura es rara, metaestable y difícil de preparar, además su propiedad fotocatalítica no ha sido bien estudiada (Chaorui et al., 2014).



**Figura 10.** Estructura cristalina de rutilo y anatasa, en azul se representa el ion  $\text{Ti}^{4+}$  y en rojo el  $\text{O}^{2-}$  (Hadj, 2012., Jia et al., 2016).

Las propiedades del material del  $\text{TiO}_2$ , como la superficie y la estructura desempeñan un papel importante en el control de la actividad fotocatalítica. La elección del tipo de  $\text{TiO}_2$  también varía entre los estudios con diferencias demostradas en la actividad fotocatalítica hacia compuestos orgánicos. Las variaciones en el rendimiento fotocatalítico se explican por las diferencias en la morfología, la fase cristalina, el área superficial específica, la carga superficial, la distribución del tamaño de las partículas, la porosidad y el espacio ancho de bandas (banda gap), (Kanakaraju et al., 2018).

### 3.7. Películas nanotubulares de $\text{TiO}_2$

El desarrollo rápido de la nanotecnología ha impulsado un considerable volumen de investigación sobre el empleo de nanopartículas metálicas como catalizadores eficientes para el tratamiento de agua y aguas residuales. Con el uso de nanocatalizadores los procesos de tratamiento de aguas se benefician por su gran



reactividad, una mayor área superficial (Okada et al., 2012) y/o la mejorada movilidad de partículas de tamaños nanométricas ( $10^{-9}$  m) que producen degradaciones de los contaminantes más rápidas y rentables, comparado con las tecnologías catalíticas convencionales (Virikutyte et al., 2010). Una extensiva literatura reportada a principios del año 2000 incluye uso de diferentes materiales cerámicos nanoporosos sintetizados debido principalmente a su gran actividad catalítica, estos materiales incluyen el titanio, aluminio, zirconio y sílice. Sin embargo, el interés se ha enfocado al uso de titanio el cual presenta una amplia gama de aplicaciones tecnológicas relevantes que van desde sensores de gas, tecnología fotovoltaica, catálisis térmica e inmovilización de biomoléculas (Gong et al., 2002), también se aplica en almacenamiento y conversión de energía, esta paleta de aplicaciones ha sido ampliada a través de los últimos 20 años debido a que las nanoestructuras proporcionan propiedades electrónicas únicas, como alta movilidad de electrones o efectos de confinamiento cuántico (Schmuki et al., 2011), pequeñas dimensiones y a una resistencia mecánica elevada (Okada et al., 2012).

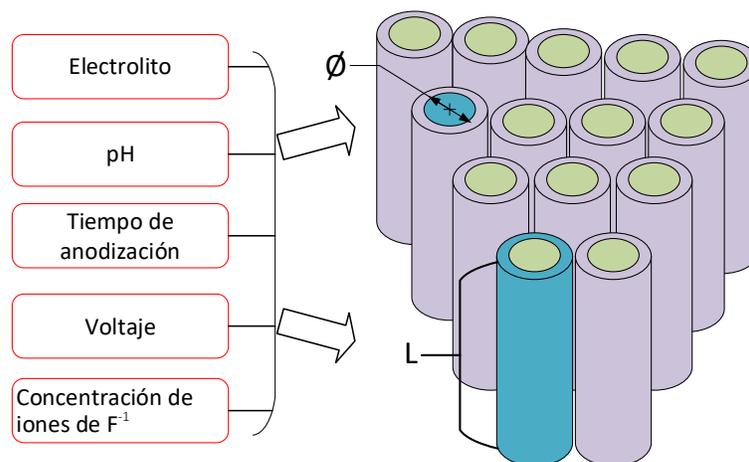
Por lo general, los nanocatalizadores de  $\text{TiO}_2$  se fabrican en dos formas diferentes:

- a) Nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  como fotocatalizador en su forma tradicional.
- b) Películas delgadas de  $\text{TiO}_2$  inmovilizadas como fotocatalizador desarrollado.

Los inconvenientes de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  en su forma tradicional son su baja área superficial, la alta eficiencia de recombinación de los pares electrones-hueco, la fácil agregación durante la reacción y la difícil separación de un sistema de suspensión después de la reacción fotocatalítica. Para superar estos inconvenientes, el fotocatalizador de  $\text{TiO}_2$  se inmoviliza en sustratos de soporte sólido (Vahabzadeh et al., 2018). Las películas de  $\text{TiO}_2$  que presentan un espesor pequeño provista de estructuras nanotubulares son deseables para aplicaciones catalíticas debido a sus grandes superficies y sus altas reactividades (Gong et al., 2001).

Existen varios métodos para sintetizar las nanoestructuras de  $\text{TiO}_2$  (proceso sol-gel, evaporación, método basado en plantillas, síntesis de haz de iones) pero la oxidación anódica en láminas de titanio expuestas en electrolitos fluorados es la más reconocida para explorar la modificación de la configuración geométrica (diámetro, longitud, presencia de anillos y el espesor de las paredes) para obtener una película nanotubular de  $\text{TiO}_2$  (PNTT). Las estructuras nanotubulares se pueden formar aplicando la técnica de oxidación anódica (AO) en condiciones experimentales definidas tales como voltaje, tipo y concentración del electrolito, temperatura, tiempo de anodización, concentración del fluoruro y la temperatura

de calcinación (**Figura 11**). El enfoque de anodización es capaz de construir una película de óxido de titanio de tamaño de poro controlable, buena uniformidad y conformabilidad sobre grandes áreas a bajo costo (Gong et al., 2001). La principal desventaja de la anodización electroquímica es que los nanotubos sintetizados son amorfos y se requiere de un recocido posterior para cristalizarlos en estructura de anatasa y rutilo (Yurddaskal et al., 2015). Existen evidencias que las PNTT pueden ser útiles en los procesos de fotodegradación utilizando UV como fuente de luz, los electrones fotogenerados se transportan a la banda de conducción sustrato de Ti y para cada electrón generado, también se produce un orificio o hueco en los fotocatalizadores como respuesta al proceso de separación de cargas fotoinducidas, ambos participan en las reacciones electroquímicas y químicas para desarrollar los radicales  $\text{OH}\cdot$  necesarios para degradar los contaminantes presentes en el agua contaminada (Cuevas et al., 2017). Las películas nanotubulares consisten en un conjunto de nanotubos alineados verticalmente, orientados en paralelo, cada nanotubo presenta un extremo superior abierto y un extremo inferior cerrado (capa de barrera), el primero trabajo sintetizado de matrices de nanotubos se registró en el 2001 por Gong quien produjo nanotubos de hasta  $0.4 \mu\text{m}$ . Posteriormente, varios autores reportaron trabajos que incluían disolventes orgánicos polares como el dimetilsulfóxido, el etilenglicol, la formamida y la N-metilformamida para lograr longitudes en matrices de nanotubos de varios cientos de micras (hasta  $1005 \mu\text{m}$ ), (Paulose et al., 2008).



**Figura 11.** Principales parámetros considerados para la síntesis de nanotubos de  $\text{TiO}_2$ .



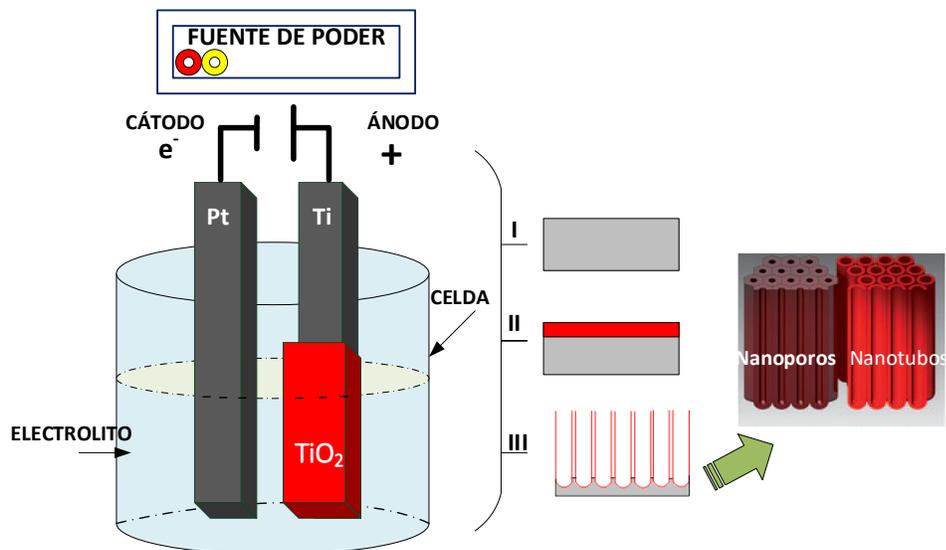
### 3.7.1. Películas nanotubulares de TiO<sub>2</sub>

La anodización es un proceso de síntesis sencillo, de bajo costo, con un buen control morfológico, es una técnica reproducible y de fácil control de sus parámetros (Yurddaskal et al., 2015) comparándolo con los procesos de síntesis de nanotubos por tratamiento hidrotérmico, sol-gel y electrodeposición. Algunas morfologías obtenidas por anodización electroquímica pueden ser amorfas u ordenadas. La morfología superficial y transversal por lo general depende de los electrolitos utilizados en la anodización, para lograr nanotubos ordenados u amorfos se debe de controlar el voltaje, pH, concentración de iones, tiempo de anodización y porcentaje de agua (Arenas, 2016). Gong reportó que a medida que aumenta el voltaje, se pierde el aspecto de las partículas, con características discretas, huecas, cilíndricas, similares a tubos, es decir, la estructura del nanotubo se pierde a voltajes de anodización superiores a 40 V, formándose una estructura porosa al azar esponjosa. También observó una evolución similar de las características topológicas en soluciones de HF al 1.5% en peso a voltajes más bajos. Mientras que cuando se realizó la anodización a 20 V en una solución de HF al 0,5% en peso durante 20 minutos, obtuvo como resultado un Conjunto de nanotubos de TiO<sub>2</sub> alineados con un diámetro de tubo aproximadamente promedio de 60 nm y una longitud de tubo de 250 nm (Gong et al., 2001).

### 3.7.2. Anodización electroquímica

La anodización es un proceso electroquímico que se utiliza para modificar la morfología superficial de un sustrato a partir de la oxidación-disolución de una capa de óxido sobre la muestra de interés. Básicamente, consiste en 2 electrodos, uno como ánodo y otro como cátodo, generalmente se emplea una celda electroquímica en la que el **ánodo** es el material en el cual se desea crecer la capa de óxido (metal o aleación) y el **cátodo** es una placa o varilla de un material químicamente inerte en el baño de anodizado. Ambos electrodos se conectan a un circuito eléctrico externo para establecer una diferencia de voltaje o corriente entre ellos. Los materiales más empleados como cátodos son el grafito, el acero inoxidable, y el platino (**Figura 12**).

El material elegido como cátodo puede influir en menor o mayor medida en la velocidad de crecimiento de las capas anódicas y así originar una geometría única en la morfología del óxido (espesor de la capa de óxido, diámetro de los poros o nanotubos, etc.) debido a que puede variar la velocidad de algunas reacciones, afectando directamente en la sobretensión producida entre el cátodo y el ánodo (Hernandez et al., 2015).



**Figura 12.** Esquema general del proceso de anodización electroquímica para la fabricación de nanotubos y nanoporos, adaptado de Schmuki et al., 2011

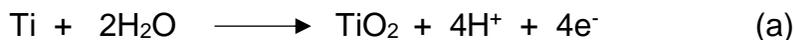
Los procesos electroquímicos comúnmente usados en la formación anódica de nanotubos de óxido metálico consisten en una solución inorgánica con iones de flúor (por ejemplo, 0.5 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + 0,14 M NaF) u orgánica (por ejemplo, 0.2-0.5% en peso de NH<sub>4</sub>F + 0.2-10% en peso de H<sub>2</sub>O en etilenglicol / glicerol) a base de electrolito. Los parámetros importantes para determinar las dimensiones de los arreglos nanotubulares de TiO<sub>2</sub> incluyen, potencial de anodización (1-150 V), el tiempo de anodización (de 15 minutos a varias horas), el pH, la temperatura y el contenido de fluoruro.

El diámetro de los nanotubos está esencialmente determinado por el potencial de anodización y es una relación lineal donde un aumento en el potencial da como resultado un aumento en el diámetro. El contenido de flúor y la temperatura de la solución electrolítica son variables de control en el espesor de la pared de los nanotubos. Las temperaturas más bajas normalmente producen nanotubos más gruesos, mientras que un contenido de fluoruro más alto se genera paredes de nanotubos más delgadas. El pH del electrolito influye fuertemente en el crecimiento de los nanotubos. Electrolitos con bajo pH dan como resultado, longitudes de nanotubos cortos, independientemente del tiempo de anodización como resultado del autograbado. Los electrolitos con pH ácidos débiles, como los electrolitos de base orgánica, pueden anodizarse durante más tiempo y generar longitudes de tubos más largos hasta decenas de micras (Salomón, 2016).



### 3.7.3. Formación de Nanotubos de TiO<sub>2</sub> utilizando iones de F<sup>-</sup>

La anodización del titanio en electrolitos que contienen iones de flúor pueden atribuirse a una competencia entre las siguientes dos reacciones químicas:



La reacción a) describe el crecimiento del óxido en la interfase óxido/Ti regido por el transporte de iones de O<sub>2</sub><sup>-</sup> a través de un campo eléctrico. Mientras que un permanente ataque de iones F<sup>-</sup> sobre el óxido formado conduce a una disolución química del óxido como complejo [TiF<sub>6</sub>]<sup>2-</sup> según la reacción (b). A medida que avanza la anodización, los poros comienzan a crecer en la superficie del óxido y se produce un crecimiento de capas de óxido nanoporoso. La película de Ti se consume progresivamente durante el proceso de anodización, reduciendo entonces la corriente drásticamente a medida que la película de Ti es completamente anodizada (Okada et al., 2012).

Al iniciar la anodización se forman iones de Ti<sup>4+</sup> al aplicarse un voltaje sobre la superficie metálica. Cuando el titanio u otros metales se exponen a una tensión anódica suficiente para reaccionar electroquímicamente, se inicia una reacción de oxidación, que depende del electrolito, el voltaje aplicado, el material a anodizar y el tiempo de anodizado (reacción 25).

En las reacciones 26, 27, 28, y 29 se observa el Ti reaccionar con el agua del medio electrolítico para formar TiO<sub>2</sub> en la presencia del campo eléctrico. Las ecuaciones también representan la migración de iones de Ti<sup>4+</sup> y O<sup>2-</sup> que se produce vía la reacción con agua en la interfase metal Ti/electrolito. Mientras que en el cátodo (reacción 30) se produce una reacción de reducción de H<sub>2</sub>O que origina OH<sup>-</sup> y generación de hidrógeno.

#### Reacciones anódicas:



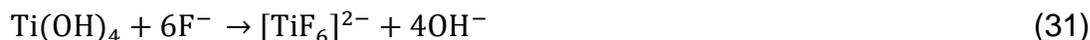
#### Reacciones catódicas:





Una vez que se forma una capa fina de  $TiO_2$  con grosor sub-micrométrico, la reacción debería detenerse ya que esta autoprotege al Ti metálico de los átomos de oxígeno. Sin embargo, debido al campo eléctrico, los iones  $O^{2-}$  migran en contraflujo a los iones de  $Ti^{4+}$  a través de la fina capa de  $TiO_2$  para llegar a la superficie del metal y oxidarlo nuevamente. En consecuencia, la nueva capa de óxido crece en la interfase  $TiO_2/Ti$  reduciendo el gradiente que impulsa la migración de iones en la interfase. Finalmente, se alcanza un espesor finito en el que, el campo eléctrico aplicado no puede seguir promoviendo la migración de iones. El espesor finito de esta capa depende del campo eléctrico aplicado (a mayor campo eléctrico, más gruesa es la capa finita).

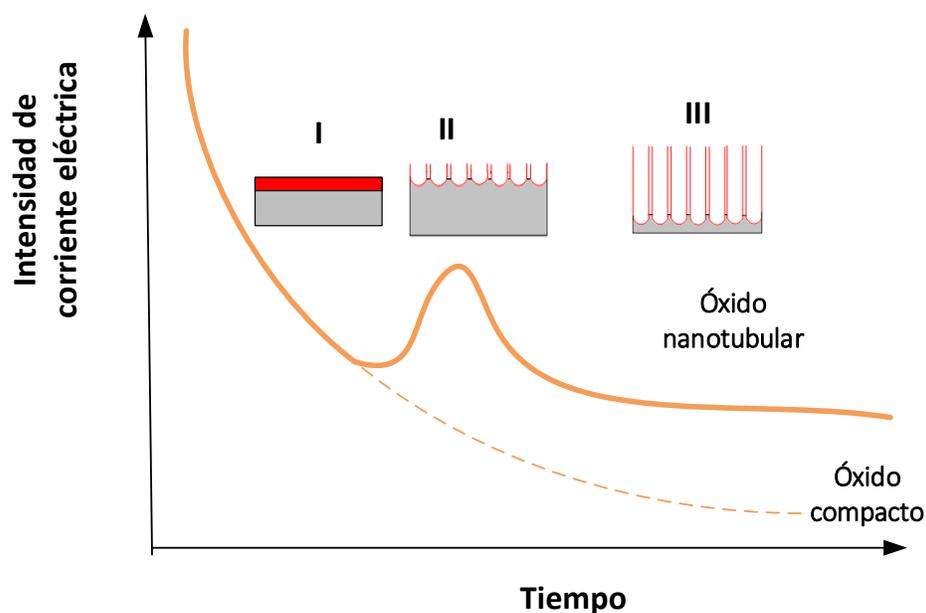
El último proceso es la formación de las estructuras nanotubulares, que se asocia principalmente con los iones fluoruro. Los iones fluoruro pueden formar complejos con  $Ti^{4+}$  en la superficie del óxido de acuerdo con las reacciones que se muestran (Chaorui, 2014).



La capa de óxido formada presenta una alta resistencia afectando la corriente hasta alcanzar valores mínimos. En este caso los iones de  $F^-$  presentes en la concentración del electrolito reaccionan con  $TiO_2$  formando huecos pequeños en la superficie de la película de óxido formado. Estos huecos actuarán como centros de formación de poros y continuarán creciendo dentro de la capa del óxido hasta el fondo de la película formada (Chaorui, 2014). Las reacciones se generan en la superficie del óxido/metal, esto se debe a que los iones de  $F^-$  migran generando también  $TiF_4$ . Tanto el complejo  $[TiF_6]^{2-}$  y el  $TiF_4$  comienzan en la formación de poros en la superficie de  $TiO_2$ , para después continuar con la formación de los Nanotubos de  $TiO_2$ . La cantidad de iones de  $F^-$  y la cantidad de  $H_2O$  ocupados en la anodización, determinaran la morfología de los Nanotubos o Nanoporos (Arenas, 2016).

Una curva típica voltaje-tiempo de la formación de nanotubos de  $TiO_2$  en el proceso de anodización se incluye en la **Figura 13**, la gráfica contiene tres etapas: en la primera etapa la curva sigue el comportamiento sin fluoruro, la densidad de la corriente que inicialmente se encontraba alta decae con el aumento del espesor del óxido, una capa de óxido compacto se forma durante esta etapa. En la segunda etapa, la formación inicial de poros provoca un aumento en la corriente. Este proceso es determinado por los efectos de difusión, la agitación y la

viscosidad del electrolito. Finalmente, un crecimiento progresivo en los tubos se realiza mientras se mantiene un valor de la corriente relativamente estable.



**Figura 13.** Curva típica de Intensidad - tiempo después de un salto de voltaje en la ausencia (----) y presencia (-) de iones de flúor presentes en el electrolito de trabajo. Adaptado de Chaorui, 2014.

### 3.7.4. Técnicas de analíticas para la caracterización de nanotubos

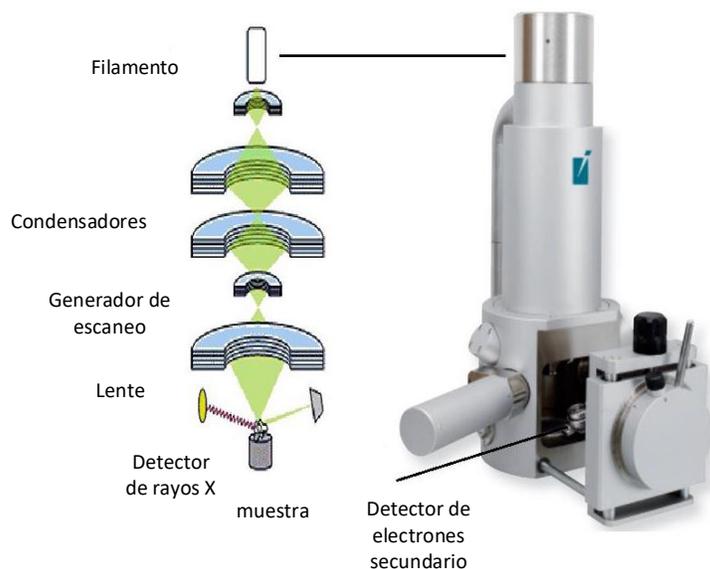
Para la confirmación de la formación autoorganizada de nanotubos de  $\text{TiO}_2$  (caracterización morfológica) se utiliza la herramienta de imágenes de Microscopía electrónica de barrido, mientras que para caracterizar la fase cristalina precipitada generalmente se realiza mediante difracción de rayos X, (Okada et al., 2012; Yurddaskal et al., 2015).

#### 3.7.4.1. Microscopía electrónica de barrido

En la microscopía electrónica de barrido SEM (del inglés Scanning Electron Microscopy), se utiliza un haz de electrones en lugar de un haz de luz para formar una imagen ampliada de la superficie de un objeto. Es un instrumento que permite la observación y caracterización superficial de sólidos inorgánicos y orgánicos. Tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque a la vez una gran parte de la muestra. La geometría de los componentes del microscopio es, esencialmente, igual que la del óptico. Debido a su alta resolución permite llegar a observar estructuras del orden de los nanómetros ( $\sim 1$  nm), su gran profundidad de campo le da apariencia tridimensional a las imágenes y su sencilla preparación de las muestras facilita un amplio rango de aplicaciones. Las

aplicaciones del equipo son muy variadas, y van desde la industria petroquímica o la metalurgia hasta la medicina forense (CIMAV, 2018).

El funcionamiento consiste en un haz de electrones es generado por un filamento incandescente y acelerado por una rejilla cercana polarizada positivamente. Este haz de electrones, durante su viaje por el vacío, tiende a separarse por fuerzas de repulsión electrostáticas entre ellos, por lo que un campo eléctrico, generado por unas placas, se encarga de focalizar el haz y condensarlo. Mediante bobinas, el haz de electrones es direccionado hacia un punto sobre la muestra (**Figura 14**), de manera que nos permite hacer un barrido en la zona de interés. Debido a la interacción del haz de electrones con la muestra, se dan procesos de pérdida de energía entre los cuales se encuentran la generación de electrones secundarios, la producción de electrones Auger, la producción de rayos X por la radiación de frenado y la producción de radiación electromagnética debida a transiciones electrónicas. La energía de los electrones secundarios es inferior a 100 eV, y su rendimiento es muy alto, es decir, por cada electrón incidente es posible obtener varios electrones secundarios; estos electrones son los que se utilizan normalmente para la formación de la imagen, aunque también se puede formar con cualquier otra interacción (Quiroz, 2014).

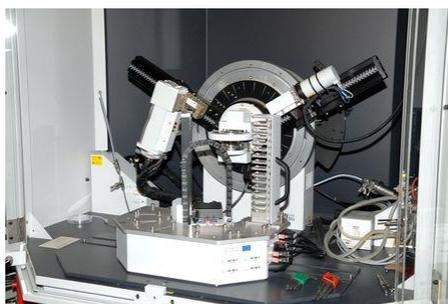


**Figura 14.** Microscopio electrónico de barrido y sus componentes, adaptado de Quiroz, 2014.

### 3.7.4.2. Difracción de Rayos X

La dispersión de rayos X se usa de forma rutinaria para determinar la estructura, la orientación, los parámetros de red y la calidad cristalina en materiales cristalinos (difracción de rayos X) y el espesor, la densidad y la rugosidad de películas delgadas y multicapas (reflectividad de rayos X). La difracción de rayos-X es un

método de alta tecnología no destructivo para el análisis de una amplia gama de materiales, incluso fluidos, metales, minerales, polímeros, catalizadores, plásticos, productos farmacéuticos, recubrimientos de capa fina, cerámicas y semiconductores (UNIZAR, 2018). La Difracción de Rayos X está basada en las interferencias ópticas que se producen cuando una radiación monocromática atraviesa una rendija de espesor comparable a la longitud de onda de la radiación. Los Rayos X tienen longitudes de onda de Angstroms, del mismo orden que las distancias interatómicas de los componentes de las redes cristalinas. Al ser irradiados sobre la muestra a analizar, los rayos X se difractan con ángulos que dependen de las distancias interatómicas. El método analítico del Polvo al Azar o de Debye-Scherrer consiste en irradiar con Rayos X sobre una muestra formada por multitud de cristales colocados al azar en todas las direcciones posibles, este método se basa en la Ley de Bragg (UA, 2018). En la siguiente **Figura 15** se muestra un difractor de alta resolución.



**Figura 15.** Difractor de rayos X Bruker D8-Advance.

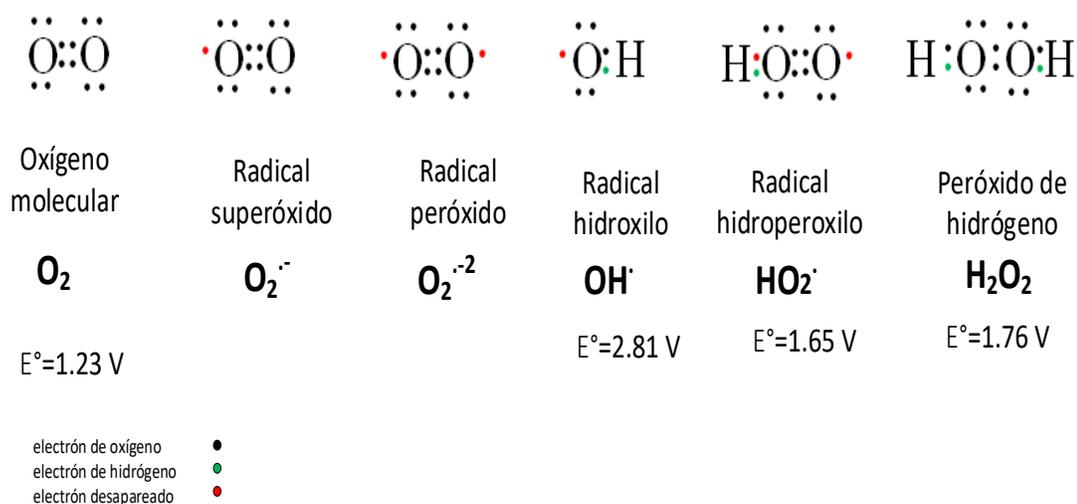
### **3.8. Especies reactivas de oxígeno**

Los POA se caracterizan por la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) como los radicales hidroxilos ( $\text{OH}^{\bullet}$ ), aniones superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), radicales hidropéroxil ( $\text{OH}_2^{\bullet}$ ). Las ERO comprenden no solo radicales libres, sino también los no-radicales como oxígeno singlete ( $^1\text{O}_2$ ),  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{O}_3$ . Los radicales son moléculas capaces de existir de forma independiente teniendo en su último orbital uno o más electrones desapareados, lo cual los torna inestables y con capacidad de interactuar con cualquier tipo de compuesto, presenta una alta reactividad y tiende a reducirse, es decir, sustrae un electrón de átomos o moléculas estables, a las cuales oxida, con el fin de alcanzar su propia estabilidad. Una vez que el radical libre ha conseguido el electrón que necesita para aparear a su electrón libre, la molécula estable que pierde el electrón se oxida y deja a otro electrón desapareado, lo que la convierte a su vez en un radical libre, iniciándose y después propagándose de la misma manera, generando así una reacción en cadena (Quintanar y Calderón, 2009).



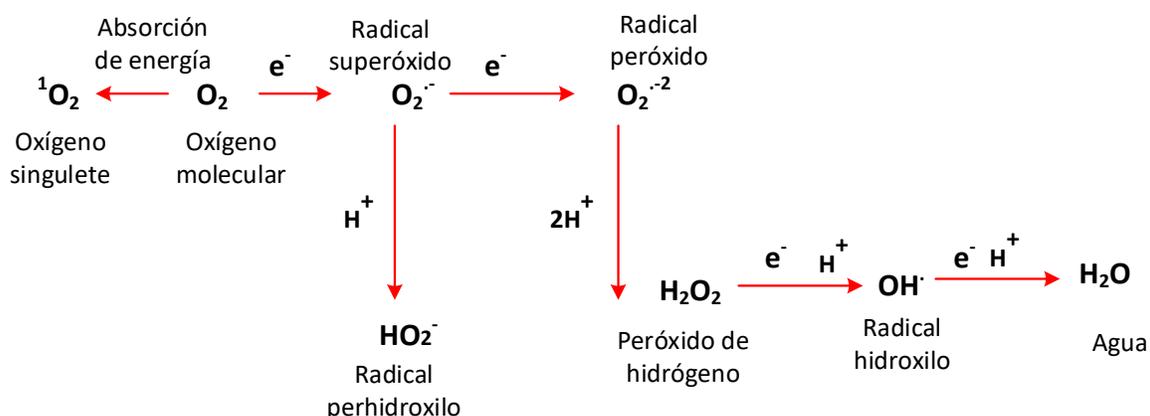
Algunos autores dentro de sus investigaciones han llegado a clasificar a los radicales libres de acuerdo con el grupo funcional presente en la molécula; bromo, nitrógeno, tioles, fosforo, oxígeno y cloro, aunque los radicales libres de oxígeno reactivo son los más comunes y de mayor relevancia debido a su participación en diferentes procesos (Corrales y Ariza, 2012). Los radicales producidos en los POA se pueden generar por la adición de un electrón a una molécula. Una vez formados, los radicales interactúan con otras moléculas a través de reacciones de óxido - reducción con la finalidad de conseguir una configuración electrónica estable. En dichas circunstancias, se produce una transferencia de electrones de las moléculas participantes (Verma et al., 2017). Debido a la alta reactividad de estas especies, y por consecuencia su muy bajo tiempo de vida, su cuantificación y detección es difícil (Lee et al., 2016). Se han reportado constantes de velocidad de reacción del orden de  $10^6$  a  $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  para el radical  $\cdot\text{OH}$  y tiempos de vida del orden de  $10^{-10}$  s (Rivera et al., 2013).

El oxígeno en su estado natural posee dos electrones desapareados ocupando cada uno de ellos dos diferentes orbitales moleculares externos (en el orbital  $\pi^*$ ). Este tipo de estructura es llamado estado basal o estado triplete y significa que el oxígeno es un birradical, que evita que reaccione como un radical libre y le confiere la característica de ser un elemento altamente oxidante. Es decir, que le permite aceptar electrones de otras moléculas. Así mismo, en los procesos de transferencia de electrones o de absorción de energía se pueden generar las especies reactivas de oxígeno que involucran, tanto a los radicales libres de oxígeno como a las moléculas no radicales derivadas de este mismo elemento que (**Figura 16**), aunque no son radicales libres poseen la capacidad de generar radicales libres (Corrales y Ariza, 2012).



**Figura 16.** Estructura de las especies reactivas de oxígeno

La adición secuencial de electrones a la molécula de oxígeno genera ERO. Al adicionar un electrón al oxígeno cuando este se encuentra en estado fundamental se forma el radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), si se añade otro electrón como producto se obtendrá el radical peróxido ( $O_2^{\cdot-2}$ ). Posteriormente, si al  $O_2^{\cdot-2}$  se protona y a su vez mediante un proceso de reducción parcial del oxígeno acepta dos electrones se da paso a la formación del  $H_2O_2$ . Sin embargo, la unión que se encuentra entre O-O es muy débil y se puede descomponer dando así el origen del radical  $OH^{\cdot}$  (**Figura 17**). Por otra parte, cuando el oxígeno acepta cuatro electrones se forma una molécula de  $H_2O$ . Por otro último, a partir de la oxidación de la molécula de oxígeno y en presencia de agua, se puede generar  $O_3$  (Bhattacharya, 2015., García, 2017).

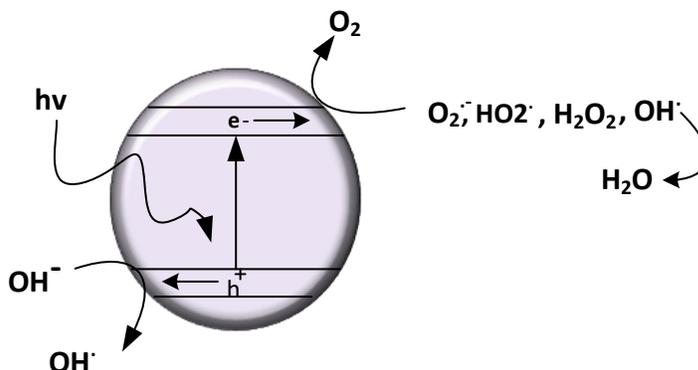


**Figura 17.** Representación de la generación de las ERO. Adaptado de Bhattacharya, 2015.

Otro radical derivado del oxígeno es el oxígeno singlete o singlete ( $^1O_2$ ). Esta es una forma excitada de oxígeno en la que uno de los electrones salta a un orbital superior después de absorber energía, liberando así el oxígeno de su estado de giro restringido. Además, el estado de singlete puede liberar una cantidad pequeña de energía y transformarse en un estado de triplete el cual implica un cambio en el giro del electrón.

Las reacciones fotocatalíticas proceden principalmente de las reacciones con especies activas de oxígeno ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ), destacando entre ellos el radical  $OH^{\cdot}$ , que es una especie significativamente importante por ser el principal responsable de la oxidación de los compuestos orgánicos. Sin embargo, el mecanismo detallado de la generación de radicales  $OH^{\cdot}$  aún no se ha experimentalmente develado, a causa de la dificultad de detectar el radical por su alta reactividad y su breve vida útil (Lee et al., 2016). En la **Figura 18** se muestra un esquema general para la producción de especies reactivas de oxígeno donde el oxígeno actúa como

aceptor de electrones y el agua o los iones hidroxilo actúan como donadores de electrones.



**Figura 18.** Mecanismo fotocatalítico en una partícula de  $\text{TiO}_2$  que conduce a la producción de ERO. Adaptado de Byrne, 2015.

En este ejemplo, el  $\text{TiO}_2$  es el semiconductor que presenta potenciales de borde de banda adecuados para impulsar las reacciones de interés. El hueco de la banda de valencia debe tener un potencial de reducción electroquímico lo suficientemente positivo para oxidar el agua y producir un radical hidroxilo, la banda de conducción debe ser lo suficientemente negativa para reducir el oxígeno molecular y producir un radical superóxido, posteriormente mediante la transferencia de electrones se produce el peróxido y el radical hidroxilo. En general, en presencia de oxígeno y agua, el mecanismo fotocatalítico genera una mezcla de ERO, que inactiva los microorganismos o/o degradan los contaminantes químicos orgánicos (Byrne et al., 2015).



#### 4. Metodología

##### 4.1. Técnica analítica para la determinación de compuestos emergentes por cromatografía de gases - masas con y sin derivatización

Los reactivos químicos, los materiales y equipo utilizado para el desarrollo de las técnicas analíticas se indica a continuación.

##### Reactivos

- Estándar de metoprolol y carbamazepina, grado reactivo, marca Sigma-Aldrich
- Helio, 99.999% de pureza
- Nitrógeno, 99.999% de pureza
- Metanol grado HPLC
- Agua grado HPLC
- Derivatizante: N,O-bis(trimetilsilil)Trifluoroacetamida(BSTFA) con 1% de Trimetilclorosilano (TMCS)
- Piridina
- n-hexano grado HPLC

##### Material

- Bomba de vacío y Manifold
- Concentrador de muestras, minivap
- Vortex
- Viales ambar de 2 y 4 ml
- Cartuchos Oasis-HLB

##### Equipo

- Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas, triple cuádruplo, marca shimadzu, modelo TQ8040.



### Preparación de solución para la cuantificación de los compuestos por CG-MS/MS

Se preparó una solución madre de carbamazepina y metoprolol disolviendo 0.010 g de cada uno de ellos en 10 ml de metanol grado HPLC, para obtener una mezcla homogénea de esta mezcla, se colocó la solución en baño ultrasónico durante 20 minutos, hasta su completa disolución, obteniendo una concentración de 1000 mg L<sup>-1</sup> (1000 µg ml<sup>-1</sup>). De esta solución madre se realizaron dos soluciones estándares, la primera de 10 µg ml<sup>-1</sup> y la segunda de 1 µg ml<sup>-1</sup> y se tomaron alícuotas para realizar la curva de calibración en un intervalo de 0.001-2.0 µg ml<sup>-1</sup>. Los solventes utilizados para la preparación de la solución madre y estándar para el proceso de extracción en fase sólida es metanol grado HPLC, previamente se realizaron pruebas de solubilidad con otros solventes (acetona, acetato de etilo, hexano, tolueno) eligiendo el metanol como el solvente que registró la mayor solubilidad con fármacos en mezcla.

### Identificar los iones característicos

Cuando se seleccionan los iones para su monitoreo es importante escogerlos correctamente. Los criterios de selección están basados en: (1) intensidad de la señal (abundancia iónica) debe ser mayor del 30%; (2) masa del ion (m/z) seleccionado debe ser preferiblemente alta, puesto que iones con masas pequeñas son comunes para muchas sustancias; (3) el ion seleccionado debe ser estructuralmente representativo de la molécula (Stashenko y Martínez, 2009). Se realizó una revisión bibliográfica de los iones característicos de los CF de estudio, la **Tabla 7** muestra el ion característico o precursor.

**Tabla 7.** Detalles de los CF de estudio, se incluye el uso, el tiempo de retención y los iones característicos.

<i>Compuesto farmacéutico</i>	<i>Iones característicos (m/z)</i>	<i>Tiempo de retención en literatura (min)</i>	<i>Uso</i>
Metoprolol	72 <sup>a,g</sup> , 223 <sup>a,g</sup>	19.15 <sup>a</sup>	Betabloqueador
Carbamazepina	165 <sup>c</sup> , 193 <sup>b,c,g</sup> , 236 <sup>g</sup> , 293 <sup>b,c</sup> 180 <sup>b</sup>	22.01 <sup>c</sup> , 11.38 <sup>b</sup>	Antiepiléptico
Metilfenidato	380 <sup>d</sup> , 385 <sup>d</sup>	5.75 <sup>d</sup>	Neuroestimulante
Metformina	303 <sup>e,f</sup> , 125 <sup>e</sup>	8.01 <sup>e</sup>	Regulador de glucosa

<sup>a</sup>Flores, 2017; <sup>b</sup>Durán-Alvarez et al., 2009; <sup>c</sup>Naing et al., 2015; <sup>d</sup>Leis et al., 2011; <sup>e</sup>Yan et al., 2019; <sup>f</sup>Goedecke et al., 2017; <sup>g</sup>Azzouz et al., 2010



### Proceso de derivatización

Para metoprolol el derivatizante utilizado fue el reactivo de sililación N, O-bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA) + 1% de TMCS (trimetilclorosilano). Se evaluaron dos volúmenes de derivatizante 50  $\mu\text{L}$  y 100  $\mu\text{L}$ , en una concentración baja de 0.1  $\mu\text{g mL}^{-1}$  y 1.0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Las reacciones se evaluaron a 80°C y 70°C, finalmente se consideró el tiempo de reacción de 30, 60 y 90 minutos.

Par la mezcla de metoprolol y carbamazepina, se utilizó el mismo derivatizante BTSFA + 1% de TMCS y el catalizador piridina. Durante las pruebas se evaluó el mismo volumen, pero se cambió el tiempo de reacción en 60, 120, 180 y 240 minutos, el volumen de derivatizante se estableció en 100  $\mu\text{L}$  de BTSFA y 50  $\mu\text{L}$  de piridina, la concentración de los CF fueron los mismos que el procedimiento para solo metoprolol.

### Equipo de trabajo

Un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas, triple cuadrupolo, marca shimadzu, modelo TQ8040 (**Figura 19**) fue utilizado, integrado con una columna marca PerkinElmer Elite 17-ms; 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro y 25  $\mu\text{m}$  de grosor, de polaridad media, con un volumen de inyección de 1  $\mu\text{L}$ . Como fase estacionaria se utilizó una fase compuesta de dimetilpolisiloxano y difenilpolisiloxano y como fase móvil se utilizó el gas acarreador helio con una pureza del 99.999%, en la **Figura 19** se muestra el esquema.



**Figura 19.** Cromatógrafo de gases utilizado en la cuantificación de los CF estudiados.



**Figura 20.** Esquema de los componentes principales que integran el sistema de CG-MS/MS utilizado en la determinación de los fármacos.

### Preparación de la solución estándar para establecer condiciones de trabajo

Para la mezcla, se preparó una solución madre de la mezcla de metoprolol y carbamazepina con concentración de  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ , utilizando metanol como disolvente. Posteriormente, mediante diluciones adicionales de la solución madre estándar con metanol, se prepararon diluciones que van de  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  y  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Las soluciones fueron almacenadas en viales ámbar a  $4^\circ\text{C}$ .

Una vez que se realizaron soluciones con la concentración estándar de  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  se procedió a establecer las condiciones de operación del CG-MS/MS, realizando las corridas en el equipo.

### Condiciones de operación del equipo

El equipo utilizado es un cromatógrafo de gases acoplado al detector selectivo de masas tándem con analizador de triple cuadrupolo, es decir, tres cuadrupolos acoplados en serie. Uno de los cuadrupolos actúa como una cámara de colisiones. De acuerdo con la configuración del detector de triple cuadrupolo, el equipo puede operar en diferentes modos de monitoreo: barrido completo (*Full Scan*), monitoreo de iones seleccionados (SIM, *selected Ion Monitoring*), barrido de ion producto (*Product Ion Scan*), barrido de ion precursor (*Precursor Ion Scan*), barrido de



fragmento neutro (*Neutral Loss Ion Scan*), monitoreo de reacciones múltiples (MRM, *Multiple reaction monitoring*) y *dinamic* MRM.

Para desarrollar el método se debe de configurar el detector selectivo de masas de triple cuadrupolo. El procedimiento para establecer los parámetros del espectrómetro de masas es el siguiente:

#### Análisis cualitativo y cuantitativo

El método se inició con la detección de los compuestos farmacéuticos mediante un análisis cualitativo el cual consiste en identificar la presencia de los fármacos por medio del tiempo de retención y los iones característicos. El análisis cualitativo es el primer paso realizado en el reconocimiento de los iones, se trabajó en modo *Full Scan (barrido completo)*, realizando un barrido estándar de todos los iones presentes desde 40 a 400 m/z, obteniendo los iones característicos del metoprolol y carbamazepina. El rampeo de temperatura se realizó de forma suave para identificar la temperatura y el tiempo que se establecerá para el desarrollo del método.

Posteriormente, se realizó el análisis cuantitativo a través del modo SIM (*Selected Ion Monitoring*), se programó uno de los cuadrupolos para dejar pasar solo iones típicos y específicos del analito que fueron previamente seleccionados. Este modo de detección selecciona un ion o un conjunto de iones, lográndose una alta especificidad en la detección eliminando señales que podrían originarse por otros compuestos presentes de la muestra. Se basa en la comparación del área del pico del analito con la concentración conocida de los estándares.

#### Barrido de ion producto (Product Ion Scan)

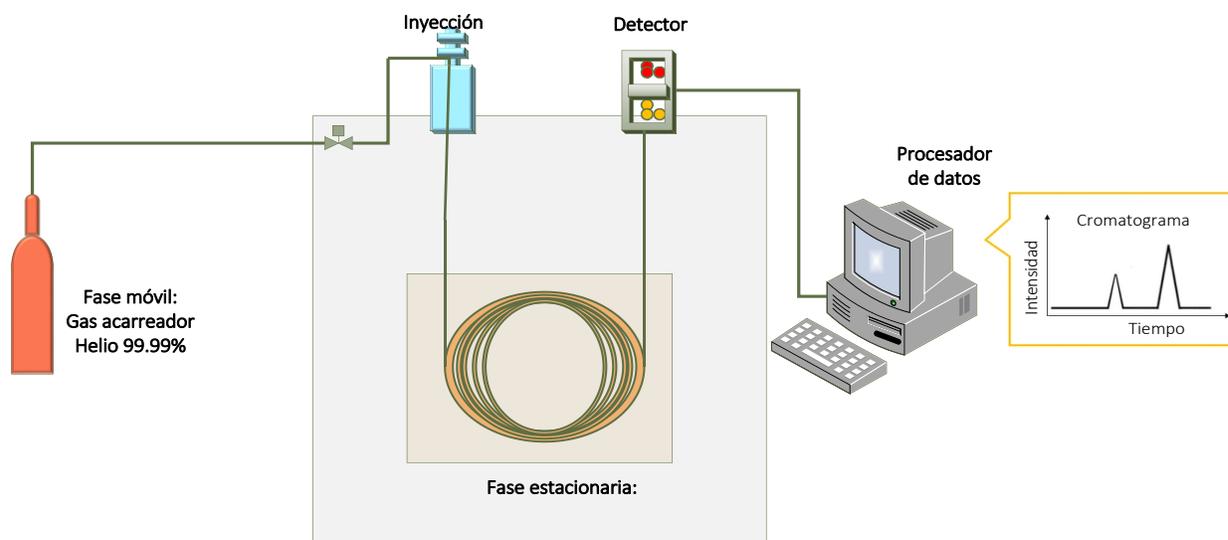
El ion precursor o ion padre se selección en el Q1 (MS1) y se transfiere al Q2 (cámara de colisiones activadas), donde interactúa con el gas de colisión, y el gas ionizado de He, promoviendo la fragmentación del ion para generar los iones productos o iones hijos. Los fragmentos son entonces escaneados en el Q3 (MS2). Esto da como resultado un fragmentograma típico de un análisis tandem MS/MS. El monitoreo de iones producto sirve como un paso útil en el desarrollo del método MRM o en el caso donde se intenta elucidar la estructura de un ion precursor (IDEAM, 2017).

Para determinar estos iones se ingresó la masa de los iones que desea escanear el Producto Ion Scan. También, se registró la energía de colisión (CE, eV) para realizar la fragmentación en la cámara de colisiones, es decir, se identifica los voltajes para obtener el ion precursor.

#### Monitoreo de reacciones múltiples (MRM, Multiple reaction monitoring).

MRM es conocido como la herramienta final de análisis de compuestos. En este modo de adquisición se seleccionó el ion precursor de la carbamazepina y

metoprolol, el ion fue fragmentado y se seleccionó un ion proveniente de la fragmentación. De este modo, solo los iones producto generados por la fragmentación del ion precursor son detectados. El monitoreo de la reacción del ion precursor e ion producto, permite confirmar la presencia del analito en mezclas complejas. Se trabajó siguiendo el mismo rampeo establecido en el SCAN y con los voltaje e iones identificados anteriormente (**Figura 21**).



**Figura 21.** Condiciones de operación del CG-MS con triple cuadrupolo.

### Curva de calibración y linealidad

La curva de calibración para el metoprolol, se realizó en un rango de concentraciones de 0.01 a 6 mg L<sup>-1</sup>, a partir de la solución estándar de 1 µg mL<sup>-1</sup>, se preparó en viales de 2 ml a un volumen final de 1 ml con metanol.

La linealidad se obtuvo realizando una curva de calibración a concentraciones de 0.01, 0.1, 0.5, 2.0, 4.0, 6.0 mg L<sup>-1</sup>. Posteriormente, se efectuó un análisis de regresión lineal graficando el área de cada fármaco (y) contra su concentración (x = mg/L). Esperando obtener un coeficiente de regresión (R<sup>2</sup>) superior al 0.99. Para elaborar las curvas de calibración, se preparan estándares de calibración a partir de la solución estándar deseada, posteriormente se lleva a cabo la derivatización del compuesto. El análisis de cada punto se realizó por triplicado y se graficó la media de las áreas de los picos, Un método es lineal cuando existe una relación directamente proporcional entre la respuesta obtenida cuando se aplica el método y la concentración del analito dentro del rango de trabajo. Se utiliza como criterio de linealidad un coeficiente de correlación lineal elevado (Flores, 2017).

Esta metodología se retomará para realizar la curva de calibración de la mezcla de metoprolol y carbamazepina.

### Acondicionamiento y extracción en fase sólida

Para la extracción utilizó cartuchos Oasis HLB marca Waters de 6 cc, empacados con 200 mg de polidivinilbenceno-co-N-vinilpirrolidona (características de retención hidrofílicas y lipofílicas y pueden ser usado para retener compuestos polares y no polares). El cartucho se acondicionó con 3 volúmenes de metanol y 2 volúmenes de agua HPLC. Una vez acondicionados los cartuchos, 500 ml de las muestras se pasó por los cartuchos a través de vacío utilizando un manifold, Por último, se llevó a sequedad a vacío durante 30 minutos para eliminar por completo la humedad (**Figura 22**).



(a)

(b)

**Figura 22.** (a) Muestras provenientes de los experimentos, (b) Extracción en fase sólida de las muestras.

### Elución

La elución de los compuestos retenidos en el cartucho se realizó agregando 1ml de metanol grado HPLC los cuales pasaron por gravedad, hasta obtener un volumen final del 4 ml. Después se concentró mediante un flujo suave de N<sub>2</sub> para su posterior derivatización (**Figura 23**).



(a)



(b)

**Figura 23.** (a) Proceso de elución, (b) concentración de las

### Validación del método cromatográfico

La validación del método analítico para la determinación de los CF en agua se realizó de acuerdo con los estándares del Laboratorio de Calidad del Agua del IMTA y de acuerdo con las directrices de la ICH (International Council on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, European Medicines Association, 1995).

Los parámetros de validación del método analítico fueron la linealidad, precisión, límites de cuantificación, límites de detección, exactitud y selectividad.

- **Linealidad:** se expresan mediante el análisis de regresión lineal de las curvas de calibración (área de la señal contra concentración) determinando el factor de correlación.
- **Precisión:** se determinan mediante la desviación estándar de siete muestras a tres diferentes concentraciones.
- **Exactitud:** se estima obteniendo los porcentajes de recuperación después de la extracción en fase sólida de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{concentración promedio cuantificada}}{\text{concentración teórica}} 100$$

Se acepta una variación del  $\pm 20\%$  en la recuperación del compuesto después de la extracción en fase sólida.

- **Selectividad:** se evaluó comparando los tiempos de retención y los cromatogramas de los compuestos antes del tratamiento, con muestras después de cierto tiempo de reacción en el sistema electroquímico.
- **Límites de detección (LDD) y límites de cuantificación (LDC):** el LDD se define como la menor concentración de un compuesto que puede diferenciarse del ruido de fondo de los cromatogramas. El LDC es la cantidad más baja del compuesto que puede determinarse cuantitativamente con precisión y exactitud. Los LDD y LDC se cuantifican a partir de las siguientes ecuaciones:

### Límite de detección

$$LDD = t \sigma$$

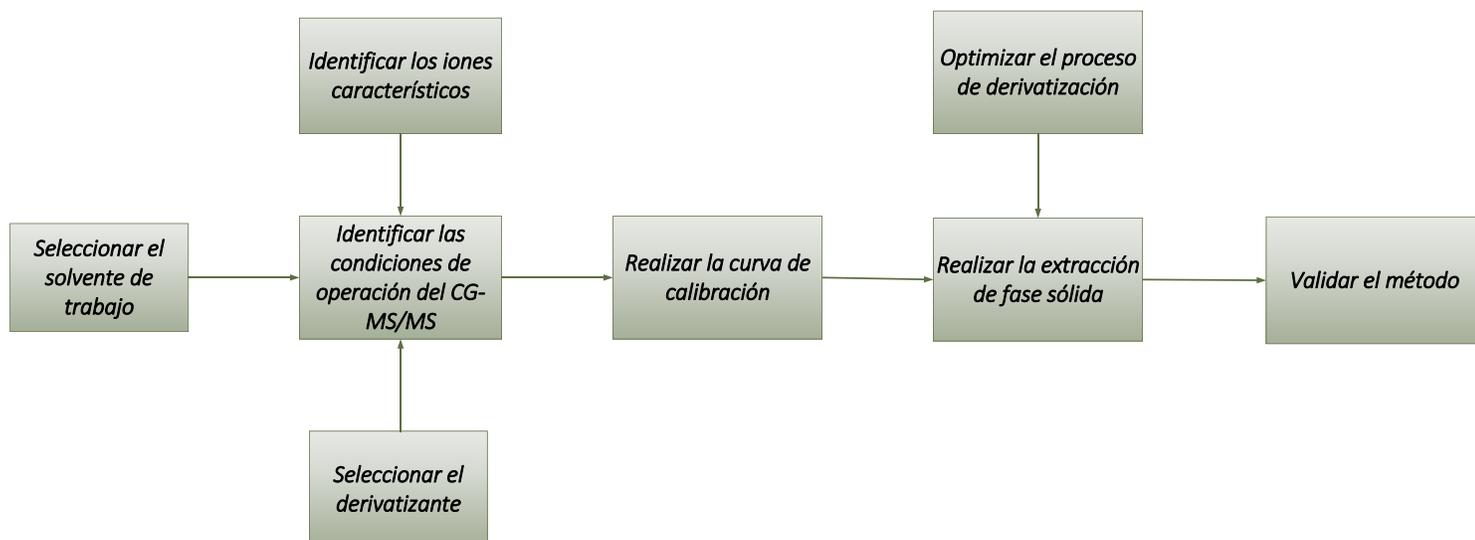
Dónde t es el valor de la t de student para n-1 muestras con un 99 % de confianza y  $\sigma$  es la desviación estándar de las concentraciones determinadas en el equipo.

### Límite de cuantificación

$$LDC = 10 \sigma + X$$

Donde  $\sigma$  es la desviación estándar y X es el promedio de la concentración de las n muestras.

La metodología general que se sigue para desarrollar los métodos para cuantificación de fármacos se indica en la **Figura 23**.

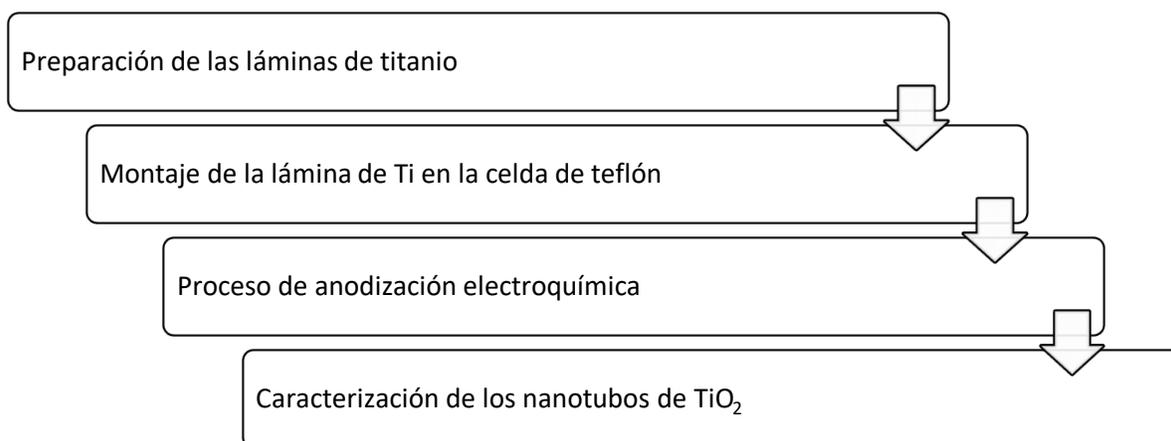


**Figura 23.** Pasos por seguir para implementar una técnica de cuantificación de CF.

## 4.2. Fotooxidación catalítica

### 4.2.1. Síntesis y caracterización de los nanotubos en placas de titanio

La síntesis de nanotubos de  $\text{TiO}_2$  se realizó en el Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas (CIICAp), siguiendo la metodología desarrollada por Cuevas et al (2017). El procedimiento se indica en la **Figura 24**.



**Figura 24.** Procedimiento por seguir para la síntesis de NT- $\text{TiO}_2$

#### 4.2.1.1. Material y equipo

El material y equipo utilizado para la síntesis y caracterización de las estructuras nanotubulares se indica a continuación:

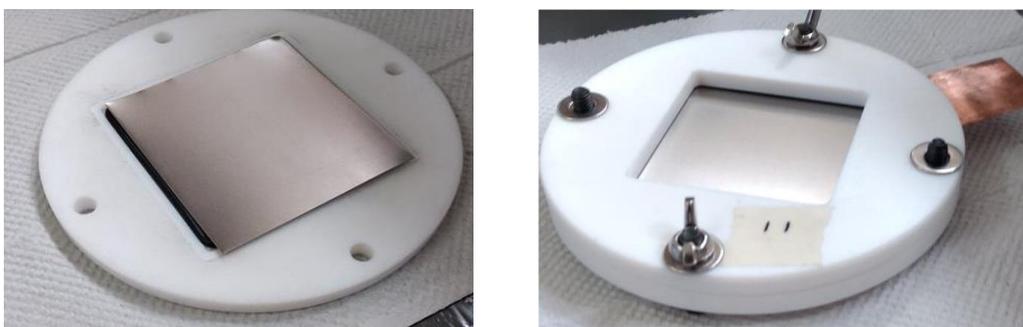
##### Listado de material y equipo utilizado en la síntesis de NT- $\text{TiO}_2$

- Lamina de Ti (99.7% de pureza y 0.25 mm de espesor). Sigma Aldrich.
- Contraelectrodo de Pt (CE).
- Celda de teflón.
- Glicerol anhidro ( $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ ) pureza 99.9 %, J.T Baker.
- Alcohol metílico ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), pureza 99.6 %, Fermont.
- Agua desionizada (DI).
- Alcohol etílico ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ), pureza 99%, J.T Baker.
- Fluoruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{F}$ ) pureza 99.9 %, Aldrich Chemistry.
- Soporte universal
- Campana de extracción
- Limpiador ultrasónico, BRASON
- Fuente de poder Tektronix PWS 4721

- Mufla, FELISA FE-361.
- Microscopio de alta resolución, FE-SEM Tescan.
- Difractómetro de rayos x, Buker AXS D8 ( $\lambda_{Co}=1.5406 \text{ \AA}$ ).

#### 4.2.1.2. Preparación de láminas de Titanio

La celda de teflón está constituida por una base y una tapa. En la base se coloca la lámina de Ti (electrodo de trabajo) que hace contacto con una laminilla de cobre y un oring. La tapa se coloca sobre la base la cual tienen un espacio que es utilizado para contener el electrolito de trabajo (**Figura 25**). Este arreglo se utilizó en todo el proceso de la síntesis de los nanotubos.



**Figura 25.** Partes de la celda de teflón. a) base con lamina de titanio. b) ensamble de la celda.

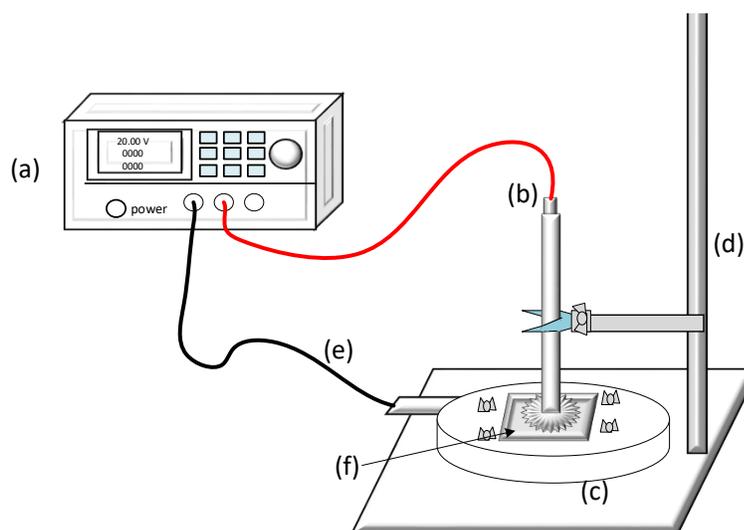
#### 4.2.1.3. Proceso de anodización electroquímica

Para realizar la síntesis de los nanotubos de  $TiO_2$  se utilizó una celda de teflón, un electrólito y un contraelectrodo conformado por una malla de platino. El electrodo de trabajo (lamina de Ti) se conecta al polo positivo de la fuente de poder y el contraelectrodo se conecta al polo negativo (electrodo de Pt). En la **Tabla 8** se presentan los parámetros considerados en el proceso de anodización para las películas.

El sistema de anodización se ilustra en la **Figura 26**, cabe señalar que se llevó a cabo en el laboratorio de materiales del CIICAp. Después de la anodización se enjuaga la lámina de titanio con agua desionizada para quitar el electrolito, después, se seca con un flujo suave de aire.

**Tabla 8.** Parámetros considerados en el proceso de anodización para las películas

<i>Condiciones de trabajo</i>	<i>Parámetro</i>
Tiempo de anodización	2:20 h (láminas sin pulir) 2:30 (láminas pulidas)
Potencial	20 V
Electrolito orgánico	50% Vol. Glicerol+ 50% Vol. H <sub>2</sub> O+NH <sub>4</sub> F
Concentración del electrolito	0.27 M

**Figura 26.** Representación esquemática del proceso de anodización electroquímica. (a) fuente de poder, (b) electrodo de Pt (cátodo), (c) celda electrolítica, (e) electrodo de trabajo (ánodo), (f) lámina de Ti.

Las placas sintetizadas (16 placas) se sometieron a tratamiento térmico, utilizando una mufla FELISA FE-361, la temperatura de trabajo fue de 550° C por un tiempo de 2 horas (**Figura 27**). El objetivo es la cristalinidad del óxido y la transformación a las fases de anatasa y rutilo. Posteriormente a este proceso, las muestras se dejaron enfriar durante 24 horas.



**Figura 27.** Tratamiento térmico. a) Mufla, b) placas sintetizadas dentro de la mufla.

#### 4.2.1.4. Caracterización físico-química

La caracterización física se refiere a la morfológica de las películas nanotubulares de  $\text{TiO}_2$  en su sección transversal y superior, mientras que la caracterización química de las películas tiene como objetivo conocer las fases cristalinas formadas.

Análisis morfológico: Posterior al tratamiento térmico, se realizó el análisis de las placas sintetizadas para conocer las características morfológicas superficiales y transversales, además de la geometría presente en los NT- $\text{TiO}_2$ , empleando un Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo (FE-SEM por sus siglas en inglés) marca Hitachi, modelo SU5000 (**Figura 28**). Las micrografías obtenidas proporcionaron información de la estructura del óxido anódico del Ti formado en la placa, tales como: la longitud, diámetro y espesor de pared, de acuerdo con la geometría de los nanotubos formados de  $\text{TiO}_2$ .



**Figura 28.** FE-SEM utilizado en la caracterización de las películas nanotubulares de trabajo.

Análisis de fases cristalinas de  $\text{TiO}_2$ : La composición química de las películas se determinó mediante la técnica de difracción de rayos X (XRD) y se realizó para identificar las fases cristalinas de las estructuras nanotubulares, se utilizó un difractómetro de rayos X modelo Phaser Bruker D2 (**Figura 29**).



**Figura 29.** Difractómetro utilizado en el análisis de las fases cristalinas.

El proceso completo de la síntesis de nanotubos de  $\text{TiO}_2$  se esquematiza en la **Figura 30**. Con este método se obtuvieron un total de 16 láminas con estructura nanotubular.



**Figura 30.** Metodología de la técnica de anodización electroquímica y análisis de las placas de nanotubos de  $\text{TiO}_2$ .



### **4.3. Pruebas experimentales con el reactor fotocatalítico**

El reactor fotocatalítico se trabajó con una solución de agua sintética, esta solución consistió en una mezcla de dos compuestos farmacéuticos: el metoprolol y la carbamazepina.

#### **4.3.1. Reactivos y materiales**

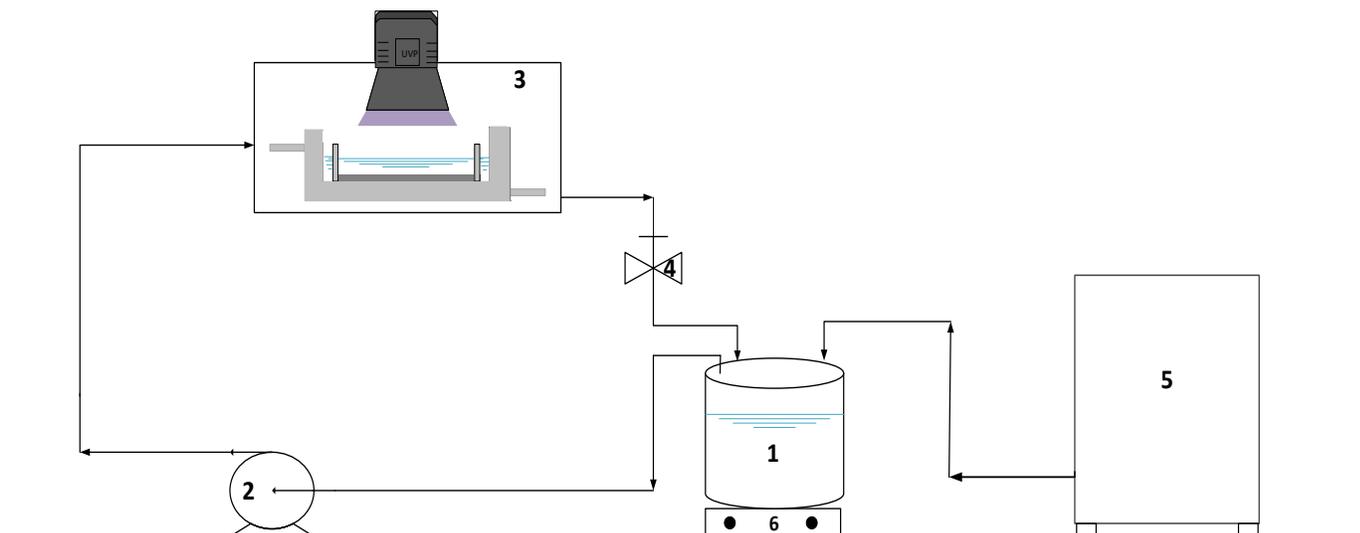
El metoprolol y la carbamazepina utilizados en los experimentos fueron de grado reactivo y marca Sigma-Aldrich con un 99% de pureza. Los solventes utilizados para la preparación de la solución madre y estándar para el proceso de extracción en fase sólida son metanol y agua grado HPLC. Los cartuchos para la extracción en fase sólida (EFS) fueron marca Oasis (Waters) HLB (hydrophilic-lipophilic-balance) con 60 mg de material sorbente. Para el proceso de concentración de los fármacos se utilizó N<sub>2</sub> gaseoso (ultra alta pureza, 99.999%).

#### **4.3.2. Equipo**

- Reactor fotocatalítico provisto de placas nanotubulares.
- Sistema de colector de vacío para cartuchos de extracción en fase sólida marca Thermo Scientific para procesar 24 muestras (Manifold).
- Horno de convección, modelo redLINE RE 115, marca Binder.
- Concentrador de oxígeno, modelo aerous, marca ClearWater Tech, LLC.
- Bomba peristáltica, marca MasterFlex.
- Concentrador de muestras, minivap.

#### **4.3.3. Sistema experimental**

El sistema experimental estaba constituido por un reactor fotocatalítico (RF), una bomba peristáltica, un depósito para almacenar la solución sintética de trabajo y un concentrador de oxígeno. Este sistema permitió realizar los experimentos de degradación de los compuestos farmacéuticos y estuvo operado de manera intermitente con recirculación continua del flujo, usando una bomba peristáltica, permitiendo obtener una solución completamente mezclada y homogénea dentro del reactor fotocatalítico. La configuración experimental se muestra en la **Figura 31**, el reactor fotocatalítico es de acero inoxidable con un área útil de 30 cm × 30 cm, la altura es de 4 cm, al fondo del reactor se encuentran depositadas las 16 placas con estructura nanotubular.

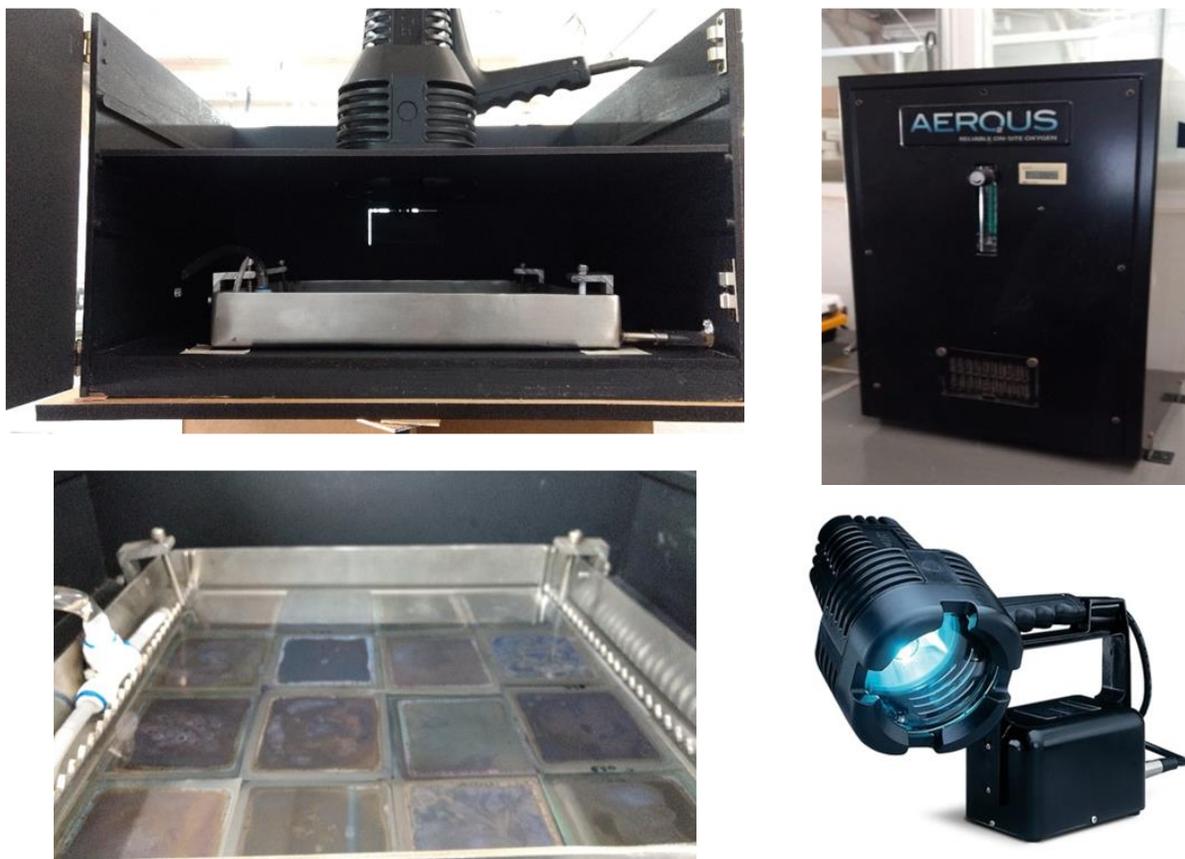


**Figura 31.** Diagrama del sistema experimental. (1) Depósito de 2L, (2) bomba peristáltica, (3) reactor fotocatalítico, (4) válvula de muestreo, (5) concentrador de oxígeno, (6) agitación magnética.

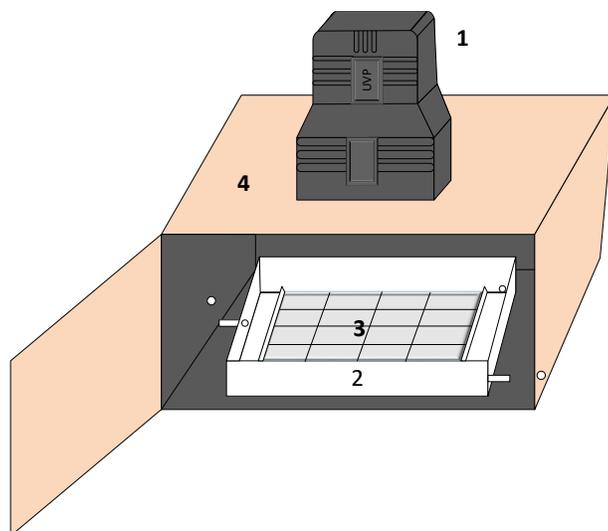
En la **Figura 32** se muestran los componentes del sistema experimental, se aprecian las placas nanotubulares, la lámpara UV y el concentrador de oxígeno.

La solución sintética se encuentra depositada en un vaso de precipitado de vidrio de 2.0 L de capacidad y provista de un agitador magnético. El oxígeno se suministró por el fondo del depósito de solución sintética a tres diferentes velocidades de flujo. Una válvula de tres vías se integró después del RF para realizar el muestreo.

El reactor fotocatalítico se encuentra ubicado dentro de una caja de madera en la que se instaló una lámpara UV,  $\lambda=365$  nm, 100 W (modelo UVP) a tres alturas diferentes (10, 12 y 15 cm), la base donde se instaló la lámpara se fabricó en madera y no está sujeta, esto permitió moverla a diferentes alturas. Estudios realizados con diferentes alturas de la lámpara se utilizaron para degradar CBZ y colorantes (Carabin et al 2015; Farghali et al., 2016). La caja de madera tiene una base de 50 x 40 cm y una altura total de 25 cm (**Figura 33**).

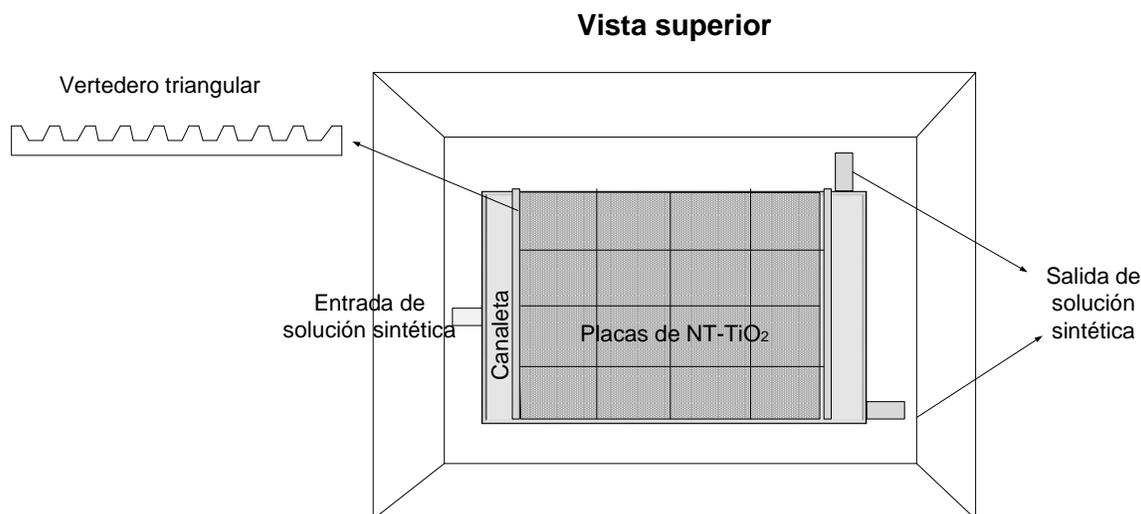


**Figura 32.** Sistema experimental y sus componentes.



**Figura 33.** Representación esquemática del reactor fotocatalítico. (1) lámpara UV, (2) reactor fotocatalítico, (3) placas NT-TiO<sub>2</sub>, (4) cámara de fotólisis.

En las laterales de la base del reactor se instalaron dos canaletas, una de distribución del flujo del agua por tratar en la entrada al reactor y otra de recolección del agua en la salida del reactor (**Figura 34**), ambas con vertederos triangulares que permitirán tener una distribución homogénea del agua sobre la nanopelícula (Khataee et al., 2009).



**Figura 34.** Vista superior del reactor fotocatalítico.

#### 4.3.4. Procedimiento experimental

La solución de agua sintética de trabajo se estableció en  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ , esta concentración se eligió de acuerdo con las concentraciones típicas registradas por varios autores en efluentes de PTAR (Luo et al., 2014; Balakrishna et al., 2017; Jurado et al., 2014; Miège et al., 2009). Tal y como se indica en la **Figura 31**, a esta solución ubicada en el recipiente (1), se le proporcionó oxígeno proveniente del concentrador (5) para evitar la recombinación del par electrón-hueco y favorecer las especies reactivas de oxígeno, esta solución se condujo a través de una bomba peristáltica (2) al reactor fotocatalítico (3). La velocidad del flujo se mantuvo constante en todos los experimentos, esto con el fin de asegurar que exista una distribución adecuada de la solución sobre todas las películas nanotubulares, se trabajó a un flujo de  $315 \text{ ml min}^{-1}$ . La temperatura se mantuvo entre los  $20\text{-}25^\circ\text{C}$  (temperatura ambiente), estudios previos indican que al aumentar la temperatura la adsorción de los reactantes comienza a ser desfavorable y podría limitar la velocidad de adsorción, haciendo la fotodegradación menos eficiente, también, disminuye la solubilidad del oxígeno y



la adsorción del oxígeno, facilitando la recombinación de la fotogeneración  $e^-/h^+$ , reduciendo el rendimiento del fotocatalizador (Canle et al., 2017).

Sobre el fondo del reactor fotocatalítico se colocaron las 16 placas sintetizadas, el tirante de agua sobre la nanopelícula se varió en tres niveles, en 1 cm, 1.5 cm y 2 cm, utilizando 3 diferentes regletas. El reactor fotocatalítico se colocó dentro de una caja de madera que sirvió como mecanismo de contención de los rayos UV y para obtener una dispersión adecuada de la luz sobre la nanopelícula. Para los experimentos de fotólisis y fotocátalisis se utilizó una lámpara de 100 W,  $\lambda = 365$  nm, colocada al centro de la caja de madera y variando la altura con respecto a las nanopelículas. El volumen de trabajo se estableció en 2.5 litros.

La toma de muestras se llevó a cabo una antes de cada experimento para conocer la concentración de los compuestos antes de la fotodegradación (experimentos de adsorción y fotólisis y otra toma de muestra se efectuó una vez realizado el proceso de fotodegradación, los experimentos de adsorción y fotólisis, para conocer la concentración final de cada compuesto farmacéutico. El tiempo de trabajo del reactor se estableció siguiendo el diseño de experimentos formulado y tomado como base la literatura.

#### **4.3.4.1. Experimentos en el reactor**

Los experimentos realizados nos permitirán evaluar la remoción de los CF, el efecto de las variables sobre el proceso, la adsorción de los CF en la película, la influencia de la luz UV y del resto de las variables del proceso, así como estimar el tiempo de reacción y determinar la cinética de degradación, los subproductos y la toxicidad del agua, así como elucidar los mecanismos de degradación.

##### **4.3.4.1.1. Experimento de adsorción**

En el primer experimento realizado se trabajó con la mezcla de los dos compuestos (metoprolol y carbamazepina,  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ ), esta solución sintética se pasó a través del RF en condiciones de oscuridad y con la película nanotubular de  $\text{TiO}_2$ , se tomaron muestras en tres intervalos del tiempo (al inicio, 60 minutos y al final) para obtener el porcentaje de adsorción del compuesto sobre la nanopelícula. La concentración del fármaco se evaluará en esos tres tiempos de muestreo. En la **Tabla 9** se indican las condiciones establecidas en el experimento de adsorción. La adsorción en  $\text{TiO}_2$  se ha estudiado anteriormente, obteniéndose que solo un 15% del compuesto metformina se había adsorbido después de un tiempo de equilibrio de 240 minutos (Nezar et al., 2018).

**Tabla 9.** Condiciones establecidas en el experimento de adsorción.

<i>Condiciones de trabajo</i>	<i>Parámetro</i>
<b>Placas fotocatalíticas</b>	<b>Presentes en el reactor</b>
<b>Tiempo de trabajo (minutos)</b>	<b>120, 180</b>
<b>pH</b>	<b>3</b>
	<b>9</b>
	<b>7</b>
<b>Tirante de agua (cm)</b>	<b>1</b>
<b>Oxígeno (L min<sup>-1</sup>)</b>	<b>4</b>
<b>Irradiación (cm)</b>	<b>Sin irradiación</b>

**4.3.4.1.2. Experimento de fotólisis**

Este experimento se realizó en presencia de luz UV, utilizando la lámpara de 100 W ( $\lambda=365$  nm), pero sin la película nanotubular de TiO<sub>2</sub> y con la mezcla de los compuestos farmacéuticos. Las condiciones de trabajo de los experimentos de adsorción se integran en la **Tabla 10**, se determinarán las concentraciones de los CF al inicio, a los 60 minutos y 120 minutos de cada experimento. La fotólisis es un proceso con degradaciones menores a las obtenidas por fotocatalisis, además de presentar tasas de degradaciones lentas, lo que nos indica que existe riesgo de acumulación de este contaminante en aguas superficiales (Qourzal et al., 2008).

**Tabla 10.** Condiciones establecidas en el experimento de adsorción.

<i>Condiciones de trabajo</i>	<i>Parámetro</i>
<b>Placas fotocatalíticas</b>	<b>Ausentes</b>
<b>Tiempo de trabajo (minutos)</b>	<b>120</b>
<b>pH</b>	<b>3</b>
	<b>9</b>
	<b>7</b>
<b>Tirante de agua (cm)</b>	<b>1</b>
<b>Oxígeno (L min<sup>-1</sup>)</b>	<b>4</b>
<b>Irradiación (cm)</b>	<b>10</b>



#### **4.3.4.1.3. Experimentos de preliminares**

Las variables de proceso seleccionadas para este estudio son: tiempo de la oxidación fotocatalítica (tiempo de tratamiento o trabajo), pH, la irradiación, el tirante del agua en el RF y el flujo del oxígeno (o la concentración del oxígeno disuelto).

El pH se evaluó dado que puede influir en la concentración de los compuestos orgánicos en solución y en la carga superficial del  $\text{TiO}_2$  debido a su comportamiento anfótero (Bessergenev, et al., 2017) el pH se varió entre pH 3 y 9. Algunos autores han evaluado el pH desde 3 hasta 12 (Palominos et al., 2008; Mei et al., 2004; Bessergenev et al., 2017). Este parámetro permitirá conocer cómo afecta en la degradación de los fármacos y nos ayudará estimar el valor de pH con el que se trabajará. La luz incidente determina la fotogeneración de pares electrón-hueco y la formación de radicales hidroxilos. La irradiación promueve la fotólisis del agua y la reducción de oxígeno para producir  $\cdot\text{OH}$  y otras especies de oxígeno reactivo en la superficie del catalizador (Ling et al., 2004). El oxígeno disuelto en el agua aumenta la eficiencia fotocatalítica en parte atribuida a la inhibición de la recombinación del electrón-hueco. Debido a la concentración limitada de  $\text{O}_2$  disuelto en una solución acuosa el burbujeo de aire es la forma más simple de suministrar suficiente cantidad de  $\text{O}_2$ . La solubilidad de oxígeno es limitada en solución, por lo tanto, la tasa de burbujeo de aire proporcionaría turbulencia y oxígeno disuelto en la solución. Se evaluaron dos niveles de OD y se realizará otros experimentos en ausencia de oxígeno. De manera experimental y sin pruebas anteriores se varió el tirante de agua, de esta forma se pretende conocer cómo influye la irradiación cuando se aumenta el volumen de agua en el RF.

El objetivo de las pruebas preliminares es seleccionar el intervalo de variación de los valores de cada variable para la evaluación del efecto de las variables mediante un diseño experimental y establecer el tiempo de tratamiento.

#### **4.3.4.1.4. Experimentos para determinar el tiempo de tratamiento**

Como primer paso fue empezar con la estimación del tiempo de tratamiento, el cual se establecerá como condición de trabajo durante cada experimento en el RF. Los experimentos se realizaron con la mezcla de la solución sintética de metoprolol y carbamazepina ( $5 \mu\text{g L}^{-1}$ ), luz UV y placas fotocatalíticas, el volumen de trabajo fue de 2.5 L y se tomaron 3 muestras, al inicio, cada hora y al final del experimento. La duración del experimento fue de 120 para experimentos a pH 3 y 9, 180 minutos para pH neutro. Se evaluará la concentración de los fármacos utilizando CG-MS/MS.



La estimación del tiempo de tratamiento se realizó en las condiciones presentadas en la **Tabla 11**.

**Tabla 11.** Condiciones establecidas en el experimento de adsorción.

<i>Condiciones de trabajo</i>	<i>Parámetro</i>
Placas fotocatalíticas	Presentes en el reactor
Tiempo de trabajo (minutos)	120 , 180
pH	3
	9
	7
Tirante de agua (cm)	1
Oxígeno (L min <sup>-1</sup> )	4
Irradiación (cm)	10

#### 4.3.4.1.5. Evaluación del efecto de las variables del proceso sobre la degradación de los compuestos farmacéuticos en estudio

Los efectos de las variables del proceso sobre la remoción de los CF en el RF se estudiaron utilizando un diseño factorial 2<sup>K</sup>, el número de experimentos que se realizaron son 25= 32 experimentos más 6 duplicados escogidos al azar, dando un total de 38 experimentos elaborados. Se tomaron dos muestras, al inicio y al final de cada experimento, para posteriormente medir la concentración del fármaco como parámetro de respuesta.

En la **Tabla 12** se indican los valores de cada parámetro que se consideraron en las pruebas realizadas. Los parámetros considerados en los experimentos se tomaron con base en la búsqueda bibliográfica realizada (**Tabla 13**). Los datos experimentales se analizarán con ayuda de un Software estadístico (Statgraphics) para realizar el análisis de varianza y obtener la gráfica de Pareto que nos ayudará a identificar los factores de influencia significativa del proceso. Para analizar el proceso se seguirá el método de superficie de respuesta (MSR) usando un diseño experimental central compuesto (DCC).

**Tabla 12.** Intervalo experimental y niveles de las variables independientes.

Variable ( $x_i$ )	Descripción	Intervalo experimental		$x_{i,0}$
		Min. Valor (-1)	Max. Valor (+1)	
X1	Tiempo de tratamiento (minutos)	60	120	90
X2	pH	3	9	6
X3	Flujo de oxígeno (L min <sup>-1</sup> )	2	4	3
X4	Tirante de agua sintética (cm)	1	2	1.5
X5	Altura de la irradiación (cm)	10	20	15

Nota:  $x_{i,0}$  representa los puntos al centro del diseño de experimentos

**Tabla 13.** Factores e intervalos de trabajo realizados en otros estudios de degradación.

Variable	Propuesto	Referencia
Tiempo de tratamiento (minutos)	60, 120, 200	Ling et al., 2004; Sayed et al., 2016; Czech Y Buda., 2015; Murgolo et al., 2015
pH	3,6,9	Bessergenevet et al., 2017; Mei et al., 2004
Flujo de oxígeno (L min <sup>-1</sup> )	3.0, 0.15, 0	Sin et al., 2011; Mei et al., 2004
Tirante de agua sintética (cm)	1, 1.5, 2	Sin referencias, se propone para el sistema experimental
Irradiación (mWcm <sup>-2</sup> )	5, 1.5, 1.6	Mei et al., 2004., Cuevas et al., 2017., Carabin et al., 2016

En la **Tabla 14** se muestra el diseño de experimentos que se utilizó en la fase experimental, es un diseño factorial completo  $2^k=2^5= 32$  experimentos. Éste diseño integra los experimentos que nos indicarán simultáneamente los efectos que tienen  $k$  factores sobre una respuesta y sus interaccionan entre ellos.

**Tabla 14.** Matriz de Diseño factorial 2<sup>5</sup>.

Número de tratamiento	Diseño experimental					Plan experimental				
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	Flujo de O <sub>2</sub> (L min <sup>-1</sup> )	Irradiación (cm)	pH	Tirante de agua (cm)	Tiempo (min)
1	-1	-1	-1	-1	-1	2	10	3	1	60
2	+1	-1	-1	-1	-1	4	10	3	1	60
3	-1	+1	-1	-1	-1	2	20	3	1	60
4	+1	+1	-1	-1	-1	4	20	3	1	60
5	-1	-1	+1	-1	-1	2	10	9	1	60
6	+1	-1	+1	-1	-1	4	10	9	1	60
7	-1	+1	+1	-1	-1	2	20	9	1	60
8	+1	+1	+1	-1	-1	4	20	9	1	60
9	-1	-1	-1	+1	-1	2	10	3	2	60
10	+1	-1	-1	+1	-1	4	10	3	2	60
11	-1	+1	-1	+1	-1	2	20	3	2	60
12	+1	+1	-1	+1	-1	4	20	3	2	60
13	-1	-1	+1	+1	-1	2	10	9	2	60
14	+1	-1	+1	+1	-1	4	10	9	2	60
15	-1	+1	+1	+1	-1	2	20	9	2	60
16	+1	+1	+1	+1	-1	4	20	9	2	60
17	-1	-1	-1	-1	+1	2	10	3	1	120
18	+1	-1	-1	-1	+1	4	10	3	1	120
19	-1	+1	-1	-1	+1	2	20	3	1	120
20	+1	+1	-1	-1	+1	4	20	3	1	120
21	-1	-1	+1	-1	+1	2	10	9	1	120
22	+1	-1	+1	-1	+1	4	10	9	1	120
23	-1	+1	+1	-1	+1	2	20	9	1	120
24	+1	+1	+1	-1	+1	4	20	9	1	120
25	-1	-1	-1	+1	+1	2	10	3	2	120
26	+1	-1	-1	+1	+1	4	10	3	2	120
27	-1	+1	-1	+1	+1	2	20	3	2	120
28	+1	+1	-1	+1	+1	4	20	3	2	120
29	-1	-1	+1	+1	+1	2	10	9	2	120
30	+1	-1	+1	+1	+1	4	10	9	2	120
31	-1	+1	+1	+1	+1	2	20	9	2	120
32	+1	-1	+1	+1	+1	4	20	9	2	120

Una vez determinadas las contribuciones de los factores y sus interacciones en las variables de respuesta, se puede obtener un modelo más elaborado, como un modelo de segundo orden. Por tal motivo, se usó un DCC como siguiente paso con el fin de obtener las mejores condiciones de trabajo de operación del reactor fotocatalítico.



Para esto se realizaron 4 experimentos con puntos al centro, la inclusión de puntos centrales provee una estimación del error experimental y permite verificar que el modelo se ajuste adecuadamente. Se realizarán también 10 experimentos ampliados a puntos centrales que permitirán estimar la curvatura, generando con este un modelo de 2° orden. Estos 14 experimentos se integran en la **Tabla 15**.

**Tabla 15.** Matriz del Diseño Central Compuesto.

Número de tratamiento	Diseño experimental					Plan experimental				
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	Flujo de $O_2$ ( $L\ min^{-1}$ )	Irradiación (cm)	pH	Tirante de agua (cm)	Tiempo (min)
1	0	0	0	0	0	3	15	6	1.5	90
2	0	0	0	0	0	3	15	6	1.5	90
3	0	0	0	0	0	3	15	6	1.5	90
4	0	0	0	0	0	3	15	6	1.5	90
5	$-\alpha$	0	0	0	0	0.6	15	6	1.5	90
6	$+\alpha$	0	0	0	0	5	15	6	1.5	90
7	0	$-\alpha$	0	0	0	3	3	6	1.5	90
8	0	$+\alpha$	0	0	0	3	27	6	1.5	90
9	0	0	$-\alpha$	0	0	3	15	1	1.5	90
10	0	0	$+\alpha$	0	0	3	15	13	1.5	90
11	0	0	0	$-\alpha$	0	3	15	6	0.5	90
12	0	0	0	$+\alpha$	0	3	15	6	2.5	90
13	0	0	0	0	$-\alpha$	3	15	6	1.5	19
14	0	0	0	0	$+\alpha$	3	15	6	1.5	161

#### 4.4. Cinética del proceso, subproductos de degradación y evaluación de la toxicidad aguda

Con las mejores condiciones de trabajo de las variables del proceso se estudiará la cinética de degradación de los CF, se realizarán de forma individual y en mezcla. Adicionalmente, se identificarán los subproductos de degradación y se dará seguimiento a la mineralización de los compuestos, lo cual permitirá elucidar los mecanismos de degradación. También se realizarán pruebas de toxicidad aguda al inicio, durante y al final del proceso de oxidación para establecer el efecto de los subproductos de degradación sobre la toxicidad del agua. Se mantendrá la misma concentración de  $5\ \mu g\ L^{-1}$  tanto en mezcla como para cada compuesto.



## 5. Resultados y discusión

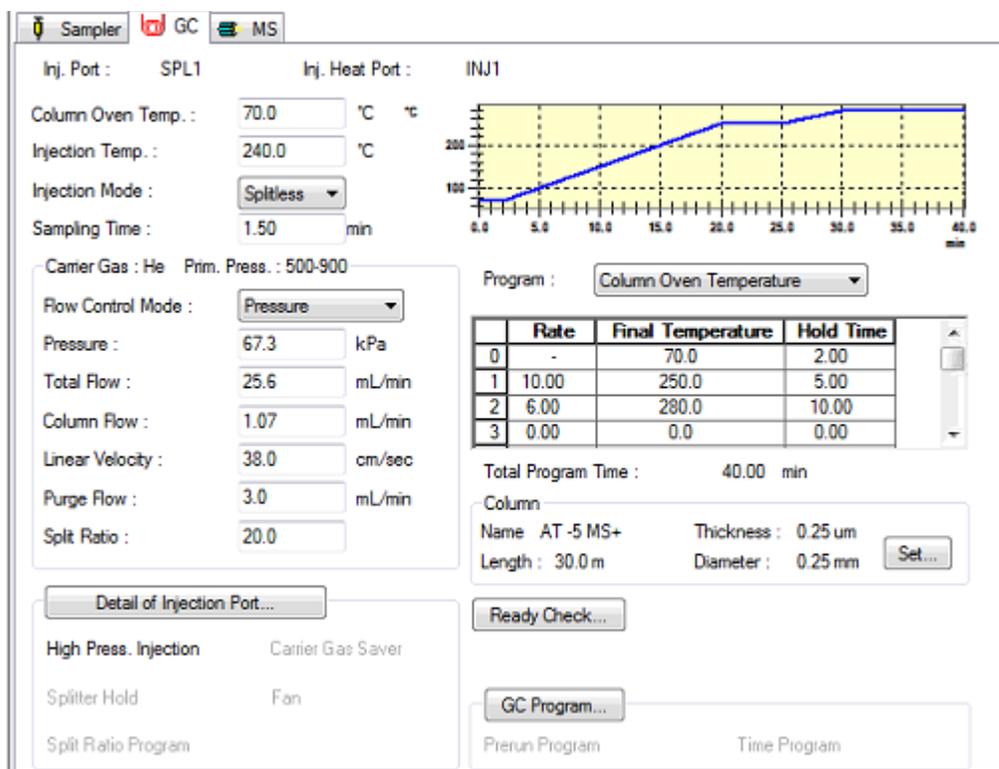
### 5.1. Desarrollo de la técnica analítica que permite la determinación de microcontaminantes emergentes ácidos y neutros sin derivatización de las muestras.

Para el desarrollo de la técnica analítica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en tándem (SPE/GC–MS-MS) sin derivatización se inició con la identificación y la cuantificación de compuestos farmacéuticos (CF) en soluciones estándar. Para ello se usaron una selección de fármacos disponibles los cuales se enumeran en la **Tabla 16**. Se prepararon soluciones madre para cada uno de los 13 compuestos, esto pesando 0.001 g en balanza analítica y diluyendo el peso en 10 mL de metanol (solvente universal) dicha solución se guarda a 0°C en viales ámbar para evitar la degradación por interacción con la luz.

**Tabla 16.** Compuestos farmacéuticos propuestos para su análisis.

AÑO DE ALMACENAMIENTO	FARMACO	CANTIDAD DISPONIBLE	PUREZA
SIGMA 2019	IBUPROFENO	10 g	99.80%
SIGMA 2019	OMEPRAZOL	1 g	99.80%
SIGMA 2019	METOPROLOL	5g	99.80%
SIGMA 2019	PROPANOLOL	10g	99.80%
SIGMA 2019	ACIDO CLORFIBRICO	250mg	99.80%
SIGMA 2020	METOPROLOL	100 mg	99.80%
SIGMA 2020	ACIDO MEFENAMICO	50g	99.80%
SIGMA 2020	DICLOFENACO	20.1 g	99.80%
SIGMA 2020	GENFIBROCIL	5.1g	99.80%
SIGMA 2020	NAPROXENO	5.25 g	99.80%
SIGMA 2020	INDOMETACINA	5.5 g	99.80%
SIGMA 2020	GFENOFIBRATO	100 mg	99.80%
SIGMA 2020	FENOPROFENO	5g	99.80%
SIGMA 2020	IBUPROFENO	1 g	99.80%
SIGMA 2020	BISOPROLOL	25 mg	99.80%
SIGMA 2020	ACIDO CLORFIBRICO	100 mg	99.80%
SIGMA 2020	FENOFIBRATO	5 g	99.80%

Partiendo de las soluciones madres se realiza una dilución 1:10 para obtener una concentración de  $1\mu\text{g/mL}$  en un vial de 2 mL los cuales son puestos en el muestreador y analizados con el cromatógrafo GCMS-TQ8040 mediante el método Q3 SCAN utilizando la columna capilar disponible: Elite 5mS, 0.25mm x 0.25m x 30m, el método consta de un tiempo de corrida de 40 minutos partiendo de un rampeo suave a  $70^\circ\text{C}$  y finalizando en  $280^\circ\text{C}$  tal como se muestra en la **Figura 35**.



**Figura 35.** Condiciones cromatográficas aplicadas a la columna en la sección de gases.

Para el reconocimiento de iones se utilizó un cuadrupolo (Q3) y la ventana de búsqueda fue de 150 a 350 M/Z(masa carga), tal y como se presenta en la **Figura 36**, esto derivado de los pesos moleculares de cada compuesto y buscando iones de tamaño grande para evitar falsos positivos. Las **Figuras 37 a la 44** muestran los cromatogramas y porcentajes de similitud en la biblioteca de compuestos del equipo para cada uno de los iones obtenidos, siendo estos detectados omitiendo la etapa de derivatización y tratándose de compuestos de una polaridad relativamente baja: fenofibrato, ibuprofeno, diclofenaco y carbamazepina.

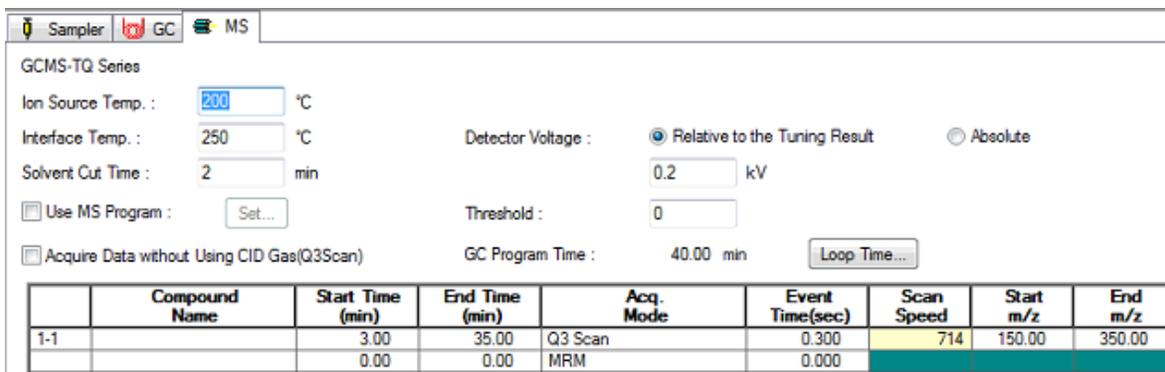


Figura 36. Condiciones para la espectrometría de masas.

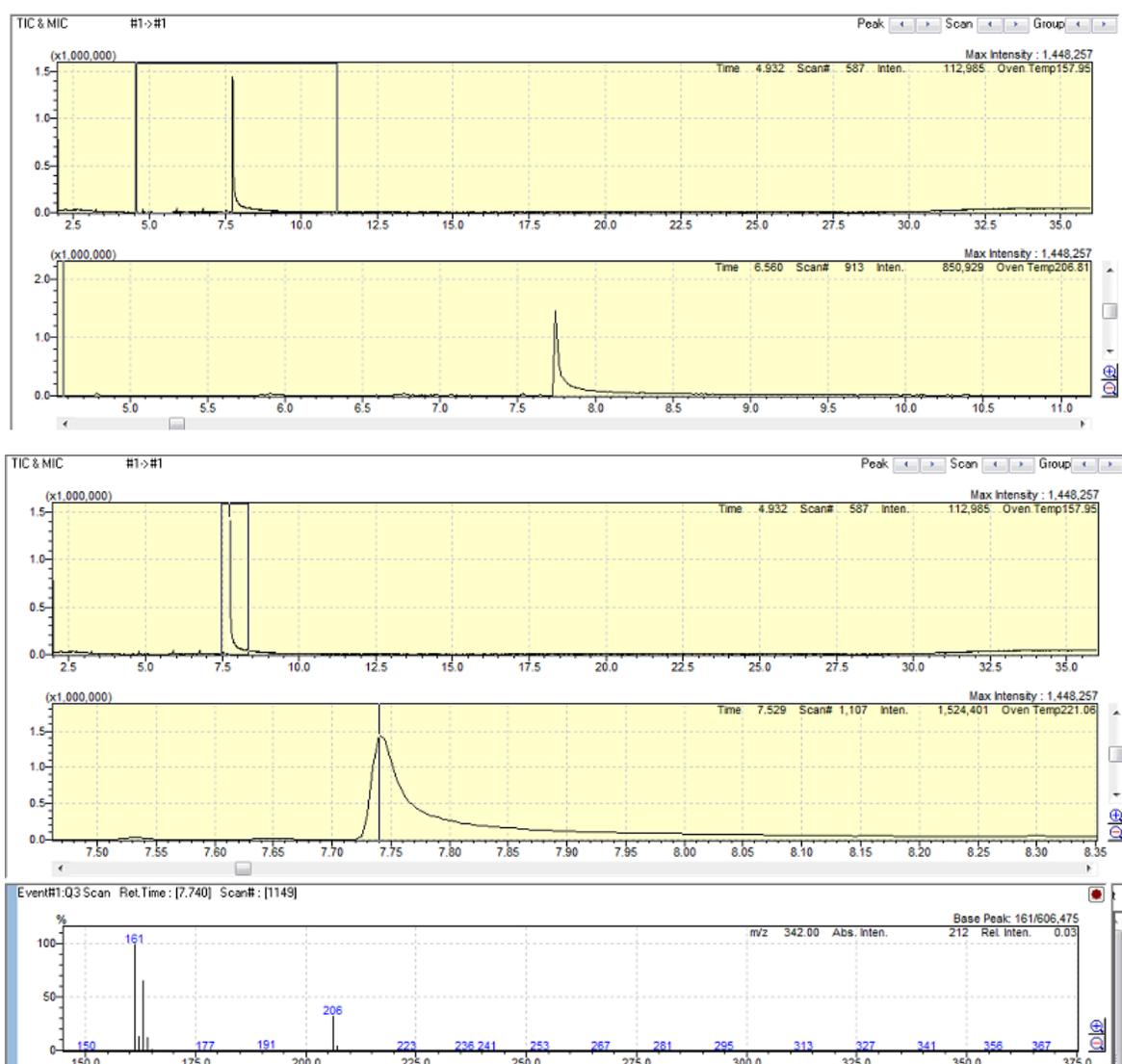


Figura 37. Cromatograma y iones principales para ibuprofeno.

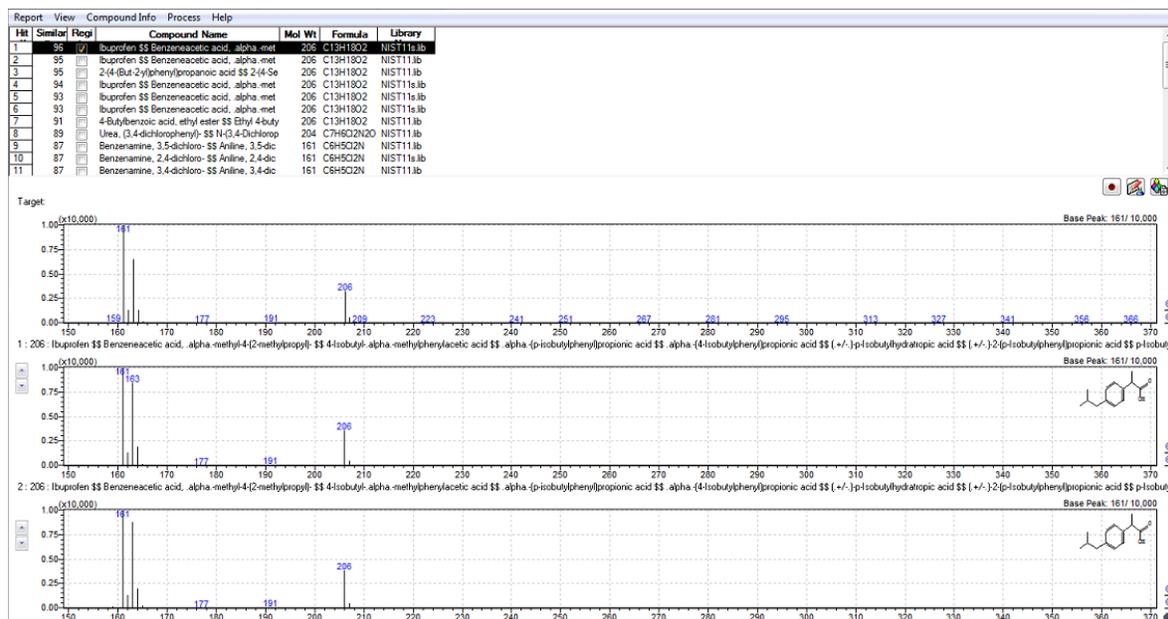


Figura 38. Porcentaje de similitud de en librería para ibuprofeno.

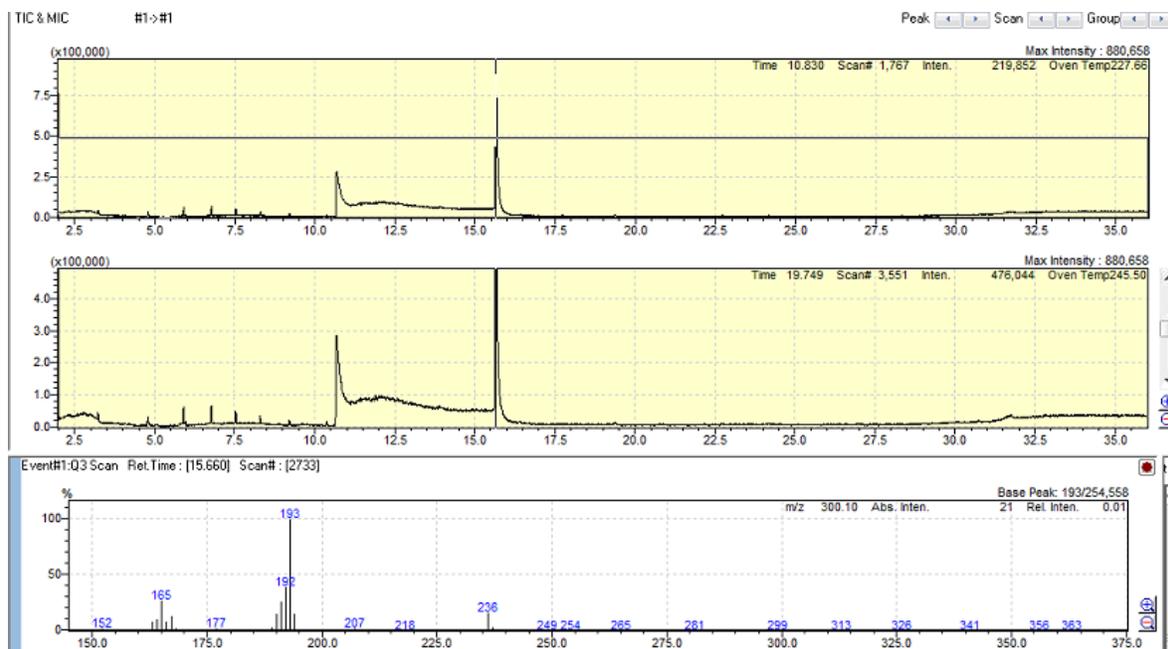


Figura 39. Cromatograma y iones principales para carbamazepina.

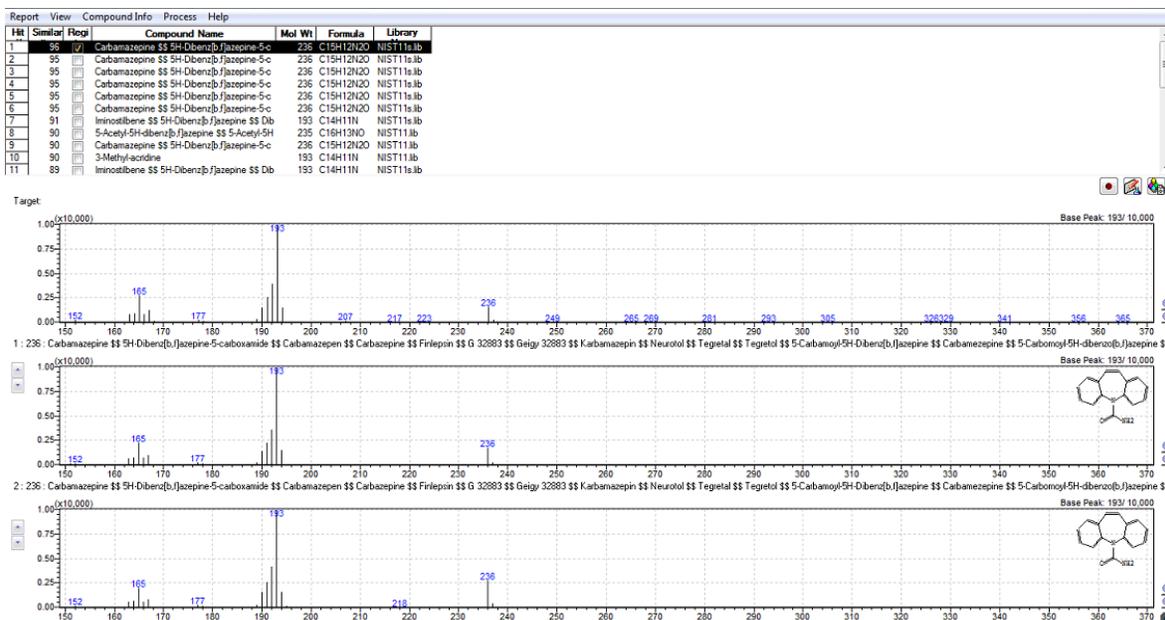


Figura 40. Porcentaje de similitud de en librería para carbamazepina.

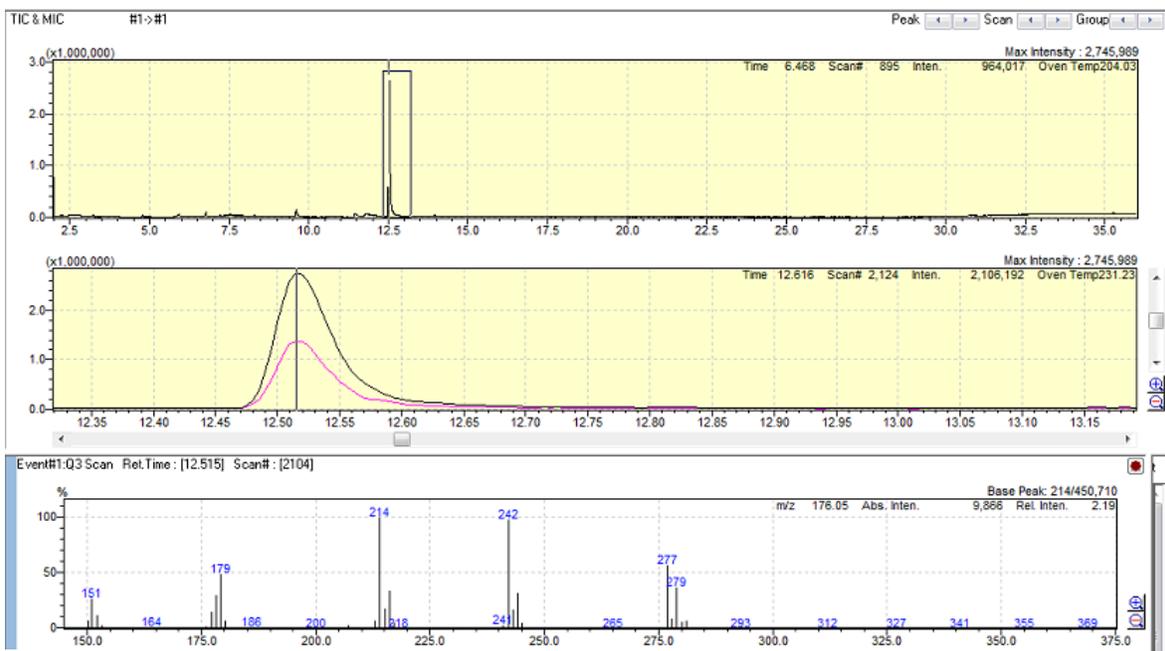


Figura 41. Cromatograma y iones principales para diclofenaco.

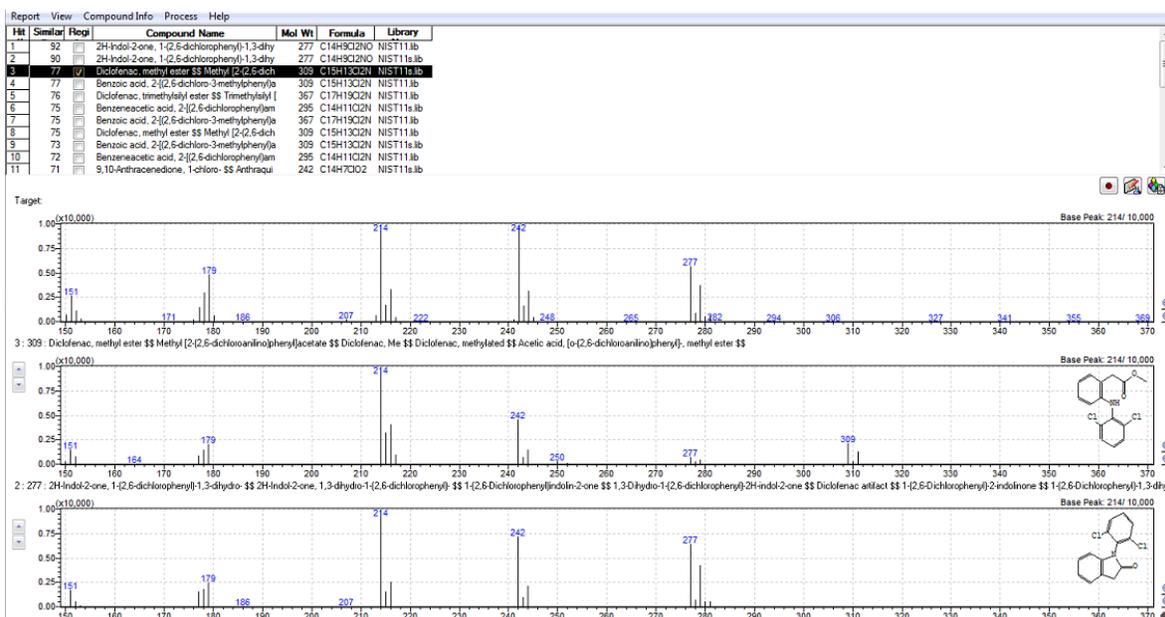


Figura 42. Porcentaje de similitud de en librería para diclofenaco.

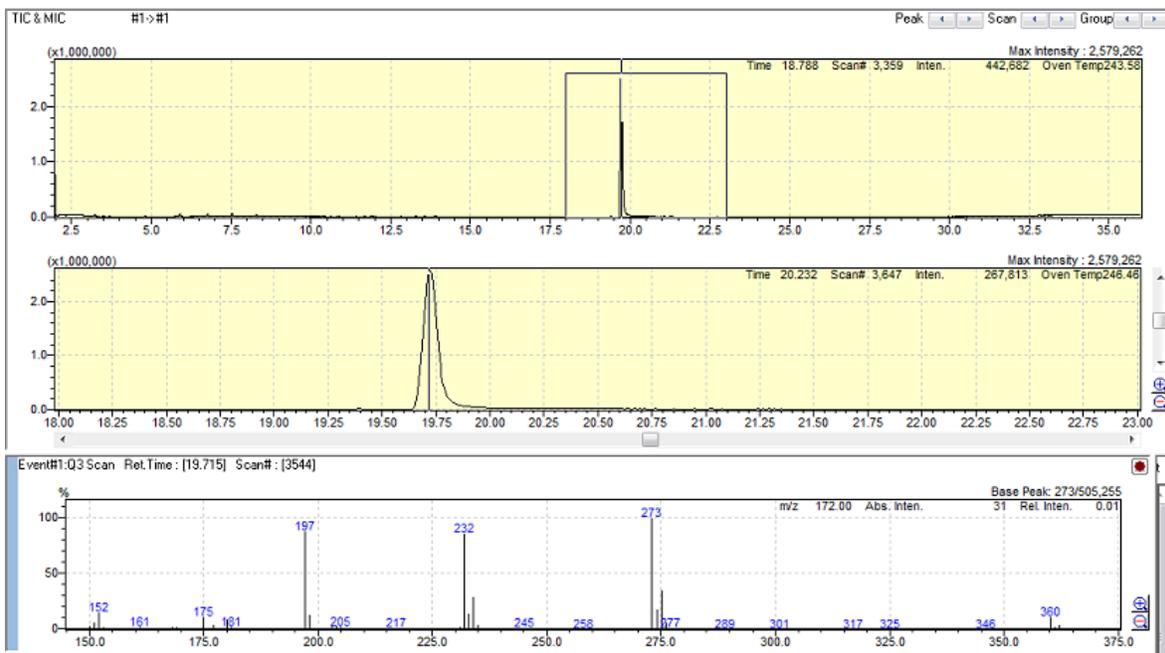
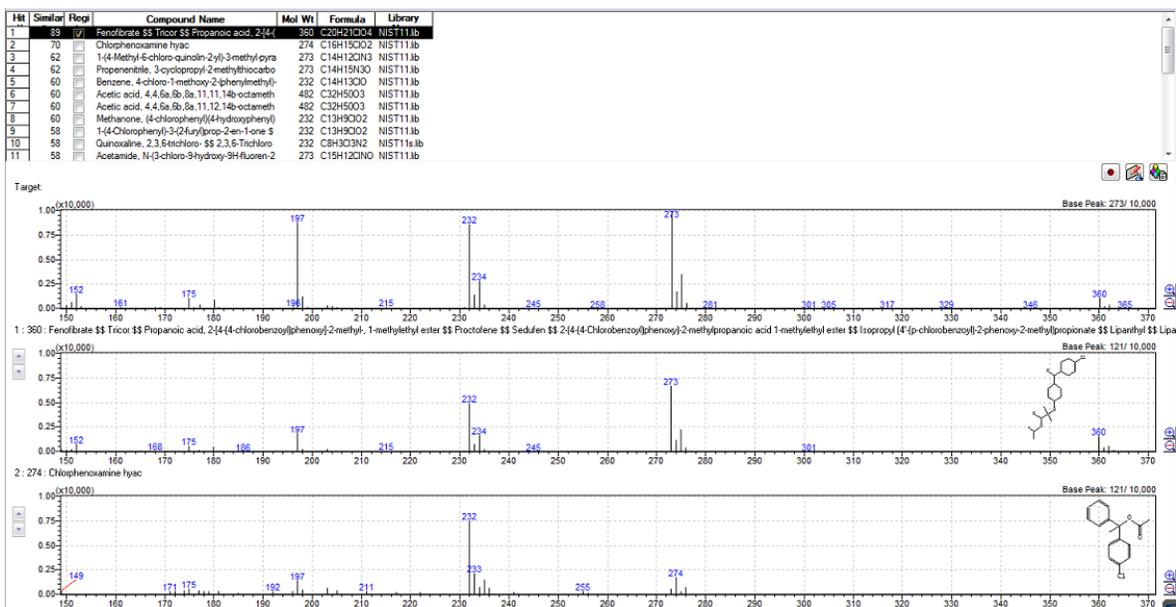
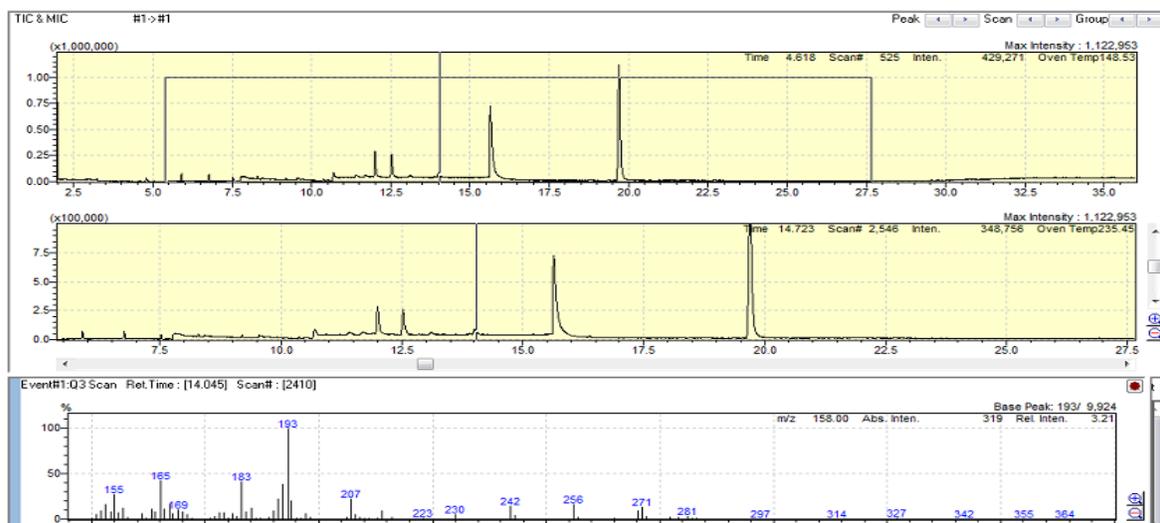


Figura 43. Cromatograma y iones principales para fenofibrato.



**Figura 44.** Porcentaje de similitud de en librería para fenofibrato.

Una vez establecidos los iones y tiempos de manera individual se procede a realizar una mezcla de todos los compuestos para determinar la especificidad y detectar indicios de inhibición de un fármaco sobre otro, con ello se repitió el escaneo anterior utilizando dicha mezcla la cual arrojó picos que no corresponden a los fármacos encontrados de manera individual, aunado a que la carbamazepina era el fármaco con una presencia superior desde el minuto 7 hasta el 15 dejando solo al fenofibrato con una especificidad aceptable, como se observa en la **Figura 45**.



**Figura 45.** Cromatograma para mezcla de los 13 fármacos.

### Cambio de columna a una con composición 35mS+ (35% difenil/ 65% dimetil poli-siloxano)

Para la detección de un conjunto mayor de CF, la mayor parte de los cuales son polares, se adquirió una columna con composición 35mS+ (35% difenil/ 65% dimetil poli-siloxano), Helifex AT-35M, 30 m x 0.25 mm, 0.25  $\mu$ m. Al tener diferente composición química la columna no respondió de manera satisfactoria a los solventes utilizados en la primera parte del ensayo, por ello se dio a la tarea de encontrar un solvente que permitiera localizar picos definidos, en las pruebas se evaluaron, acetona, acetato de etilo, acetonitrilo y hexano, de los cuales el acetonitrilo y el acetato de etilo fueron los más destacados al realizar un escaneo como se aprecia en las **Figuras 46 y 47**.

Por su parte, con la acetona se aprecian picos que hacen pensar que tiene especificidad por algunas trazas que se encuentran en la fuente de ionización (**Figura 46**), así mismo el hexano mostraba picos más intensos que hacían suponer que el solvente arrastraba componentes de la misma columna, por estos resultados se optó por utilizar el acetonitrilo como solvente base.

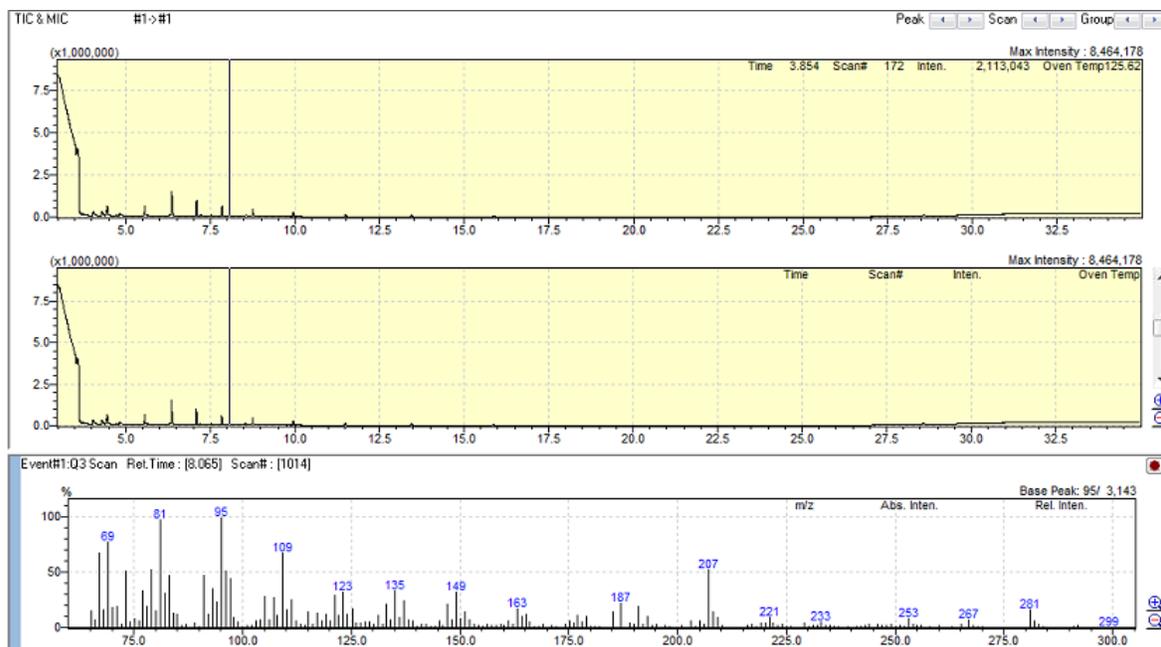


Figura 46. Cromatograma de la inyección de acetona.

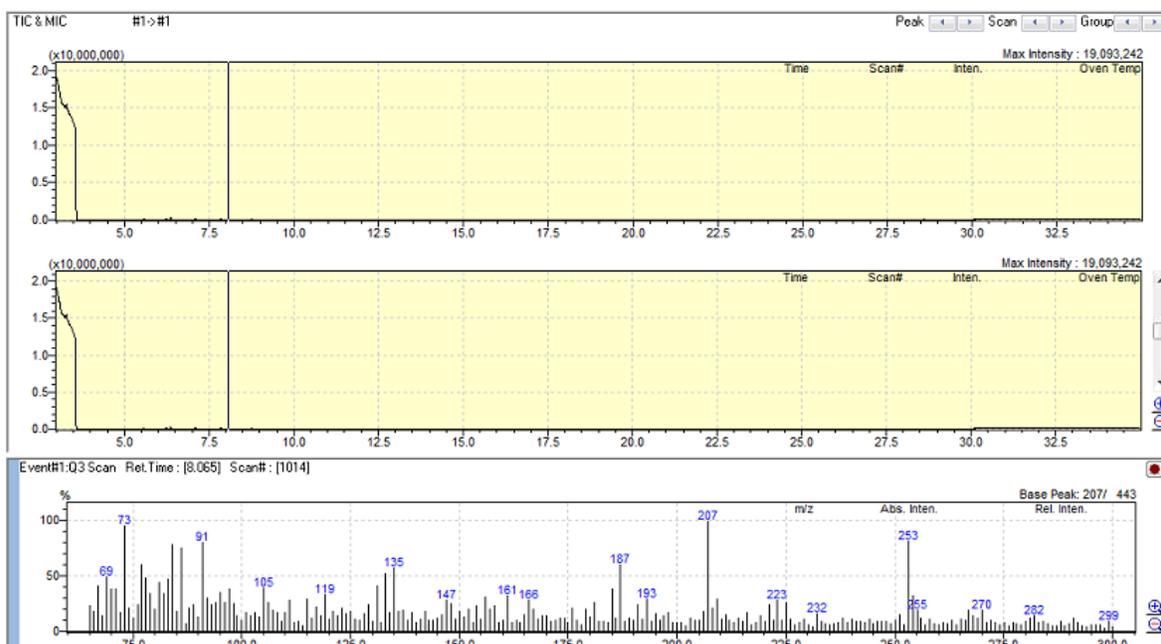


Figura 47. Cromatograma de la inyección de acetonitrilo.

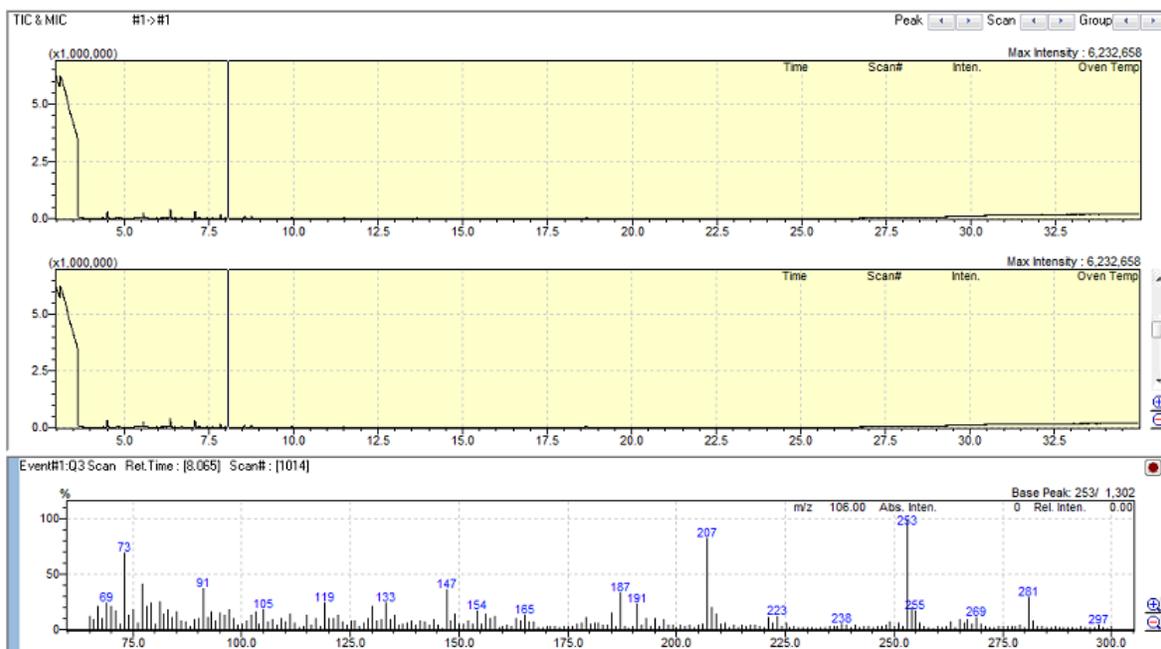


Figura 48. Cromatograma de la inyección de acetato de etilo.

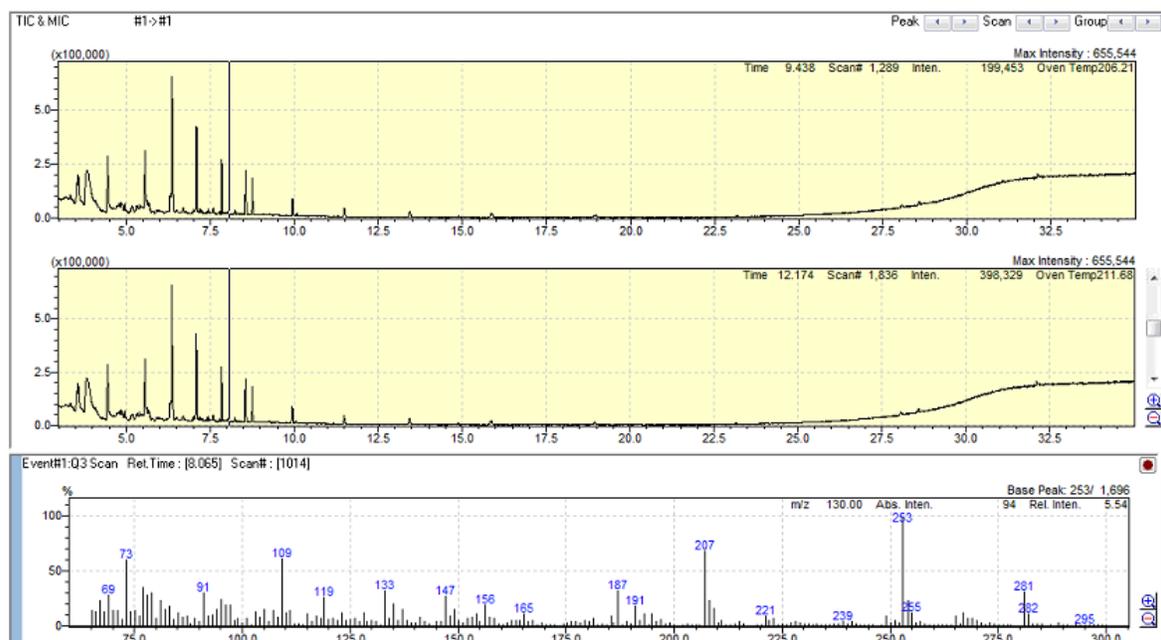
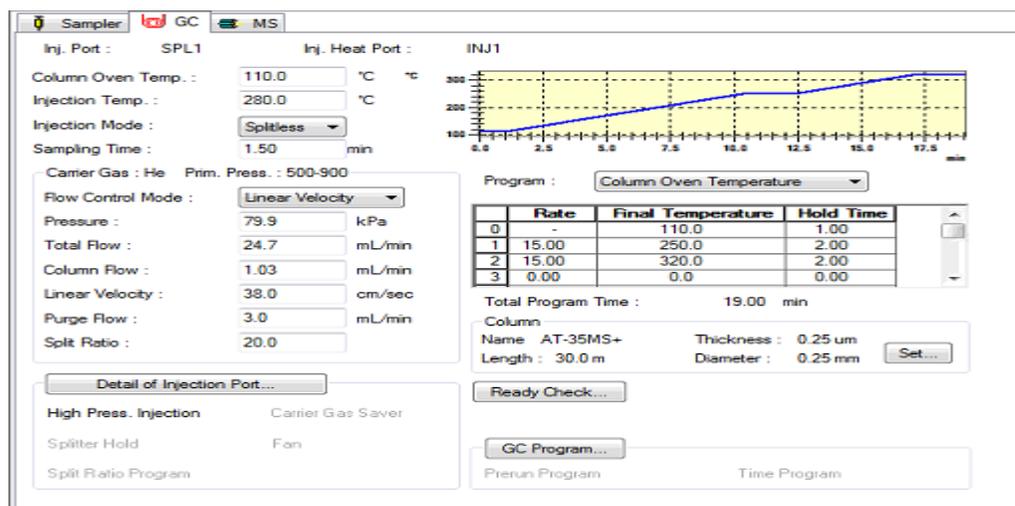
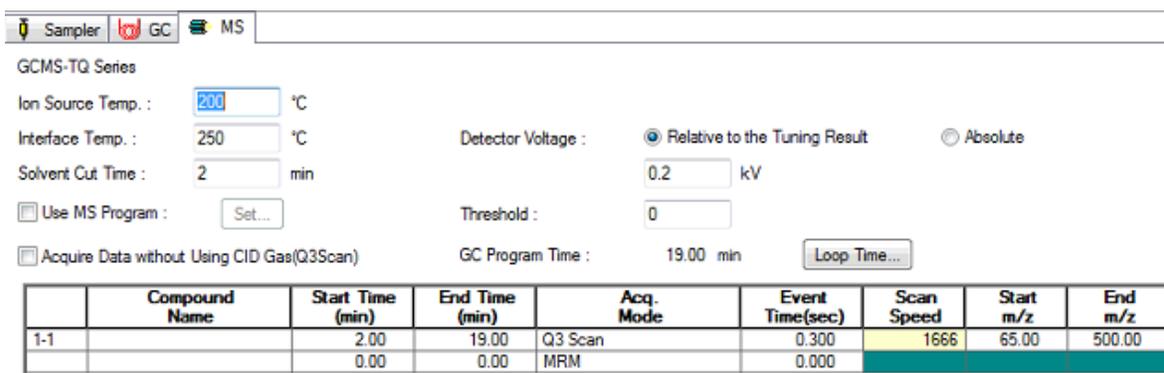


Figura 49. Cromatograma de la inyección de hexano.

Se prepararon soluciones estándar de diferentes CF, en este punto se evaluaron los dos solventes seleccionados para determinar la solubilidad de los CF. Dichas pruebas demostraron que la solubilidad era mejor en acetato de etilo, por lo cual se optó hacer las soluciones madre con acetato de etilo y diluir en acetonitrilo. Se inyectaron al GC-MS sin derivatización usando la nueva columna. Y se encontró un cromatograma con tres picos específicos, utilizando el programa marcado en las Figuras 50 y 51.

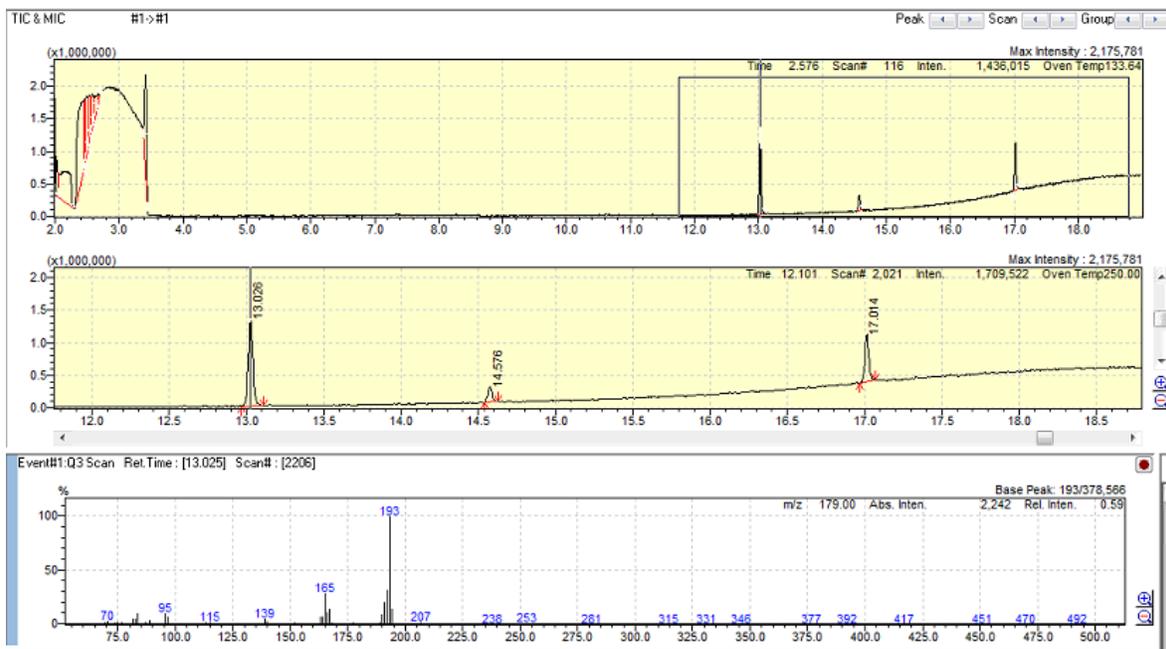


**Figura 50.** Condiciones cromatográficas aplicadas a la columna en la sección de gases.



**Figura 51.** Condiciones para la espectrometría de masas.

Se realizaron pruebas aplicando diferentes condiciones de operación del cromatógrafo y ensayos para la fragmentación, así como pruebas de identidad. Como primer paso se realiza el escaneo con el cual se determinaron los picos mostrados en la **Figura 52**, se integran los picos y se elabora la tabla dando nombre a cada pico.



**Figura 52.** Cromatograma para mezcla de CF.

ID#	Name	Type	ISTD G	m/z	Ret. Time
1	carbamazepi	Target	0	193.00	13.025
2	diclofenaco	Target	0	214.00	14.575
3	fenofibrato	Target	0	121.00	17.015

**Figura 53.** Tabla elaborada a partir del cromatograma.

Dado los picos tan definidos y la presencia de iones grandes y con una adecuada cantidad dados por la nueva columna para estos tres fármacos se decidió elaborar el método y llevarlo a la optimización utilizando como base las condiciones establecidas en el Q3scan, las **Figuras 54 a 56** muestran los iones y los porcentajes de similitud para cada compuesto.

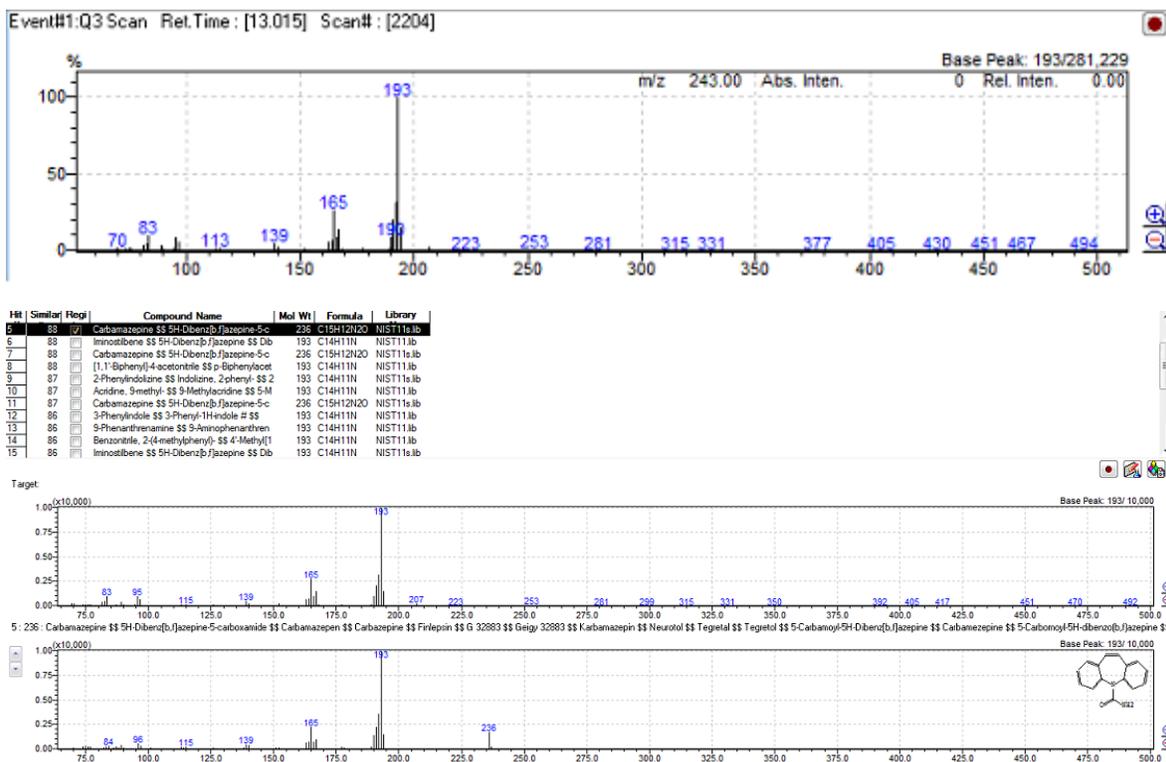


Figura 54. Iones de referencia para carbamazepina.

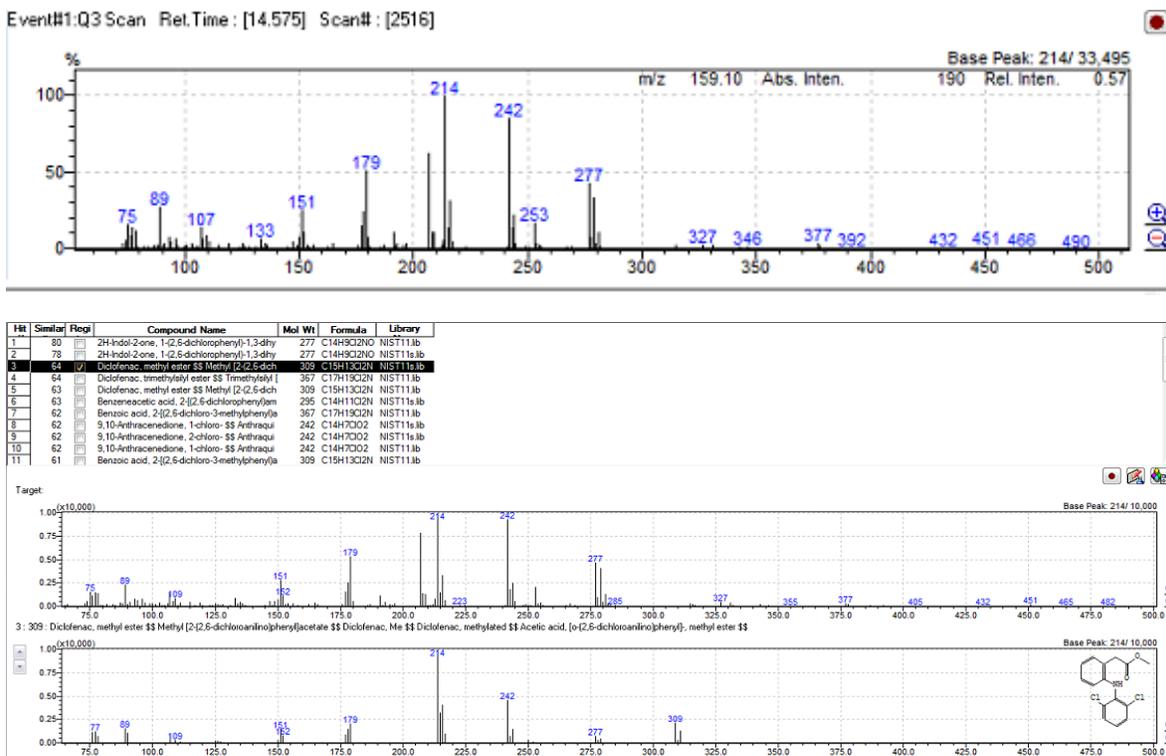


Figura 55. Iones de referencia para diclofenaco.

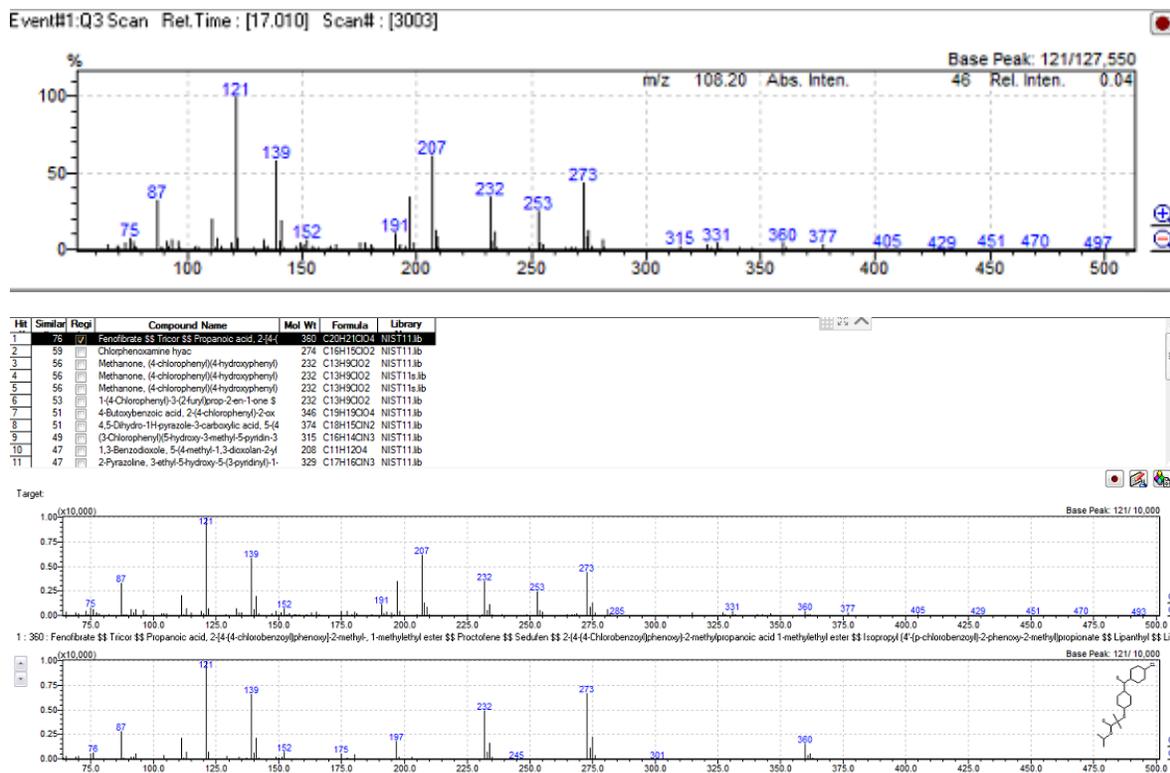


Figura 56. Iones de referencia para fenofibrato.

El equipo cuenta con características que permitieron la optimización del método mediante software por lo cual se describe la metodología paso a paso para llegar al método final.

1. Se abre la hoja de cálculo nombrada **SMART DATA BASE** y en el apartado Template Method into se selecciona el método **Q3 scan** utilizado para integrar los picos con anterioridad. Posterior a esto se guarda este archivo con otro nombre (**Figura 57**).

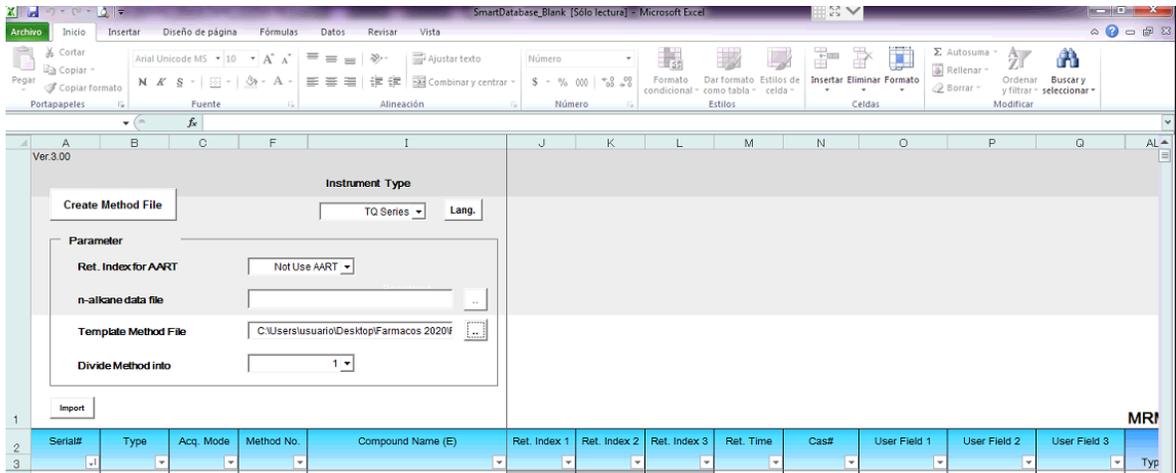


Figura 57. Ventana Smart data base.

2. Paso siguiente se abre el archivo donde aparecen los picos y se selecciona la opción en la ventana izquierda CREATE MS TABLE (COAST) una vez hecho esto se abre una ventana en la cual pondremos el nombre de **PRODUCT ION SACAN**, este paso le permite al equipó generar las colisiones necesarias para evaluar los iones específicos de los cuales parte la molécula y cuáles son los productos de estos (**Figura 58**).

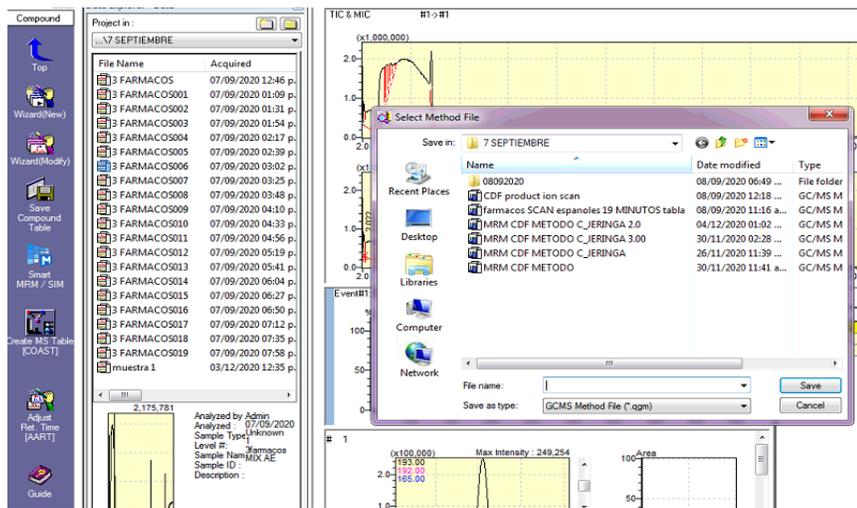
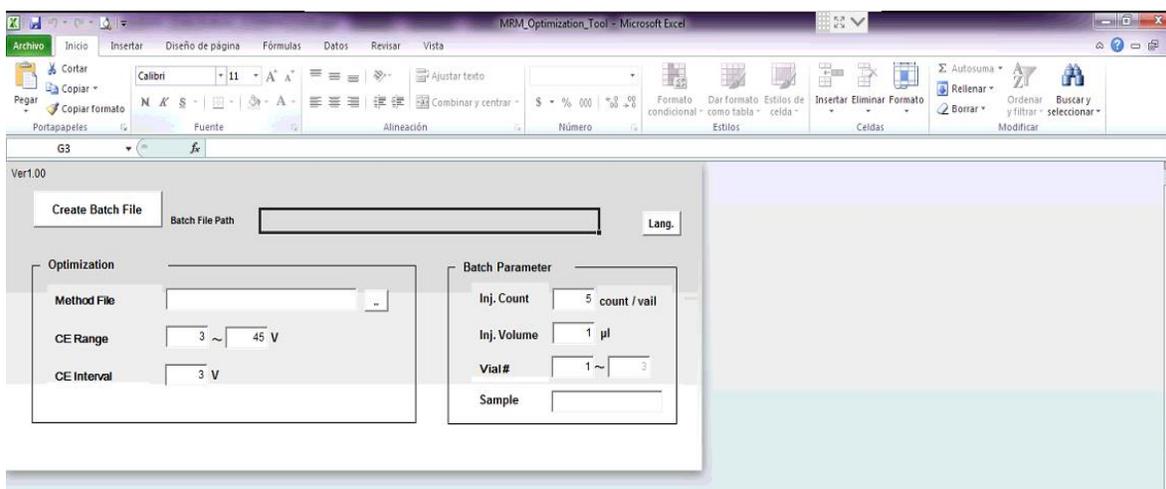


Figura 58. Ventana COAST.

- Una vez guardado el nuevo método se abre la hoja de cálculo con nombre **MRM\_ OPTIMIZATION\_TOOL**, a partir de aquí se selecciona la casilla **METHOD FILE** y se abre el archivo guardado como producto ion scan, se selecciona el rango de voltaje deseado a lo cual el equipo dará el número de viales que se deben poner en el auto muestreador utilizando concentración que se inyecta en el primer escaneo, por último se da click en la opción **CREATE BATCH FILE**, de esta manera se crea un archivo que permitirá correr las muestras y darnos los voltajes y tiempos óptimos (**Figura 59**).



**Figura 59.** Ventana MRM\_OPTIMIZATION\_TOOL.

- Regresamos nuevamente a la hoja de cálculo y vamos a la pestaña **MRM OPTIMIZATION** damos click en el apartado **SELECT DATA FILE** y se seleccionan los archivos que corrieron en el punto anterior una vez seleccionados se abren todos a la vez y la tabla de la imagen se debe de llenar y habilitar la opción **MRM OPTIMIZATION** se da click y el programa empezará a correr, una vez finalizado se habilita la ventana **REGISTRE DATA BASE** se da click y se guarda la hoja de cálculo y aparece la opción de **CREATE METHOD** se da click y se selecciona el archivo **Q3 scan** y se nombra para guardar el método final (**Figuras 60, 61 y 62**)

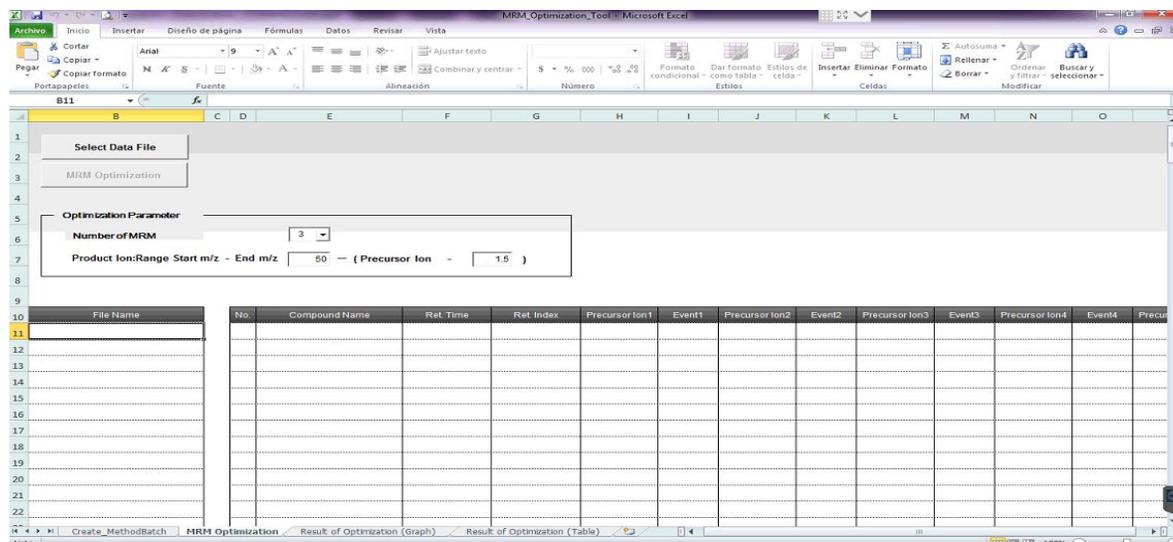


Figura 60. Condiciones cromatográficas aplicadas a la columna en la sección de gases.

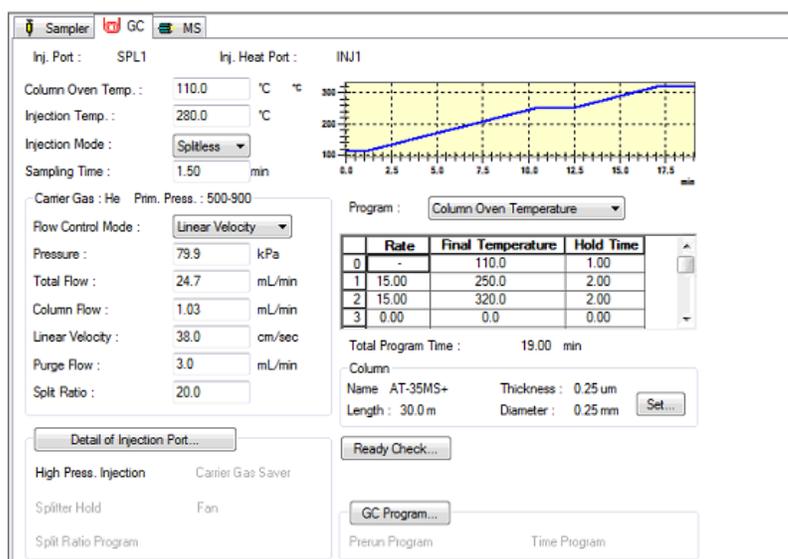


Figura 61. Condiciones para la espectrometría de masas.

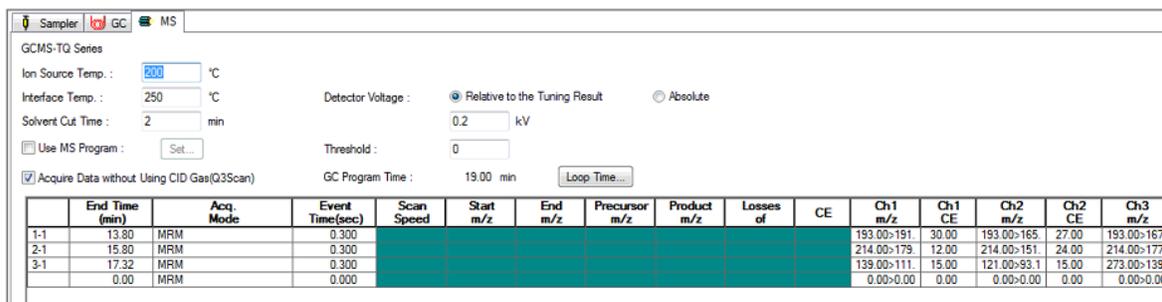
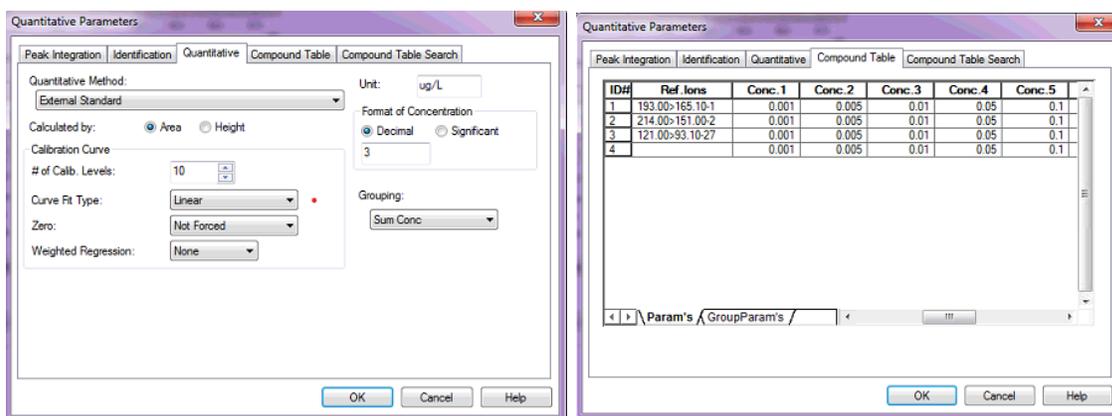


Figura 62. Ventana MRM OPTIMIZATION.

Una vez establecido el método, se procedió a darle un valor cuantificable para cada compuesto mediante la elaboración de las curvas de calibración que abarquen un rango amplio de detección, desde 0.001 hasta 2  $\mu\text{g L}^{-1}$ , utilizando siempre estándares de alta pureza. Para generar una curva de calibración seleccionamos el número de niveles en la pestaña QUANTITATIVE, en nuestro caso se dieron 10 niveles: 0.001,0.005,0.01,0.05,0.1,0.5,1,1.5,2 y 2.5 (**Figura 63**).



**Figura 63.** Condiciones de la curva de calibración

En todas las pruebas se consideraron blanco de sistema, blanco de vidriería, blanco de solvente para saber si hay contaminación en la columna o residuos de los compuestos que se estén acumulando.

Como resultado del estudio se seleccionaron como modelo para desarrollar la técnica los CF fenofibrato, diclofenaco y carbamazepina. De las cuales se obtuvieron las siguientes curvas mostradas en las **Figuras 27 a 29**.

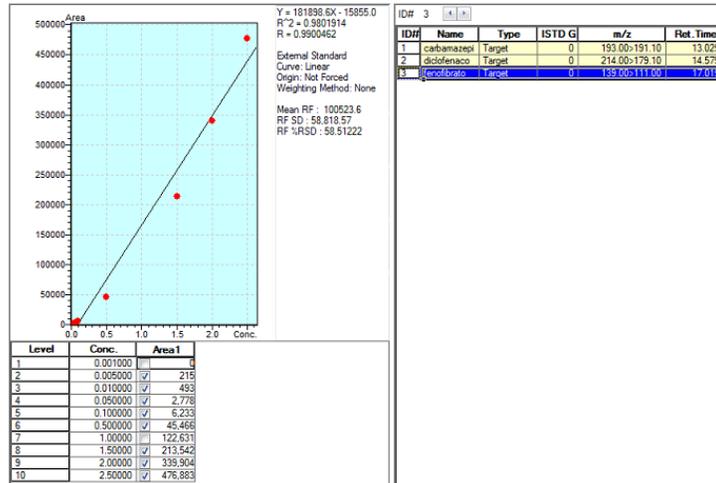


Figura 64. Linealidad para fenofibrato

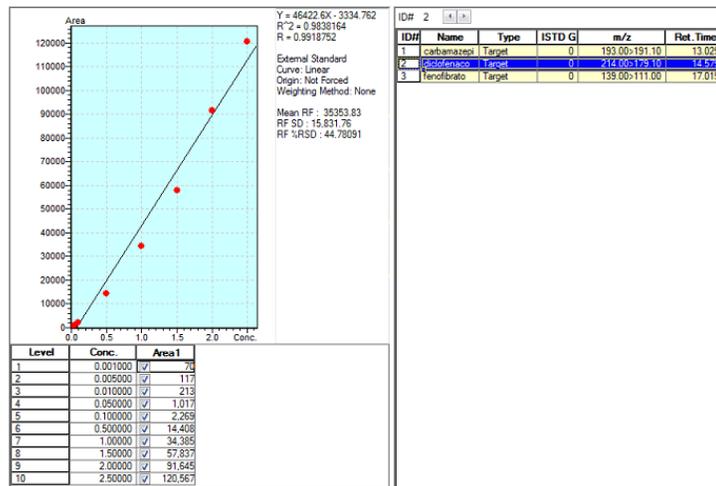
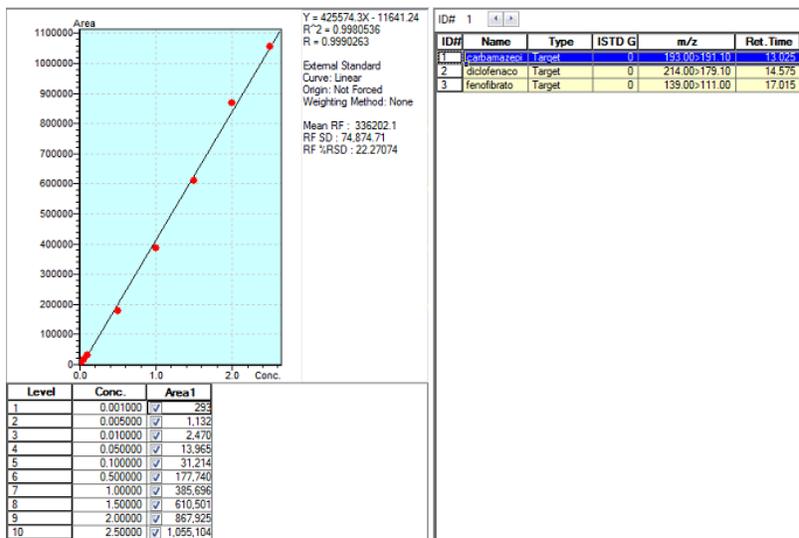


Figura 65. Linealidad para diclofenaco



**Figura 66.** Linealidad para carbamazepina

Con el método establecido se procede a realizar la extracción en fase sólida utilizado cartuchos Oasis HLB (copolímero divinylbenzeno/N-vinylpyrrolidón). Para la extracción se probaron diferentes solventes, hexano, acetona, tetrahidrofurano, acetato de etilo y acetonitrilo y los mejores resultados se obtuvieron con acetonitrilo y acetato de etilo.

El acondicionamiento se realizaba con 12 ml de acetato de etilo y 5 ml de agua grado HPLC con un flujo de 1 ml/min (**Figura 67**). Después una alícuota de la muestra de 100-500 ml (pH de 7) se pasaba a través del cartucho con un flujo de 10 ml/min y se enjuagaba con 5 ml de agua grado HPLC. Luego se hacía la elusión.



**Figura 67.** Proceso de extracción en fase solida

El cartucho se secaba mediante vacío durante 30 min y se eluía con 4 ml de acetato de etilo a 1 ml/min. Los extractos se evaporaban usando el dispositivo Mini-Vap hasta sequedad (**Figura 68**). Después las muestras se reconstituyen con 1 ml de acetato de etilo y se pasan a un vial del muestreador automático del cromatógrafo.



**Figura 68.** Proceso de evaporación mediante nitrógeno de alta pureza

La selección del acetato de etilo se realizó con base en los resultados de las pruebas de recuperación. En estas pruebas se evaluaron diferentes combinaciones de solventes y la mayor recuperación se obtuvo con el acetato de etilo. Esta técnica se probó con fenofibrato, diclofenaco y carbamazepina de forma individual y en mezclas y se realizó la optimización de la técnica analítica. Al final se realizó la validación del método, determinando: límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, veracidad y precisión.

## 5.2. Síntesis de nanotubos en placas de titanio

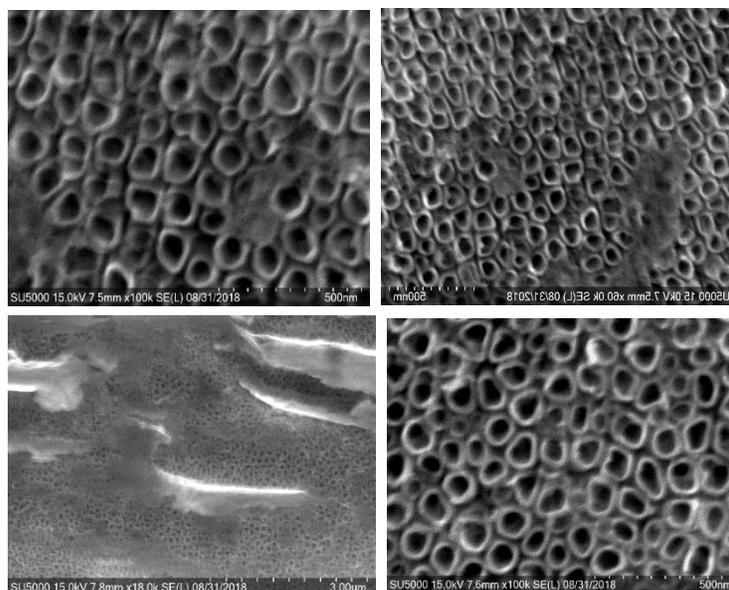
Como primera parte se realizaron experimentos de escalamiento para obtener estructuras NT-TiO<sub>2</sub> (**Tabla 17**), con el objetivo de obtener estructuras cristalinas óptimas en tamaño y morfología, además se verificó que el método de anodización es reproducible. Una vez que se terminaron los experimentos de escalamiento se eligieron las condiciones de trabajo ideales y se realizó la síntesis en toda la superficie requerida para la degradación de los CF. La superficie del RF se sintetizó utilizando 16 placas de Ti con dimensiones de 7.5x7.5 cm.

**Tabla 17.** Pruebas de escalamiento para síntesis de NT-TiO<sub>2</sub>.

Número de placa	Tiempo de anodización (h)
1	2:15
2	2:20
3	2:30

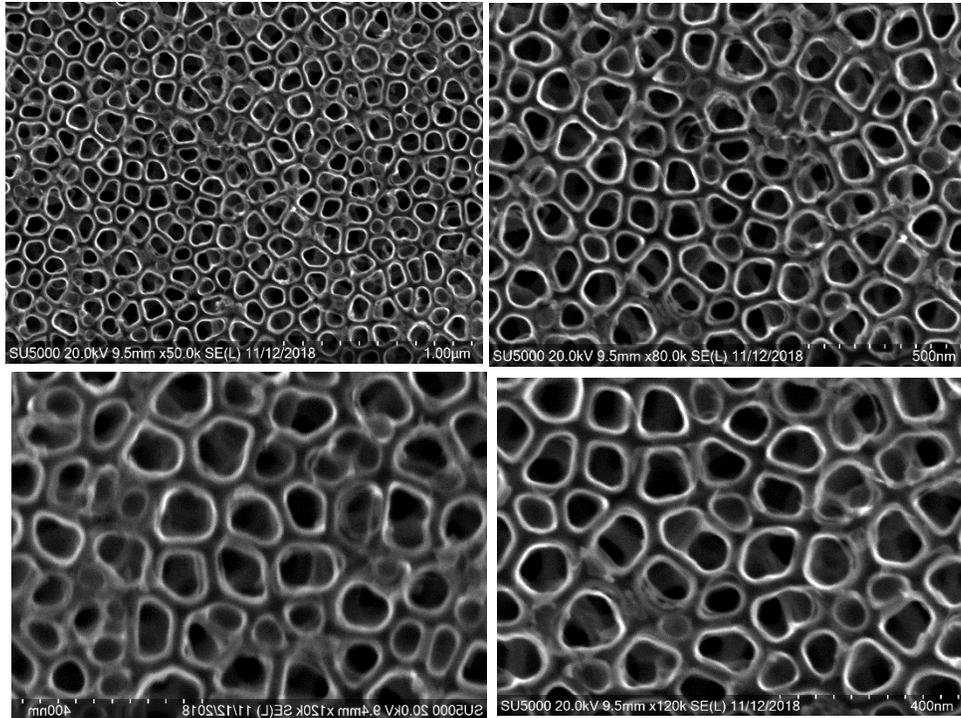
### 5.2.1. Análisis mediante FE-SEM (Vista superficial)

El resultado de la formación de estructuras geométricas NT-TiO<sub>2</sub> a través de anodización electroquímica en la solución orgánica de glicerol durante 2:30, 2:15 y 2:20 h fueron analizados en un microscopio de alta resolución FE-SEM. En la **Figura 69** se muestran micrografías de las láminas trabajadas con un tiempo de anodización de 2:30 h.



**Figura 69.** Imágenes de la película nanotubular de TiO<sub>2</sub> obtenidas con la solución de glicerol en su vista superior y tiempo de trabajo de 2:30 h.

La película de  $\text{TiO}_2$  presentan tubos verticalmente ordenados, con una geometría del poro redonda, sin embargo, se aprecia la formación de óxido superficial en los nanotubos. Para evitar la generación de estos óxidos se modificó el tiempo de anodización, disminuyéndolo a 2:15 h, los resultados se muestran a continuación (**Figura 70**).



**Figura 70.** Imágenes de FE-SEM con modificación en el tiempo de trabajo (2:15 h)

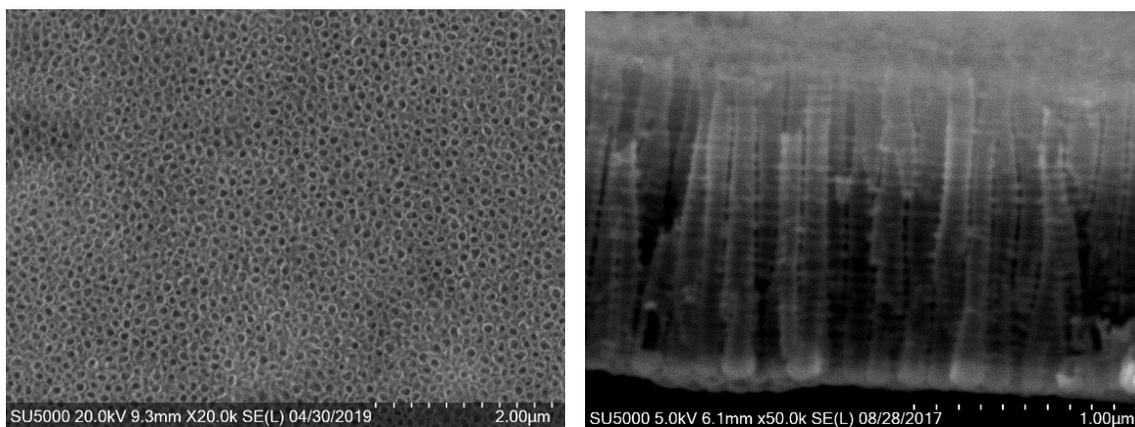
La vista superficial muestra la geometría del crecimiento anódico del óxido de titanio, se puede observar que el arreglo es altamente ordenado y que al disminuir el tiempo de anodización desaparecieron por completo la formación de óxidos en la superficie nanotubular. Sin embargo, con el objetivo de lograr mayor uniformidad y aumentar el grosor en las paredes de los nanotubos se trabajó con un tiempo de 2:20 h.

En la siguiente tabla (**Tabla 18**) se presentan las condiciones de trabajo para la síntesis de los  $\text{NT-TiO}_2$  ya escalados en las dimensiones de 7.5x7.5 cm, para obtener longitudes de nanotubos de tamaño de 1.3  $\mu\text{m}$  y diámetro de 97 nm.

**Tabla 18.** Condiciones de trabajo para sintetizar NT-TiO<sub>2</sub>

Electrolito	50% Vol. Glicerol+ 50% Vol. H <sub>2</sub> O+NH <sub>4</sub> F
Voltaje	20 V
Tiempo de anodización	2:20 h
Temperatura de tratamiento térmico	550°C
Láminas de Ti	Sin pulir

En estas condiciones, los nanotubos están libres de óxidos y presentan un arreglo ordenado, se logró también que el grueso de las paredes aumentara. Debido a esto, el tiempo de trabajo se fijó a 2:20 h. Una vez realizadas las anodizaciones de las 16 láminas de Ti, el siguiente paso es realizar el tratamiento térmico, con el fin de cristalizar los NT-TiO<sub>2</sub> y obtener las fases de anatasa y rutilo, la **Figura 71** presenta la cristalización de las películas en las condiciones de trabajo, se observa una morfología uniforme, con tubos autoordenados y dimensiones de películas cortas, que ya se han utilizado para degradación de algunos CE como son el bisfenol, triclosan y estrona (Cuevas et al., 2017).

**Figura 71.** Imágenes de la superficie y el corte transversal donde se aprecia la forma ordenada de los nanotubos y su longitud (1 μ).

Sin embargo, para llegar a estas condiciones de trabajo, se consideró primero el tratamiento térmico a 600°C, siguiendo la metodología parasíntesis de películas cortas (Cuevas, 2017) y se obtuvo como resultado que algunos nanotubos sufrieron obstrucción en la parte superior de los nanotubos abiertos. La interrupción provocó un acortamiento aún mayor de la longitud del nanotubo. Para evitar esta reducción del área superficial de la película nanotubular se optó por retirar por completo la



capa nanotubular de las películas sintetizadas y expuestas al tratamiento térmico de 600°C (8 películas). El procedimiento es el siguiente:

**1. Prepulido.**

Se realiza un lavado ultrasónico con agua desionizada, después, se procede a dejar la superficie lo más lisa posible y sin ralladuras, utilizando una lija de grano 300. Después se realiza otro lavado a la película, pero utilizando metanol y después agua.

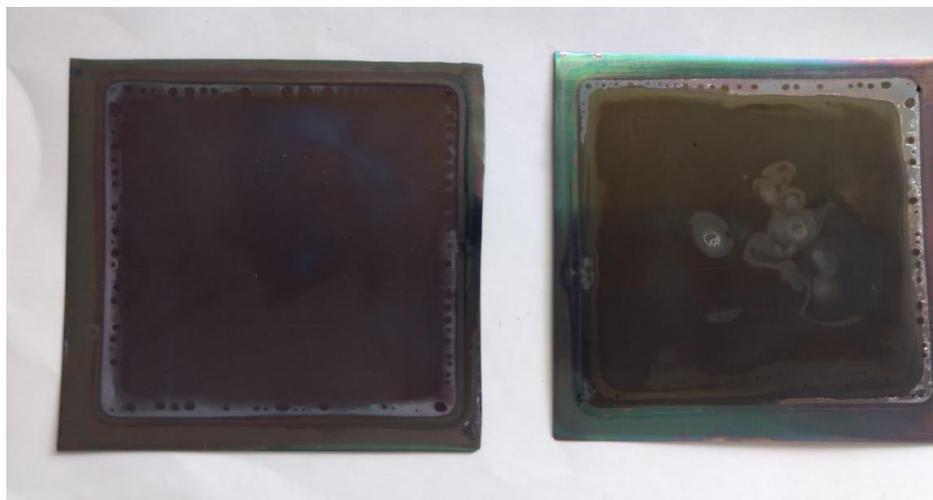
**2. Pulido espejo**

Se realiza un pulido con una lija con tamaño de grano de 500, se realiza en varias veces y siguiendo siempre la misma dirección para evitar ralladuras profundas. Después, se utilizan tamaños de grano más pequeño, siguiendo con la lija de 800, después de 1000 y por último de 2000.

**3. Lavado de la placa.** Por último, se realizan tres lavados ultrasónicos, empezando con metanol, después etanol y por último agua desionizada, durante un tiempo de 15 minutos para cada lavado.

**4. Secado.** Se seca la placa con aire y se procede a la síntesis.

En la siguiente imagen (**Figura 72**) se observa la síntesis de nanotubos en placas con pulido espejo y aplicando un tratamiento térmico de 550°C. La **Tabla 19** integra las condiciones de síntesis.



**Figura 72.** Síntesis de NT-TiO<sub>2</sub> en placas de Ti recicladas y con pulido espejo y tratamiento térmico a 550°C.

**Tabla 19.** Parámetros de trabajo utilizados en la síntesis utilizando pulido espejo

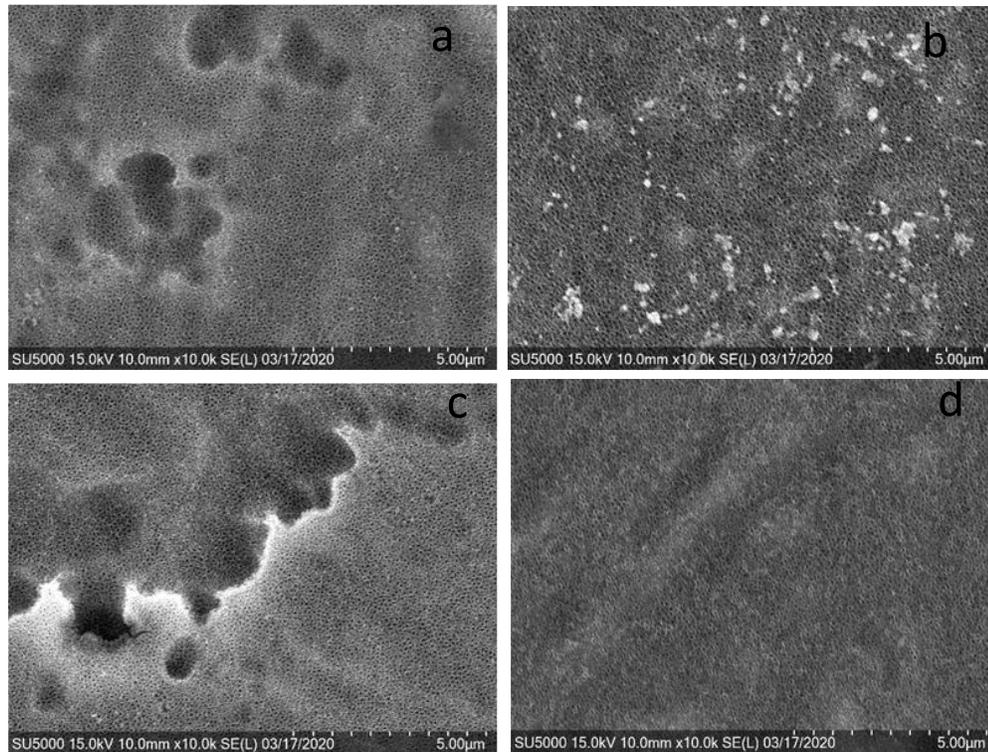
Electrolito	50% Vol. Glicerol+ 50% Vol. H <sub>2</sub> O+NH <sub>4</sub> F
Voltaje	20 V
Tiempo de anodización	2:30 h
Temperatura de tratamiento térmico	550°C
Láminas de Ti	Sin pulir

### 5.2.2. Análisis mediante FE-SEM de las placas fotocatalíticas después del proceso de lavado

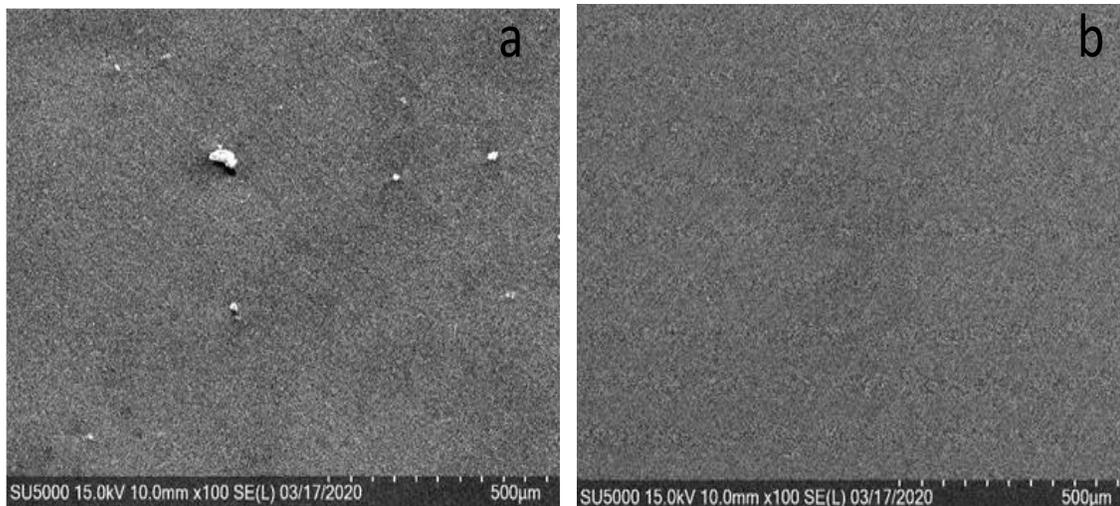
Las características morfológicas de las placas nanotubulares de TiO<sub>2</sub> lavadas en diferentes condiciones establecidas en la metodología se ilustran en la **Figura 73**. Se observó que tres placas contienen residuos en la superficie (**a**, **b** y **c**) y solo la placa **d** se encuentra limpia de residuos. Debido al tamaño de las impurezas y su distribución en varias secciones de la placa se induce que los fármacos de metoprolol y carbamazepina se encuentran depositados en la superficie de las placas, solo en el caso de la placa **d** que se lavó con metanol y utilizando un baño ultrasónico se encuentra libre de fármacos. Por otra parte, se analizó cada placa en distintas secciones y se observó que los nanotubos se encuentran con estructura uniforme, sin deterioro y libre de ralladuras, lo que demuestra su alta resistencia mecánica.

Las condiciones de lavado de las 16 placas se establecieron de la siguiente forma: Se efectúa después de cada 3 experimentos fotocatalíticos, el lavado se realiza con 100 ml de metanol grado HPLC y utilizando el baño ultrasónico durante 10 minutos para asegurar la limpieza de los nanotubos. El objetivo de este proceso de limpieza es evitar que el porcentaje de degradación de los compuestos farmacéuticos disminuya debido a las impurezas contenidas en la superficie de los nanotubos, reduciendo el área superficial del fotocatalizador y evitando el paso de luz UV al interior de los nanotubos y por tanto, no se realiza la formación del par e<sup>-</sup>/h<sup>+</sup>.

En la **Figura 74** se observa la comparación de la placa lavada con agua desionizada más metanol y la placa que se lavó en baño ultrasónico con metanol. Se observa que las impurezas se depositan en mayor cantidad en la placa que no se le dio un tratamiento ultrasónico.



**Figura 73.** Placas con diferentes condiciones de lavado. (a) Utilizando agua desionizada, (b) con agua desionizada y  $H_2O_2$ , (c) agua desionizada y metanol, (d) metanol con baño ultrasónico.



**Figura 74.** Comparación de dos placas lavadas con metanol. (a) Utilizando agua desionizada y metanol (b) con metanol y utilizando el baño ultrasónico.

### 5.2.3. Instalación del sistema experimental

El sistema experimental se instaló en el laboratorio de la planta piloto del IMTA. Se estableció el flujo de trabajo y se calculó el tiempo de retención hidráulica y los ciclos de trabajo del reactor (**Figura 75**). Las pruebas de degradación de compuestos farmacéuticos se efectúan en el reactor fotocatalítico operado de manera intermitente con recirculación continua del flujo, utilizando como catalizador las películas nanotubulares de TiO<sub>2</sub>. La configuración experimental estará integrada por el reactor fotocatalítico (A) de área útil de 30 cm × 30 cm y de 4 cm altura, de material de acero inoxidable. El vaso de precipitados con el agua sintética (B) tendrá un volumen de 3.0 L, cuenta con un agitador magnético y una parrilla para la agitación. El oxígeno se suministrará al vaso de precipitados a diferente velocidad de flujo y se dispersará mediante difusores. Una bomba peristáltica (Masterflex, modelo 07591-00) (D) se instaló después del vaso de precipitados y una válvula de tres vías se integró después del reactor para realizar el muestreo.



**Figura 75.** Sistema experimental: A) Caja negra, la cual en el interior contiene el Reactor Fotocatalítico (RF), B) Vaso de precipitados de 3 L, C) Parrilla de agitación, D) Bomba peristáltica (Master flex, modelo 07591-00), E) Concentrador de oxígeno marca Aeroflux.

El caudal determinado fue de 315 ml min<sup>-1</sup>, el tiempo de retención hidráulica se determinó para tres volúmenes de trabajo y se muestran en la siguiente **Tabla 20**.

**Tabla 20.** Tiempo de retención hidráulica para los tres volúmenes de trabajo

Parámetro	Respuesta
Voltaje	315
Volumen1 (cm <sup>3</sup> )	900
Volumen2 (cm <sup>3</sup> )	1350
Volumen3 (cm <sup>3</sup> )	1800
Área fotocatalítica cm <sup>2</sup>	900
TRH1 (minutos)	2.9
TRH2 (minutos)	4.3
TRH3 (minutos)	5.8

El tiempo de retención hidráulica (TRH) se determinó para cada ciclo de trabajo en el reactor fotocatalítico y nos indica la cantidad de tiempo que una unidad de fluido permanece en el reactor fotocatalítico. Por lo tanto, el número de ciclos determinados para los diferentes volúmenes y tiempos de trabajo se presentan en la **Tabla 21**.

**Tabla 21.** Número de ciclos de trabajo

Parámetro	Respuesta
Volumen1 (cm <sup>3</sup> ), 60 min	21
Volumen1 (cm <sup>3</sup> ), 90 min	32
Volumen1 (cm <sup>3</sup> ), 120 min	41
Volumen1 (cm <sup>3</sup> ), 60 min	14
Volumen1 (cm <sup>3</sup> ), 90 min	21
Volumen1 (cm <sup>3</sup> ), 120 min	28
Volumen1 (cm <sup>3</sup> ), 60 min	11
Volumen1 (cm <sup>3</sup> ), 90 min	16
Volumen1 (cm <sup>3</sup> ), 120 min	21

Con estos datos y conociendo los resultados de la cantidad de degradación de los compuestos farmacéuticos, se podrá estimar el porcentaje de degradación en función de ciclos transcurridos.

#### 5.2.4. Experimentos preliminares

Se realizaron experimentos preliminares usando como compuesto modelo el metoprolol para determinar su degradación aplicando de manera individual los procesos de fotólisis, adsorción y oxidación fotocatalítica heterogénea. Se preparó agua sintética con una concentración del metoprolol de 5 µg L<sup>-1</sup> (**Figura 76**).



La solución de agua sintética se depositó en un vaso de precipitados y allí se inyectó oxígeno para evitar la recombinación del par electrón-hueco y favorecer las especies reactivas de oxígeno. Una bomba peristáltica conduce la solución al reactor fotocatalítico, la velocidad del flujo se mantuvo constante, de  $1.5 \text{ ml min}^{-1}$  para asegurar que se realiza una distribución adecuada del agua sobre la película. El pH y la velocidad de mezclado se registraba antes de la entrada de la solución al reactor fotocatalítico. Se efectuó un muestreo para conocer la concentración de cada compuesto antes de la fotodegradación. Una vez que se ha realizado el proceso de fotodegradación se tomó una muestra para conocer la concentración final del metoprolol.



**Figura 76.** Agitación de la solución de metoprolol con una concentración de  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Todos los experimentos tuvieron una duración de 120 minutos cada uno, se adecuaron según el tipo de experimento, la solución a tratar se depositó en un vaso de precipitado y se conectó a través de mangueras anti-bacteriales al reactor, después se recirculó la solución, se tomó muestra a los 60 y 120 min. Cada muestra se tomó en un frasco ámbar, se etiquetó como en la **Figura 77**.



**Figura 77.** Muestras del agua a tratar y tratada.

Después se procedió a la extracción en fase sólida. Se tomaron 4 cartuchos nuevos marca Oasis HLB y se coloca la punta del cartucho en cada orificio del Manifold, los demás orificios deben estar bien tapados, posteriormente a cada cartucho se le aplican 4 volúmenes de Metanol (16 ml) y 2 volúmenes de H<sub>2</sub>O grado HPLC (8 ml), cada aplicación de los reactivos se pasó por gravedad. Dicho proceso se muestra en la siguiente **Figura 78**. Se debe verificar que si este pasando el reactivo en caso de no ser así aplicar un poco de vacío 10 segundos y desconectar vacío.



**Figura 78.** Acondicionamiento de los cartuchos Oasis HLB

Concluida la parte de la preparación de cartuchos, se tomaron 4 muestras obtenidas de los experimentos, dichas muestras se encontraban en frascos color ámbar a 4°C y se vaciaron en matraces como se muestra en la **Figura 79**. Posteriormente a cada cartucho se le conecta una manguera y la manguera se dirige al matraz correspondiente a la etiqueta de cada cartucho, ya que se encuentran bien conectados tanto la punta del cartucho al manifold y la manguera al cartucho para evitar fugas de vacío **Figura 80**. Al terminar la extracción de las 4 soluciones, se debe dejar con vacío durante 30 min.



**Figura 79.** Muestras para la elución.



**Figura 80.** Proceso de elución

Terminando los 30 min de vacío, se coloca una base de unigel dentro del manifold con orificios para evitar que los viales puedan pandearse y caerse, ya colocados los 4 viales etiquetados, se tapa el manifold hasta estar muy bien sellado en cada cartucho se introduce 1 ml de Metanol, esto se realiza hasta obtener 4 ml de cada cartucho; se realizó por caída libre, sin utilizar vacío (**Figura 81**).



**Figura 81.** Concentración de muestras

Al terminar la corrida experimental de 4 muestras se retira con cuidado la tapa, previamente desfogando el equipo para evitar dificultades, se tapan los viales, se cubren con parafilm para evitar contaminación, se almacenan a una temperatura de 4°C. Todo el material utilizado se lava como se indicó anteriormente.

Concentración a sequedad de las muestras. El Minivap de 6 plazas que se muestra en la **Figura 82** cuenta con una entrada para suministro de nitrógeno y 6 salidas de N<sub>2</sub>, después de tener todas las muestras en viales de 4 ml y posteriormente sacadas

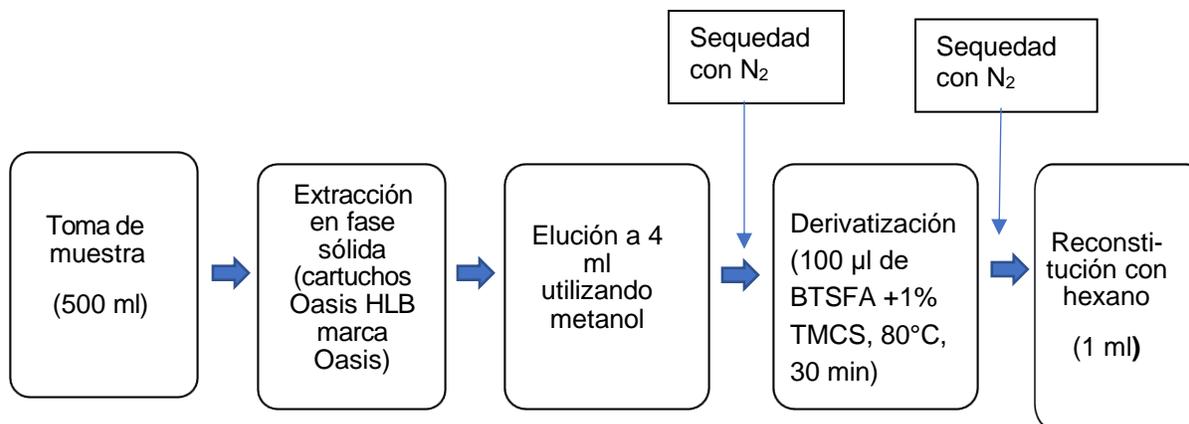
del cuarto frío, se realizó la transferencia del extracto a viales de 2 ml (**Figura 83**), concentrando mediante un flujo suave de nitrógeno (**Figura 84**).



**Figura 82.** Concentración a sequedad



**Figura 83.** Viales de 2 ml con las muestras de los experimentos realizados



**Figura 84.** Concentración de muestras



Todos los experimentos preliminares, de adsorción, fotólisis y oxidación fotocatalítica se realizaron con aguas sintéticas con la misma concentración inicial de metoprolol, pero a tres valores de pH diferentes, de 3, 7 y 9. Los experimentos de adsorción se realizaron con placas nanotubulares de TiO<sub>2</sub> y sin luz UV. Los experimentos de fotólisis se realizaron con luz UV (100W) con una longitud de onda de 365 nm y sin placas nanotubulares y los de oxidación fotocatalítica se realizaron con placas nanotubulares de TiO<sub>2</sub> y con luz UV y con inyección de oxígeno. Los experimentos a pH de 7 tuvieron una duración de 60, 120 y 180 min. Los de adsorción y fotólisis solo de 60 y 120 min. Durante estos experimentos se mantuvieron constantes la altitud de la lampara desde el nivel de los nanotubos, de 15 cm y el tirante del agua, de 1.5 cm. El flujo del oxígeno durante la oxidación fotocatalítica fue de 3 L min<sup>-1</sup>. Los resultados de los experimentes con el agua sintética con un pH de 7 se presentan en la **Tabla 22**, los obtenidos con el agua pH de 3 en la **Tabla 23** y a pH de 10 en la **Tabla 24**. En las **Figuras 85, 86 y 87** se ilustran los resultados obtenidos a pH 7, 3 y 9 respectivamente. Se observa que a pH neutro la adsorción determinada en 1 hora fue de solo 0.38%, se incrementó a 1.760% a las 2 horas y a 12.23% a las 3 horas. En el caso de la fotólisis la remoción fue ligeramente mayor, 8.37% en 1 h, 10.62% en 2 horas y 12.83 en 3 h. Sin embargo, con la oxidación fotocatalítica, los porcentajes fueron significativamente mayores, 96.11% en 1 hora, que incrementó en 2 % a las 2 horas y en otro 1% llegando a las 3 horas. Por lo anterior se concluye que el mecanismo de degradación del metoprolol se realizó por la acción de los radicales altamente oxidantes producidos en el proceso fotocatalítico, integrado este sistema por la acción catalítica de las estructuras nanotubulares de TiO<sub>2</sub> y por la luz UV que realiza la formación del par electrón-hueco.

**Tabla 22.** Resultados de la remoción del metoprolol obtenidos a pH 7

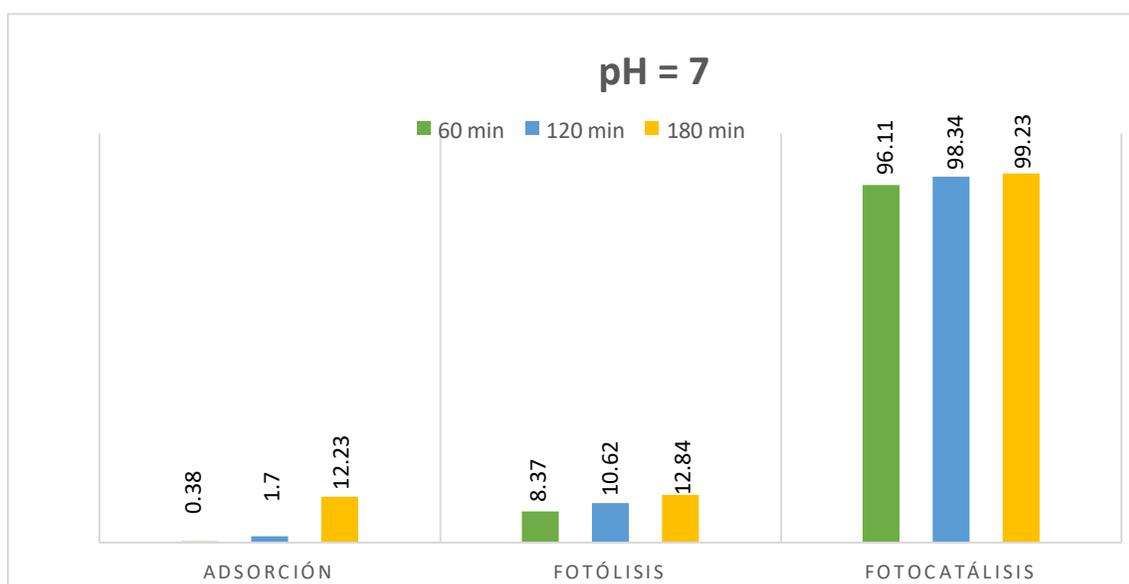
Método experimental	Tiempo	% Remoción
<b>Adsorción</b>	0	0
	60	0.38
	120	1.70
	180	12.23
<b>Fotólisis</b>	0	0
	60	8.37
	120	10.62
	180	12.84
<b>Fotocatálisis</b>	0	0
	60	96.11
	120	98.34
	180	99.23
<b>Total de muestras: 12</b>		

**Tabla 23.** Resultados de la remoción del metoprolol obtenidos a pH 3

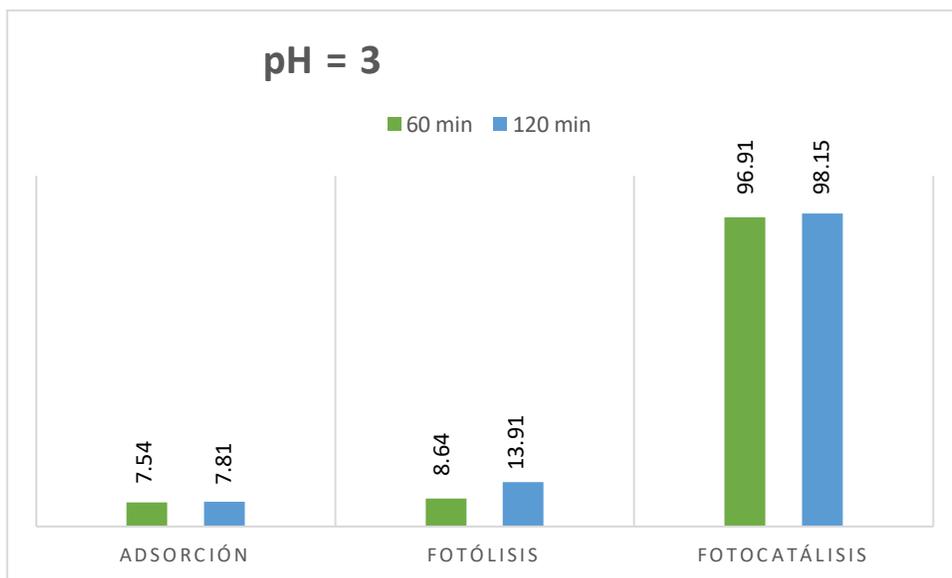
Método experimental	Tiempo	% Remoción
<b>Adsorción</b>	0	0
	60	0.38
	120	1.70
<b>Fotólisis</b>	0	0
	60	8.64
	120	13.91
<b>Fotocatálisis</b>	0	0
	60	96.91
	120	98.15
<b>Total de muestras 9</b>		

**Tabla 24.** Resultados de la remoción del metoprolol obtenidos a pH 9

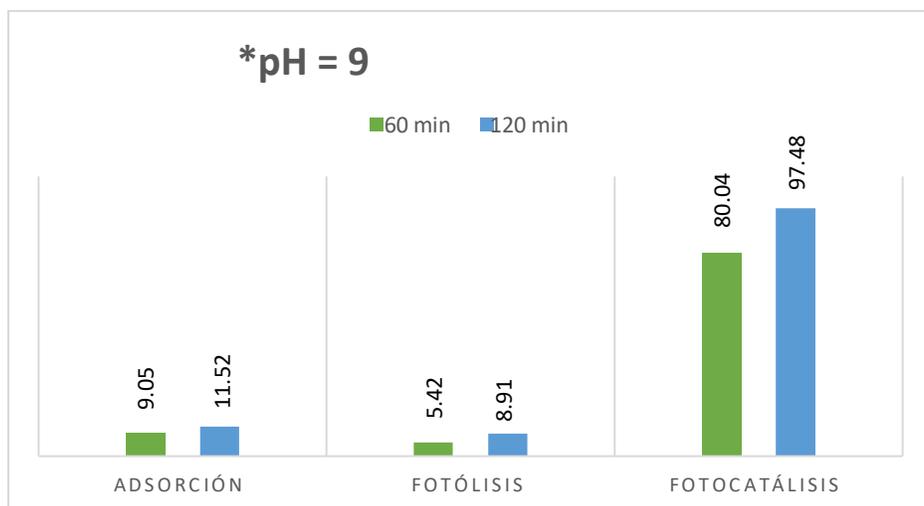
Método experimental	Tiempo	% Remoción
<b>Adsorción</b>	0	0
	60	9.05
	120	11.52
<b>Fotólisis</b>	0	0
	60	5.42
	120	8.91
<b>Fotocatálisis</b>	0	0
	60	80.04
	120	97.48
<b>Total de muestras 9</b>		



**Figura 85.** Resultados de remoción para los experimentos pH neutro



**Figura 86.** Resultados de remoción para los experimentos pH de 3



**Figura 87.** Resultados de remoción para los experimentos pH de 9

Como se puede observar en la **Figura 86**, a pH de 3 la adsorción a los 60 min y a los 120 min fue 20 y 5 veces mayor que al pH de 7. Las remociones por fotólisis, a ambos valores del pH fue similar, sobre todo a los 60 min de reacción. Fueron similares y las remociones por oxidación fotocatalítica.



De la **Figura 87** se observa que a pH de 9 la adsorción a los 60 min y a los 120 min fue 24 y 7 veces mayor que al pH de 7. La adsorción a pH 9 fue ligeramente mayor que la determinada a pH de 3. Como se puede ver en la **Tabla 25**, el metoprolol tiene un coeficiente de partición Log  $K_{ow}$  relativamente bajo, de 1.9, por lo cual no se esperaba una alta remoción por adsorción. La remoción por fotólisis a pH 9 fue en un 2.95 % menor a los 60 min comparada con la obtenida a pH de 7. A los 120 min igual, la remoción por fotólisis fue en un 1.7% menor a pH 9 comparada con la obtenida a pH de 7. Las remociones por oxidación fotocatalítica a pH de 9 fueron significativamente menores que las determinadas a pH de 7 y de 3.

Este comportamiento del metoprolol se puede explicar con el  $pK_a$  alto, de 9.5 (Tabla 25). El  $pK_a$  es una medida de acidez, calculada mediante el logaritmo negativo (-log) de la constante de disociación ácida  $K_a$ .  $pK_a$  describe el nivel de ionización y refleja la aceptación o la donación de protones frente a un valor concreto de pH. El  $pK_a$  de una sustancia es el pH al que una sustancia tiene la mitad de sus moléculas ionizadas y la otra mitad sin ionizar, por lo que el metoprolol a pH 9 tiene una gran cantidad de moléculas no ionizadas y es por esto que es mas difícil y lenta su degradación.

**Tabla 25.** Propiedades fisicoquímicas del metoprolol. Fuente: Aznar et al., (2014); Monteiro y Boxall., (2010).

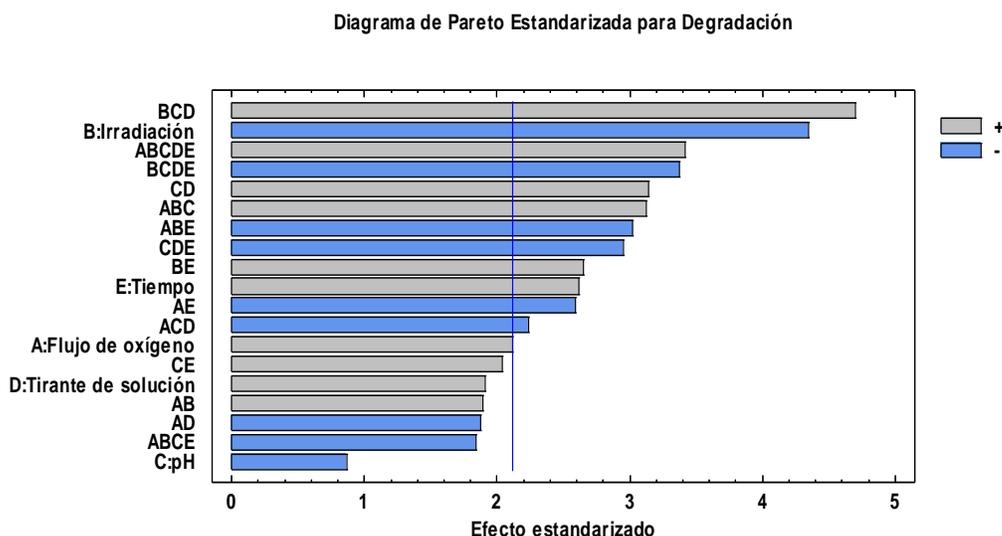
<b>Metoprolol</b>	
<b>Tipo de fármaco</b>	Beta-bloqueador
<b>Fórmula</b>	$C_{15}H_{25}NO_3$
<b>Peso molecular (<math>g \cdot mol^{-1}</math>)</b>	267.36
<b>Log <math>K_{ow}</math></b>	1.9
<b><math>pK_a</math></b>	9.5
<b>Solubilidad en agua (<math>mg \cdot mL^{-1}</math>) 25 °C</b>	157
<b>Constante de Henry (<math>atm \cdot m^3 \cdot mol^{-1}</math>) 25 °C</b>	$1.40 \times 10^{-13}$

Como se puede observar en el experimento a pH neutro, la diferencia entre la remoción a los 120 y 180 min es solo 1%, por lo que se decide que el intervalo de variación del tiempo será desde 60 hasta 120 min.

### 5.2.5. Estudio del efecto de las variables sobre la degradación del metoprolol mediante oxidación fotocatalítica utilizando estructuras nanotubulares de TiO<sub>2</sub>

Para el estudio de degradación del metoprolol por medio del proceso de oxidación fotocatalítica se utilizó un diseño factorial 2<sup>5</sup>, más 4 puntos al centro, un total de 36 experimentos. Las variables del proceso fueron: flujo de oxígeno (2 a 4 L min<sup>-1</sup>), pH (de 3 a 9), irradiación (10 a 20 cm desde el nivel de las nanoplacas), tiempo de reacción (60 a 120 min) y tirante de agua (1 a 2 cm). Los objetivos de este diseño experimental fueron determinar el efecto de las variables y encontrar las condiciones de operación para obtener la mayor degradación del metoprolol. Para realizar el análisis de varianza y obtener la gráfica de Pareto que identificó los factores de influencia significativa del proceso de fotooxidación, se utilizó un paquete estadístico STATGRAPHICS Centurion.

El diagrama de Pareto obtenido (**Figura 88**) representa las contribuciones de cada factor y las interacciones para la degradación del metoprolol.



**Figura 88.** Diagrama de Pareto que ilustra el efecto de las variables y sus interacciones.

El análisis de varianza indica que los factores estadísticamente significativos son la intensidad de irradiación de la lámpara y el tiempo de reacción, mientras que el pH, flujo de oxígeno y el tirante del agua resultaron no significativos de manera individual. Sin embargo, las interacciones del flujo de oxígeno y pH, flujo de oxígeno y tirante del agua, así como del flujo de oxígeno y tiempo son estadísticamente



significativos, en resumen 12 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

Los resultados de los experimentos generados a partir del diseño factorial se ajustaron a un modelo polinómico con un valor de R<sup>2</sup> de 0.98 (98.5%) para la degradación de metoprolol. El coeficiente de determinación R<sup>2</sup>, se define como la relación de la variación explicada a la variación total y es una medida del grado de ajuste; para un buen ajuste de un modelo, R<sup>2</sup> debe estar en al menos 0.80 (Fu et al., 2008).

La respuesta experimental del diseño factorial 2<sup>5</sup>, se representa por el siguiente modelo polinomial lineal con interacciones.

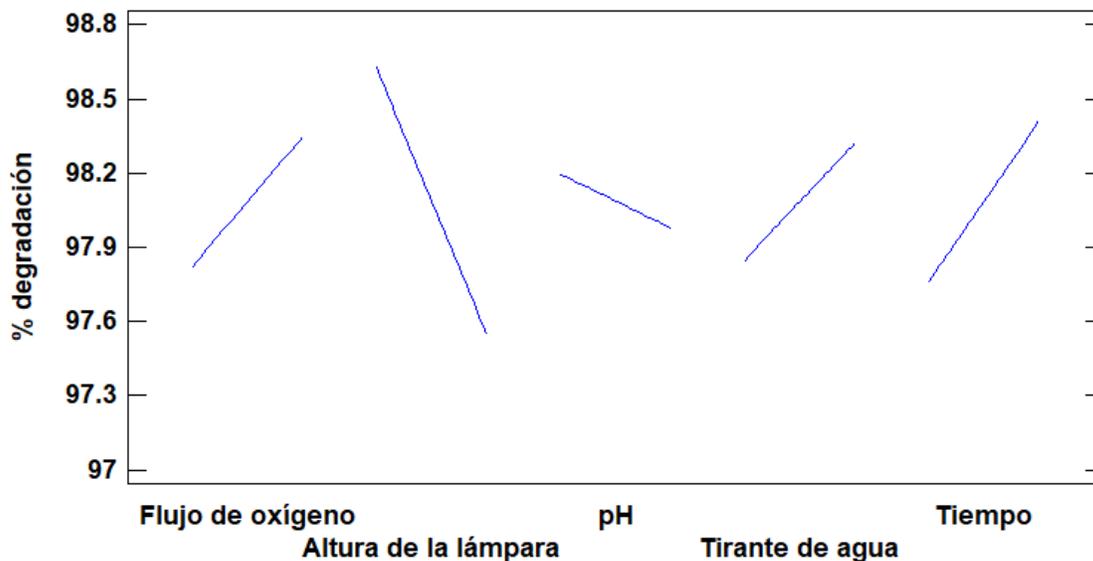
$$Y_{MET} = 98.08 + 0.26X_1 - 0.54X_2 - 0.10X_3 + 0.23X_4 + 0.32X_5 + 0.23X_1X_2 + 0.12X_1X_3 - 0.23X_1X_4 - 0.32X_1X_5 - 0.003X_2X_3 + 0.005X_2X_4 + 0.33X_2X_5 + 0.39X_3X_4 + 0.25X_3X_5 - 0.13X_4X_5 \text{ ----- Ec.1}$$

En donde X<sub>1</sub> representa el flujo de oxígeno, X<sub>2</sub> la altura de la irradiación, X<sub>3</sub> pH, X<sub>4</sub> es el tirante de la solución y X<sub>5</sub> el tiempo de reacción. El coeficiente b<sub>0</sub> indica que la degradación promedio considerado para los 32 experimentos es del 98.08% de metoprolol. La altura de la irradiación es la que influye fuertemente en la degradación del metoprolol (b<sub>2</sub>=-0.54), indicando que la lámpara deberá estar en la posición más baja con respecto a las placas nanotubulares, el segundo factor importante es el tiempo de reacción (b<sub>5</sub>=0.32), se observa una influencia positiva cuando se aumenta el tiempo de trabajo de 60 min a 120 minutos, el flujo de oxígeno (b<sub>1</sub>=0.26) afecta de manera positiva la degradación, debido a que el proceso de fotocátalisis se mejora utilizando el O<sub>2</sub>, el cual es un aceptor de electrones que ayuda a reducir la recombinación del par e<sup>-</sup>/h<sup>+</sup>, promoviendo así la generación de especies altamente oxidantes como lo son los radicales OH• y el ion O<sub>2</sub><sup>-</sup> (Martinez et al., 2011), el tirante de solución (b<sub>4</sub>=0.23), es otro factor que influye positivamente en la degradación, esto se debe a que al aumentar el volumen de solución dentro del reactor, el tiempo de retención hidráulica aumenta, permitiendo que la solución de trabajo permanezca más tiempo dentro del reactor, el pH ejerce influencia en la superficie del catalizador y la capacidad de adsorción y desorción de los compuestos (Carabin et al., 2016), los niveles de pH utilizados (b<sub>3</sub>=-0.10), tiene el efecto de menor influencia en la degradación del fármaco, sin embargo, al pH con nivel bajo se efectuó una mayor degradación, esto se debe a que el pK<sub>a</sub> del metoprolol (9.6) origina que se encuentre en la solución como especie ionizada, por lo tanto, se promueve atracciones y repulsiones entre las estructuras nanotubulares y el metoprolol. En la figura siguiente (**Figura 89**) se



aprecia la degradación del metoprolol y su relación con los efectos principales descritos.

**Gráfica de Efectos Principales para % degradación**

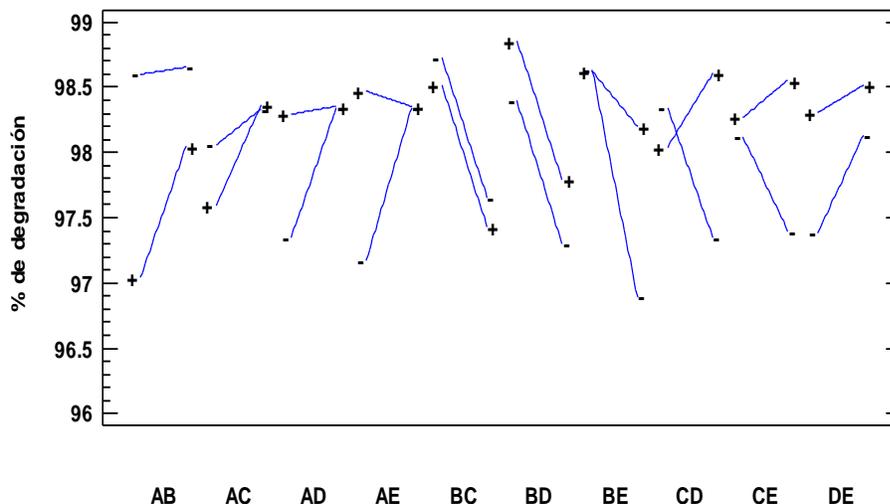


**Figura 89.** Efectos principales sobre la degradación del metoprolol.

Con respecto a las interacciones de los factores, el pH- tirante de la solución ( $X_3X_4$ ) indicaron el mayor coeficiente positivo para la degradación de metoprolol ( $b_{34}=+0.39$ ), las interacciones de la altura de la irradiación-tiempo de reacción ( $X_2X_5$ ,  $b_{25}=+0.33$ ), el pH-tiempo de reacción ( $X_3X_5$ ,  $b_{35}=+0.25$ ), el flujo de oxígeno-pH ( $X_1X_3$ ,  $b_{13}=+0.12$ ) presentaron efectos positivos en la degradación del fármaco (**Figura 90**).

En la **Figura 91** se presenta el análisis de superficie de respuesta y el gráfico de contorno para la degradación de metoprolol tomando como base la Ec. 1, definido en términos de variables codificadas. Como se muestra en la Fig.4, las mejores condiciones de degradación del metoprolol fueron: flujo de oxígeno 4 L/min, máxima intensidad de irradiación (altura de 10 cm), pH de 3, tirante de agua de 2 cm y tiempo de 60 minutos (**Tabla 26**).

Gráfica de Interacción para %de degradación



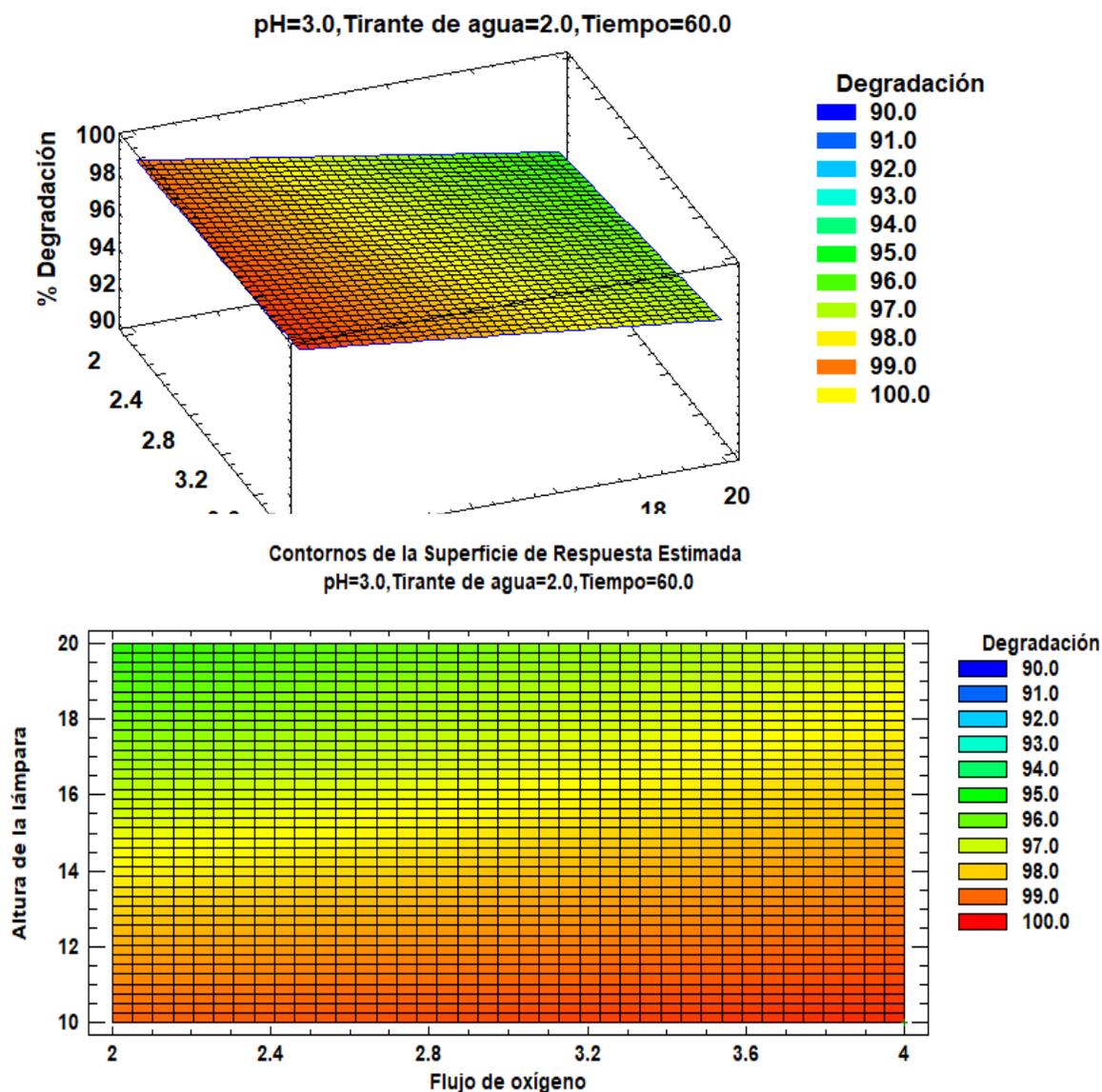
**Figura 90.** Representación de la interacción de las variables por pares sobre la degradación del metoprolol.

**Tabla 26.** Mejores condiciones de degradación para metoprolol

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Flujo de oxígeno (L/min)	2	4	4
Irradiación	10	20	10
pH	3	9	3
Tirante de solución (cm)	1	2	2
Tiempo (min)	60	120	60

La fotocatalisis utilizando estructuras nanotubulares de  $TiO_2$  permitió obtener degradaciones del metoprolol mayores de 98 %. Usando un agua sintética con una concentración inicial del metoprolol de  $5 \mu g L^{-1}$ , en las mejores condiciones de operación se obtuvo una concentración en el efluente de  $0.021 \mu g/L$ , resultando en un tratamiento eficaz para la remoción de este compuesto farmacéutico, con una remoción de 99.58%.

Estudios realizados en el mejillón de agua dulce, exponiéndolo a concentraciones de 0.534  $\mu\text{g/L}$  de metoprolol, reveló que no se produjo ningún efecto significativo en su información genética (Contardo et al., 2010). Por otra parte, Gröner et al. (2015) estudió los hepatocitos de la tilapia del Nilo a concentraciones de 1.069  $\mu\text{g/L}$ , mostrando cambios no significativos en esta especie. Por lo tanto, se concluye que el proceso de fotocátalisis utilizando nanoestructuras de  $\text{TiO}_2$  logra degradar el metoprolol a concentraciones tan bajas que no afecta los organismos acuáticos.



**Figura 91.** Gráfica de superficie de respuesta y de contorno para la interacción de 2 factores, el flujo de oxígeno y a la altura de la irradiación, pH3, tiempo de 60 min, tirante de solución 1.5 cm



## 6. Conclusiones

Para el desarrollo de la técnica analítica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en tándem (SPE/GC–MS-MS) sin derivatización se inició con la identificación y la cuantificación de compuestos farmacéuticos (CF) en soluciones estándar. Con la columna disponible Capilar Elite 5m, 0.25mm x 0.25micom x 30m, se detectaron sin derivatizar compuestos de una polaridad relativamente baja: fenofibrato, ibuprofeno, diclofenaco y carbamazepina.

Para la detección de un conjunto mayor de compuestos farmacéuticos, la mayor parte de los cuales son polares, se adquirió una columna con composición 35M (35% difenil/ 65% dimetil poli-siloxano), la columna capilar Helifex AT-35M, 30 m x 0.25 mm, 0.25 um. Se prepararon soluciones estándar de diferentes compuestos farmacéuticos, se realizó la extracción en fase sólida y se inyectaron al GC–MS sin derivatización usando la nueva columna.

Se realizaron pruebas aplicando diferentes condiciones de operación del cromatógrafo y ensayos para la fragmentación, así como pruebas de identidad. Como resultado del estudio se seleccionaron como modelo para desarrollar la técnica los CF fenofibrato, diclofenaco y carbamazepina.

La extracción en fase sólida se realizaba mediante cartuchos Oasis HLB (copolímero divinylbenzeno/N-vinylpyrrolidon). Para la extracción se probaron diferentes solventes, hexano, acetona, tetrahidrofurano, acetato de etilo y acetonitrilo y los mejores resultados se obtuvieron con acetonitrilo y acetato de etilo.

Una vez establecido el método, se procedió a integrar los picos y darle un valor cuantificable para cada compuesto mediante la elaboración de las curvas de calibración que abarquen un rango amplio de detección, desde 0.001 hasta 2 µg L<sup>-1</sup>, utilizando siempre estándares de alta pureza. En todas las pruebas se consideraron blanco de sistema, blanco de vidriería, blanco de solvente para saber si hay contaminación en la columna o residuos de los compuestos que se estén acumulando. El acondicionamiento se realizaba con 12 ml de acetato de etilo y 5 ml de agua grado HPLC con un flujo de 1 ml/min. Después una alícuota de la muestra de 100-500 ml (pH de 7) se pasaba a través del cartucho con un flujo de 10 ml/min y se enjuagaba con 5 ml de agua grado HPLC.

Luego se hacía la elusión. El cartucho se secaba mediante vacío durante 30 min y se eluía con 4 ml de acetato de etilo a 1 ml/min. Los extractos se evaporaban usando el dispositivo Mini-Vap hasta sequedad. Después las muestras se reconstituyen con 1 ml de acetato de etilo y se pasan a un vial del muestreador



automático del cromatógrafo. La selección del acetato de etilo se realizó con base en los resultados de las pruebas de recuperación. En estas pruebas se evaluaron diferentes combinaciones de solventes y la mayor recuperación se obtuvo con el acetato de etilo.

Esta técnica se probó con fenofibrato, diclofenaco y carbamazepina de forma individual y en mezclas y se realizó la optimización de la técnica analítica. Al final se realizó la validación del método, determinando: límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, veracidad y precisión.

La primera actividad del estudio sobre la degradación de compuestos farmacéuticos en agua mediante oxidación fotocatalítica usando películas con estructura nanotubular de  $\text{TiO}_2$ , fue la síntesis de las películas de nanotubos de  $\text{TiO}_2$  por el método de anodización electroquímica en una celda de teflón y su caracterización, lo cual se realizó en colaboración con CIICAP de la UAEM. Una vez sintetizadas las películas de nanotubos, estas fueron sometidas a un tratamiento térmico para convertir los nanotubos amorfos a cristalinos. Los estudios de la morfología de las películas nanotubulares de  $\text{TiO}_2$  y su caracterización química indicaron que las películas están formadas por arreglos verticales homogéneos cuyo diámetro interior es de 97 nm, espesor de pared de 22 nm y longitud de tubos de 996 nm, mientras que su estructura cristalina estuvo compuesta por anatasa (75%) y rutilo (25%). El sistema experimental para la oxidación fotocatalítica fue constituido por un reactor de acero inoxidable provisto de una lámpara de mercurio UV-A (365 nm) de 100 W, un reservorio para el agua con los compuestos en estudio, una bomba peristáltica para la recirculación y una fuente de oxígeno. En el fondo del reactor se colocaron las películas nanotubulares.

El estudio se realizó usando una solución de metoprolol (5  $\mu\text{g/L}$ ) y aplicando un diseño experimental factorial 25 con cuatro puntos al centro. Las variables fueron: flujo de oxígeno, pH, irradiación, tiempo y tirante de agua. El seguimiento de la degradación del metoprolol se realizó por CG-MS/MS. El análisis de varianza indicó que los factores estadísticamente significativos son la intensidad de la luz y el tiempo de reacción. Las interacciones del flujo de oxígeno y pH, flujo de oxígeno y tirante del agua, así como flujo de oxígeno y tiempo son también estadísticamente significativos. Las mejores condiciones de degradación del metoprolol fueron: flujo de oxígeno 4 L/min, máxima intensidad de irradiación, pH de 3, **tirante de agua de 1 cm** y tiempo de 60 minutos. Se determinó la cinética del proceso para las mejores condiciones de operación. La fotocátalisis utilizando estructuras nanotubulares de  $\text{TiO}_2$  permitió obtener degradaciones del metoprolol mayores de 98 % con concentraciones en el efluente de 0.021  $\mu\text{g/L}$ , resultando en



un tratamiento eficaz para la remoción de este compuesto farmacéutico. Adicionalmente se realizaron experimentos mediante los cuales se determinó que solo el 2-11% del metoprolol se puede remover por adsorción si esta fuese el único proceso de tratamiento y solo el 9-14% se puede remover por fotólisis. Mientras que la fotooxidación catalítica permite remover más de 98%.

**Beneficios que genera el proyecto:**

**Social y Ambiental:** Desarrollo de tecnología novedosa para el tratamiento del agua residual que permita asegurar la protección de la salud pública y evitar impactos negativos al medio ambiente.

**Científico:** Generación de conocimientos para el desarrollo de nuevos procesos y sistemas de tratamiento de aguas residuales para remover contaminantes emergentes.

**Tecnológico y económico:** Generación de tecnología novedosa para el manejo sostenible de aguas residuales.



## 7. Bibliografía

Asimakopoulou, A., Kurunthachalam, K. (2016). Neuropsychiatric pharmaceuticals and illicit drugs in wastewater treatment plants: a review. *Environmental Chemistry*. 13, 541–576.

Badillo, M.S.J. (2010). Identificación y cuantificación de fármacos en aguas residuales de la Ciudad de México por microextracción en fase sólida cromatografía de gases espectrometría de masas (MEFS-CG-EM). Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Barceló, D., López de Alda, M. (2008). Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Panel Científico-Técnico de Seguimiento de la Política de Aguas. Convenio universidad de Sevilla-Ministerio de Medio Ambiente. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC. Barcelona.

Baumann, L., Knörr, S., Keiter, S., Rehberger, K., Volz, S., Segner, H., Braunbeck, T. (2014). Reversibility of endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*) after discontinued exposure to the estrogen 17 $\alpha$ -ethinylestradiol. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 278, 230–237.

Berridge, C., Devilbiss, D., Andrzejewski, M., Arnsten, A., Kelley, A., Schmeichel B. (2006). Methylphenidate preferentially increases catecholamine neurotransmission within the prefrontal cortex at low doses that enhance cognitive function. *Biol Psychiatry*. 60.1111–20.

Bessergenev, V., Mateus, M., I.M. Morgado, I., Burkel, E. Photocatalytic reactor, CVD technology of its preparation and water purification from pharmaceutical drugs and agricultural pesticides. *Chemical Engineering Journal*. 312, 306–316

Blair, B., Crago, J., Hedman, C., Klaper, R. (2013). Pharmaceuticals and personal care products found in the Great Lakes above concentrations of environmental concern. *Chemosphere* 93, 2116– 2123.

Boles, T. y Wells, M. (2010). Analysis of amphetamine and methamphetamine as emerging pollutants in wastewater and wastewater-impacted streams. *Journal of Chromatography A*. 1217, 2561–2568.

Brillas, E., Sires, I., Oturan, M. (2009). Electro-Fenton Process and Related Electrochemical Technologies Based on Fenton's Reaction Chemistry. *Chem. Rev.* 109, 6570–6631.

Byrne, J., Dunlop, P., Hamilton, J., Fernández, P., Polo, I., Kumar, P., Vennard, A. (2015). A Review of Heterogeneous Photocatalysis for Water and Surface Disinfection. *Molecules*. 20, 5574-5615.

Campos, S.C., Alvarado, M.E., Becerril, B.J.E. (2017). Determinación de fármacos y metabolitos de muestras de aguas, suelo y sedimento de la zona lacustre de la Ciudad de México, por extracción acelerada con disolventes y cromatografía de gases acoplada a



- espectrometría de masas. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: Investigación, desarrollo y práctica*, 285-302.
- Canle, M., Fernández, M., Santaballa, A. (2017). Photocatalyzed degradation/abatement of endocrine disruptors. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 6, 101–138.
- Carabin, A., Drogui, P., Robert, D. (2016). Photocatalytic Oxidation of Carbamazepine: Application of an Experimental Design Methodology. *Water Air Soil Pollut.* 227, 122.
- Casbeer, E., Sharma, S., Li, X. (2012). Synthesis and photocatalytic activity of ferrites under visible light: A review. *Separation and Purification Technology*. 87, 1–14.
- Coelho, A., Sans, C., Esplugas, S., Dezotti., M. (2010). Ozonation of NSAID: A Biodegradability and Toxicity Study. *Ozone: Science & Engineering*. 32, 91–98.
- Contardo-Jara, V., Pflugmacher, S., Nützmann, G., Kloas, W., Wiegand, C. (2010). The  $\beta$ -receptor blocker metoprolol alters detoxification processes in the non-target organism *Dreissena polymorpha*. *Environmental pollution*, 158(6), 2059-2066.
- Corrales, L., Muñoz -Ariza, M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*. 10, 213-22.
- Cuevas, C., Davis, O., Vera, A., Mijaylova, P. (2017). TiO<sub>2</sub> nanotubular films obtained in mixed organic-inorganic electrolyte and their photoelectrochemical and photocatalytic behavior. *Materials Research Society*. 2, 2729-2735
- Daia, C., Zhou, X., Zhang, Y., Duan, Y., Qiang, Z., Zhang, T. (2012). Comparative study of the degradation of carbamazepine in water by advanced oxidation processes. *Environmental Technology*. 33, 1101–1109.
- Doll, T., Frimmel, F. (2004). Kinetic study of photocatalytic degradation of carbamazepine, clofibric acid, iomeprol and iopromide assisted by different TiO<sub>2</sub> materials— determination of intermediates and reaction pathways. *Water Research*. 38, 955–964.
- Dopheide, J., Pliszka, SR. (2009). Attention-deficit-hyperactivity disorder: an update. *Pharmacotherapy*. 29. 656–79.
- Durán-Álvarez, J. C., Prado-Pano, B., Jiménez-Cisneros, B. (2012). Sorption and desorption of carbamazepine, naproxen and triclosan in a soil irrigated with raw wastewater: Estimation of the sorption parameters by considering the initial mass of the compounds in the soil. *Chemosphere*, 88(1), 84-90.
- Ebele, A., Abou-Elwafa, M., Harrad, S. (2017). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*. 3, 1-16.
- Eggen, T., Lillo, C. (2012). Antidiabetic II drug metformin in plants: uptake and translocation to edible parts of cereals, oily seeds, beans, tomato, squash, carrots, and potatoes. *J. Agric. Food Chem.* 60, 6929–6935
- EuroLab España. P.P. Morillas y colaboradores. *Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1a ed. 2016)*.



- Evgenidou, E., Konstantinou, L., Lambropoulou, D. (2015). Occurrence and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: A review. *Science of the Total Environment*. 505, 905–926.
- Fakhria, A., Najic, M., Tahamid, S. (2017). Ultraviolet/ultrasound-activated persulfate for degradation of drug by zinc selenide quantum dots: Catalysis and microbiology study. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*. 170, 304–308.
- Farghali, A. A., Zaki, A. H., Khedr, M. H. (2016). Control of selectivity in heterogeneous photocatalysis by tuning TiO<sub>2</sub> morphology for water treatment applications. *Nanomaterials and Nanotechnology*, 6, 12.
- Fernández-López, C., Guillén-Navarro, J.M., Padilla, J., Parsons, J. (2016). Comparison of the removal efficiencies of selected pharmaceuticals in wastewater treatment plants in the region of Murcia, Spain. *Ecol. Eng.* 95. 811–816.
- Ferreira da Silva, B., Jelic, A., López-Serna, R., Mozeto, A., Petrovic, M., Barceló, D. (2011). Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. *Chemosphere* 85. 1331–1339.
- Flores, Y. (2017). Remoción de compuestos farmacéuticos en reactores con biomasa inmovilizada. Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ingeniería.
- Focazio, M., Kolpin, D., Barnes, K., Furlong, E., Meyer, M., Thurman, M. (2008). A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States — II) Untreated drinking water sources. *Science of the total environment*. 402, 201–216.
- García, J. (2018). Oxidación electroquímica de compuestos farmacéuticos presentes en el agua residual. Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ingeniería.
- Gavrilescu, M., Demnerova, K., Amand, J., Agathos, S., Fava, F. (2015). Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New Biotechnology*. 32, 1.
- Geissen, V., Molb, H., Klumpp, E., Umlauf, G., Nadale, M. (2015) Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. *International. Soil and Water Conservation Research*. 3, 57–65.
- Gutiérrez, B. M.C., Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes del mal olor. *Boletín Intexter (U.P.C.)*.
- Gutiérrez, T. (2015) Remoción de fármacos reguladores de lípidos mediante biorreactores con membranas sumergidas. Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ingeniería.
- Goedecke, C., Fettig, I., Piechotta, C., Philipp, R., Geissen, S. U. (2017). A novel GC-MS method for the determination and quantification of metformin in surface water. *Analytical Methods*, 9(10), 1580-1584.



He, Y., Sutton, N., Huub, H., Rijnaarts, A. (2016). Degradation of pharmaceuticals in wastewater using immobilized TiO<sub>2</sub> photocatalysis under simulated solar irradiation. *Applied Catalysis B: Environmental* 182,132–141.

Hernando, M., Mezcuca, M., Fernández, A., Barceló, D. (2006). Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta* 69. 334–342.

Huerta, C. (2015). Aplicación de nanomateriales de TiO<sub>2</sub> modificado con magnetita y dopado con Au y Ag para la oxidación fotoquímica de contaminantes aromáticos. Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ingeniería..

Inostroza, P., Massei, R., Wild, R., Krauss, M., Brack, W. (2015). Chemical activity and distribution of emerging pollutants: Insights from a multi-compartment analysis of a freshwater system. *Environmental Pollution* 231 (2017) 339-347.

Ishibash, K., Fujishima, A., Watanabe, T., Hashimoto, K. (2000). Detection of active oxidative species in TiO<sub>2</sub> photocatalysis using the fluorescence technique. *Electrochemistry Communications*. 2. 207-210.

Jelić, A., Gros, M., Petrović, M., Ginebreda, A., Barceló, D., 2012. Occurrence and elimination of pharmaceuticals during conventional wastewater treatment. In: Guasch, H., Ginebreda, A., Geiszinger, A. (Eds.), *Emerging and Priority Pollutants in Rivers: Bringing Science Into River Management Plans*. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 1–23.

Jelic', A., Gros, M., Petrovic', M., Ginebreda, A., Barceló, D. (2012). Occurrence and Elimination of Pharmaceuticals During Conventional Wastewater Treatment. *The Handbook of Environmental Chemistry*. Vol. 19. Springer.

Jiménez Cartagena C. (2011). Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: productos farmacéuticos. *Revista Lasallista de Investigación*, 8(2), 143-153.

Jimenez-Relinque, E., Castellote, M. (2015). Quantification of hydroxyl radicals on cementitious materials by fluorescence spectrophotometry as a method to assess the photocatalytic activity. *Cement and Concrete Research*. 74. 108–115.

Jimenez-Relinque, E., Castellote, M. (2018). Hydroxyl radical and free and shallowly trapped electron generation and electron/hole recombination rates in TiO<sub>2</sub> photocatalysis using different combinations of anatase and rutile. *Applied Catalysis A, General* 565. 20–25.

Kasprzyk, H., Dinsdale, A., Guwy, J. (2008). Multiresidue method for the analysis of pharmaceuticals, personal care products and illicit drugs in surface water and wastewater by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical and Bionalytical Chemistry*. 391, 1293-1308.

Kaur, A., Umar, A., Kansal, S. K. (2016). Heterogeneous photocatalytic studies of analgesic and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Applied Catalysis A: General*. 510, 134-155.



- Khataee, A., Ponsb, M., Zahraac, O. (2009). Photocatalytic degradation of three azo dyes using immobilized TiO<sub>2</sub> nanoparticles on glass plates activated by UV light irradiation: Influence of dye molecular structure. *Journal of Hazardous Materials*. 168, 451–457.
- Kuzmanović, M., Ginebred, A., Petrović, M., Barceló, D. (2015). Risk assessment based prioritization of 200 organic micropollutants in 4 Iberian rivers. *Science of the Total Environment*. 503–504, 289–299.
- Laoufi, N. (2010). Etude de la photodégradation de Polluants organiques dans un réacteur hélicoïda. Thèse de doctorat.
- Lee, K., Ku, H., Pak, D. (2016). OH radical generation in a photocatalytic reactor using TiO<sub>2</sub> nanotube plates. *Chemosphere* 149, 114-120.
- Letzel, M., Weiss, K., Schüssler, W., Sengl, M. (2010). Occurrence and fate of the human pharmaceutical metabolite ritalinic acid in the aquatic system. *Chemosphere* 81, 1416–1422.
- Ling, C., Mohamed, A., Bhatia, S. (2004). Performance of photocatalytic reactors using immobilized TiO<sub>2</sub> film for the degradation of phenol and methylene blue dye present in water stream. *Chemosphere* 57, 547–554
- Liu, H., Lamb, J., Li, W., Yu, H., Lamb, P. (2017). Spatial distribution and removal performance of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment plants in China. *Science of the Total Environment*. 586, 1162–1169.
- Liu, J., Dana, X., Lua, G., Shena, J., Wua, D., Yana, Z. (2018). Investigation of pharmaceutically active compounds in an urban receiving water: Occurrence, fate and environmental risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 154, 214–220.
- Luo, Y., Guoa, W., Ngo, H., Nghiemb, L., Duc, L., Zhang, J., Liang, S., Wang, X. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the Total Environment*. 473–474, 619–641.
- Markiewicz, M., Jungnickelb, C., Stolte, S., Białk, A., Kumirskac, J., Mroziak, W. (2017). Primary degradation of antidiabetic drugs. *Journal of Hazardous Materials* 324, 428–435.
- Martín, J., Buchberger, W., Santos, J., Alonso, E., Aparicio, I. (2018). High-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry method for the analysis of antidiabetic drugs in aqueous environmental samples. *Journal of Chromatography B*, 895–896. 94–101.
- Martínez, C., Canle, M., Fernández, M., Santaballa, J., Faria, J. (2011). Aqueous degradation of diclofenac by heterogeneous photocatalysis using nanostructured materials. *Applied Catalysis B: Environmental*. 107, 110–118.
- Mei, L., Rahman, R., Subhash, B. (2004). Performance of photocatalytic reactors using immobilized TiO<sub>2</sub> film for the degradation of phenol and methylene blue dye present in water stream. *Chemosphere* 57, 547–554.



- Meribouta, R., Chengc, J., Wangc, C., Wong-Wah-Chung, P. (2016). Photocatalytic degradation of antiepileptic drug carbamazepine with bismuth oxychlorides (BiOCl and BiOCl/AgCl composite) in water. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 328, 105–113.
- Monteiro, C., & Boxall, B. (2010). Reviews of environmental contamination and toxicology. En: D. Whitacre, occurrence and fate of Human pharmaceuticals in the environment (Primera ed., págs. 53-154). New York, Estados Unidos de América: Springer.
- Morsi, T., Budakowski, W., Abd-El-Aziz, A., Friesen, K. (2000). Photocatalytic Degradation of 1,10-Dichlorodecane in Aqueous Suspensions of TiO<sub>2</sub>: A Reaction of Adsorbed Chlorinated Alkane with Surface Hydroxyl Radicals. *Environ. Sci. Technol.* 34, 1018-1022.
- Nezar, S., Laoufi, N. (2018). Electron acceptors effect on photocatalytic degradation of metformin under sunlight irradiation. *Solar Energy*. 164, 267–275.
- Niemuth, N., Jordan, R., Crago, J., Blanksma, C., Johnson, R., Klaper, R. (2015). Metformin exposure at environmentally relevant concentrations causes potential endocrine disruption in adult male fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 34, 291–296.
- Oliveira, T., Murphy, M., Mendola, N., Wong, V., Carlson, D., Waring, L. (2015). Characterization of Pharmaceuticals and Personal Care products in hospital effluent and waste water influent/effluent by direct-injection LC-MS-MS. *Science of the Total Environment* 518, 459–478.
- Oosterhuis, M., Sacher, F., Ter Laak, T. (2013). Prediction of concentration levels of metformin and other high consumption pharmaceuticals in wastewater and regional surface water based on sales data. *Science of the Total Environment*. 442, 380–388.
- Ortega, S.H.H. (2107). Determinación del ketorolaco en el efluente de una planta tratadora hospitalaria por medio de un muestreo pasivo. Universidad Autónoma del Estado de México, México.
- Otieno, K., Faith, K., Kandie, J., Vergeynst, L., Akinyi, M., Abira b, Demeestere, K. (2018). Occurrence, fate and removal of pharmaceuticals, personal care products and pesticides in wastewater stabilization ponds and receiving rivers in the Nzoia Basin, Kenya. *Science of the Total Environment*. 637–638, 336–348
- Osenbrück, K., Gläser, H.-R., Knöller, K., Weise, S.M., Möder, M., Wennrich, R., Schirmer, M., Reinstorf, F., Busch, W., Strauch, G. (2007). Sources and transport of selected organic micropollutants in urban groundwater underlying the city of Halle (Saale), Germany. *Water Res.* 41, 3259–3270
- Palominos, R., Moraa, A., Mondacab, M., Pérez, M., Mansilla, H. (2008). Oxolinic acid photo-oxidation using immobilized TiO<sub>2</sub>. *Journal of Hazardous Materials* 158. 460–464
- Papageorgiou, M., Kosma, C., Lambropoulou, D., (2016). Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in Central Greece. *Sci. Total Environ.* 543, 547–569



- Peng, X., Ou, W., Wang, C., Wang, Z., Huang, Q., Jin, J., Tan, J. (2014). Occurrence and ecological potential of pharmaceuticals and personal care products in groundwater and reservoirs in the vicinity of municipal landfills in China. *Sci. Total Environ.* 490, 889–898.
- Perez, F., Mainero, L., Tomai, P., Fanali, S., Gentili, A. (2017). Recent advancements and future trends in environmental analysis: Sample preparation, liquid chromatography and mass spectrometry. *Analytica Chimica.* 9-41
- Poyatos, J., Muñio, M., Almecija, M., Torres, J., Osorio, F. (2010). Advanced oxidation processes for wastewater treatment: State of the art. *Water, Air and Soil Pollution.* 205, 187–204.
- Rivera, J. Sanchez, M., Ferr, M., Prados, G., Ocampo, R. (2013). Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere*, 93, 1268-1287.
- Rodríguez, E., Márquez, G., Tena, M., Álvarez, P., Beltrán, F. (2015). Determination of main species involved in the first steps of TiO<sub>2</sub> photocatalytic degradation of organics with the use of scavengers: The case of ofloxacin. *Applied Catalysis B: Environmental.* 178. 44–53.
- Rodríguez, E., Márquez, G., Tena, M., Beltrán, F. (2015). Determination of main species involved in the first steps of TiO<sub>2</sub> photocatalytic degradation of organics with the use of scavengers: The case of ofloxacin. *Applied Catalysis B: Environmental.* 178, 44–53.
- Ruano, M.L. (2009). *Desarrollos metodológicos en cromatografía de gases y electroforesis capilar.* Universidad de Salamanca, Salamanca
- Salah, N. (2012). *Etude de la dégradation photocatalytique de polluants organiques en présence de dioxyde de titane, en suspension aqueuse et en lit fixe, thèse de doctorat.*
- Santos, J., Aparicio, I., Alonso, E. (2007). Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater treatment plants. *Environment International.* 33, 596–601.
- Scheurer, M., Michel, A., Brauch, H., Ruck, W., Sacher, F. (2012). Occurrence and fate of the antidiabetic drug metformin and its metabolite guanylurea in the environment and during drinking water treatment. *Water research* 46, 4790 -4802.
- Schumock, T., Li, C., Suda, J., Matusiak, M., Hunkler, J., Vermeulen, C., Hoffman, J. (2014). National trends in prescription drug expenditures and projections for 2014. *American Journal of Health-System Pharmacy.* American Journal of Health-System Pharmacy. 71, 482–499.
- Sin, J., Lam, S., Mohamed, R., Lee, T. (2012). Degrading endocrine disrupting chemicals from wastewater by TiO<sub>2</sub> Photocatalysis: a review. *Int. J. Photoenergy.*
- Stülten, D., Zühlke, S., Lamshöft, M., Spittler, M. (2008). Occurrence of diclofenac and selected metabolites in sewage effluents. *Science of the Total Environment.* 405, 310–316.



Sui, Q., Cao, X., Lu, S., Zhao, W., Qiu, Z., Yu, G. (2015). Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: A review. *Emerging Contaminants* 1, 14-24.

Talero-Pérez, V., Medina, O., Rozo-Núñez, W. (2014). Técnicas analíticas contemporáneas para la identificación de residuos de sulfonamidas, quinolonas y cloranfenicol *Universitas Scientiarum*, vol. 19, 1,11-28 Pontificia Universidad Javeriana Bogotá, Colombia.

Taylor, D., Senac, T. (2014). Human pharmaceutical products in the environment - the "problem" in perspective. *Chemosphere*, 115, 95-9.

Tejada, C., Quiñonez, E., Peña, M. (2014). Contaminantes emergentes en aguas: Metabolitos de fármacos. Una revisión. *Facultad de ciencias básicas*, 10 (1), 80-101.

TOXNET. National Institutes of Health, Health & Human Services. Disponible en: <https://toxnet.nlm.nih.gov/newtoxnet/faq.html> (23/04/2019).

Trautwein, C., Kümmerer, K. (2011). Incomplete aerobic degradation of the antidiabetic drug Metformin and identification of the bacterial dead-end transformation product Guanylurea. *Chemosphere* 85, 765–773.

Triebkorn, R., Casper, H., Scheil, V., Schwaiger, J. (2007). Ultrastructural effects of pharmaceuticals (carbamazepine, clofibrac acid, metoprolol, diclofenac) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*).

Verma, S., Kumar, R. (2017). Enhanced ROS generation by ZnO-ammonia modified graphene oxide nanocomposites for photocatalytic degradation of trypan blue dye and 4-nitrophenol. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 5, 4776–4787

Vieno, N., Sillanpää, M. (2014). Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant. A review. *Environment International*. 69, 28–39.

Virkutyte, J., Veeriah, J., Rajender S. (2010). *Treatment of Micropollutants in Water and Wastewater*. IWA Publishing. ISBN: 9781843393160. London, UK.

Yan, J. H., Xiao, Y., Tan, D. Q., Shao, X. T., Wang, Z., Wang, D. G. (2019). Wastewater analysis reveals spatial pattern in consumption of anti-diabetes drug metformin in China. *Chemosphere*, 222, 688-695.

Yang, Y., Sik, Y., Kim, K., Kwon, E., Tsang, Y. (2017). Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: A review. *Science of the Total Environment* 596–597. 303–320.

Yang, Y., Yong, S., Ki-Hyun, K., Eilhann, E., Yiu Fai Tsang. (2017). Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: A review. *Science of the Total Environment*. 596, 303–320.

Yi Yang, Y., Sik, Y., Kim, K., Kwon, E., Tsang, Y. (2017). Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: A review. *Science of the Total Environment* 596–597, 303–320.



Yu, H., Nie, E., Xu, J., Yan, S., Cooper, W. (2013). Degradation of diclofenac by advanced oxidation and reduction processes: Kinetic studies, degradation pathways and toxicity assessments. *Water research*. 47, 1909-1918.

Zhang, Y., Geissen, S., Gal, C. (2008). Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere* 73, 1151–1161.