



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
PUEBLA**

**INSTITUTO DE CIENCIAS**

**POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

*“La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra”*



**Diseño y evaluación de un catalizador enzimático inmovilizado en el tratamiento de  
ciprofloxacino y levofloxacino en agua.**

TESIS

Que para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

Presenta

**FERNANDO PACHECO TORRES**

Directora de tesis:  
D.C Gabriela Pérez Osorio



Octubre 2022



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**INSTITUTO DE CIENCIAS**

**POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**



*“La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra”*

**Diseño y evaluación de un catalizador enzimático inmovilizado en el tratamiento de ciprofloxacino y levofloxacino en agua.**

TESIS

Que para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

Presenta

**FERNANDO PACHECO TORRES**

Comité tutorial:

Directora	D.C Gabriela Pérez Osorio
Tutor	D.C Fabiola Avelino Flores
Integrante Comité Tutorial	D.C José Víctor Rosendo Tamariz Flores
Integrante Comité Tutorial	D.C J Santos Hernández Zepeda

Octubre 2022



**BUAP**

**C. FERNANDO PACHECO TORRES**

Por este conducto me permito comunicarle que los miembros del jurado integrado por:

*D.C EDUARDO TORRES RAMÍREZ PRESIDENTE  
D.C EDITH CHÁVEZ BRAVO SECRETARIA  
D.C WENDY ARGELIA GARCÍA SUASTEGUI PRIMER VOCAL  
D.C CYNTHIA ROMERO GUIDO SEGUNDO VOCAL  
D.C JOSÉ VÍCTOR TAMARIZ FLORES PRIMER SUPLENTE*

Designado para la defensa de su tesis **“Diseño y evaluación de un catalizador enzimático inmovilizado en el tratamiento de ciprofloxacino y levofloxacino en agua”** han manifestado mediante su voto que ésta cumple con los méritos suficientes para ser defendida como tesis de grado de Maestría en Ciencias Ambientales, por lo que este Posgrado le autoriza la impresión de la misma.

Sin otro asunto en lo particular, quedo de Usted.

**ATENTAMENTE**

“Pensar bien, para vivir mejor”  
Puebla de Z; 20 de octubre de 2022

**Dra. Rosalía del Carmen Castelán Vega**  
Coordinadora  
Posgrado en Ciencias Ambientales



## **Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante la realización de mis estudios de maestría con número de apoyo 770041.

Se agradece a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del Eje IV. Modelo de Investigación abierta y compartida. Objetivo 13. Formar recursos humanos que impacten positivamente en el contexto social y científico como consecuencia de su accionar en una comunidad para lograr una educación desarrolladora de la transformación. Indicador establecido en el Plan de Desarrollo Institucional 2021-2025.

Al Posgrado en Ciencias Ambientales por aceptarme y formarme como Maestro en Ciencias Ambientales. A mi asesora de tesis, la Dra. Gabriela Pérez Osorio por compartir su conocimiento, su tiempo y este camino de dos años, y al Dr. Eduardo Torres Ramírez por guiarme en la fase experimental, dando apoyo con espacio de trabajo, insumos y su amplio conocimiento. A mi comité tutorial, cuyas contribuciones fueron muy valiosas para enriquecer mi trabajo de tesis.

Mi más profundo agradecimiento de corazón a mis padres Sandra María del Rosario y Otto Raúl; gracias por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se los debo a ustedes, entre los que incluyo este; gracias por sus enseñanzas, por sus palabras de aliento y su manera de instruirme para afrontar las verdades de la vida.

## **Dedicatoria**

*A mi compañero de vida, Jonathan; y a nuestros perros, Jake, Negra y Canela.*

## ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	2
III. JUSTIFICACIÓN.....	4
IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS .....	5
IV.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	5
IV.2 HIPÓTESIS.....	5
V. OBJETIVOS.....	6
V.1 Objetivo general.....	6
V.2 Objetivos específicos.....	6
VI. MARCO DE REFERENCIA.....	7
VI.1 Marco teórico.....	7
VI.1.1 Antibióticos fluoroquinolonas.....	9
VI.1.2 Biotatálisis ambiental .....	12
VI.1.3 Inmovilización de enzimas .....	14
VI.1.4 Óxido de silicio .....	17
VI.1.5 Situación actual de la contaminación de agua en el Estado de Puebla .....	18
VI.1.6 Infraestructura de tratamiento y monitoreo de la calidad del agua en el Estado de Puebla .....	20
VI.2 Marco legal.....	33
VI.2.1 Análisis de la normatividad referente a la contaminación del agua por antibióticos .....	33
VI.3 Tipo de investigación .....	42
VII. METODOLOGÍA .....	44
VII.1 Análisis de Infraestructura hidráulica y contaminación del agua en el Estado de Puebla .....	44
VII.1.1 Descripción general socioeconómica y ambiental del Estado .....	44
VII.1.2 Plantas tratamiento de aguas residuales (PTAR).....	44
VII.1.3 Contaminación del agua .....	44
VII.2 Diseño y caracterización del catalizador cloroperoxidasa/dióxido de silicio (CPO/SiO <sub>2</sub> ) .....	44
VII.2.1 Síntesis y caracterización del soporte SiO <sub>2</sub> .....	44
VII.2.2 Síntesis y caracterización del catalizador CPO/SiO <sub>2</sub> .....	45
VII.3 Oxidación de los antibióticos ciprofloxacino y levofloxacino (CIP y LEVO) con el CPO/SiO <sub>2</sub> .....	46
VII.3.1 Preparación de las soluciones sintéticas de antibióticos (CIP y LEVO) .....	46
VII.3.2 Pruebas de degradación de los antibióticos con la enzima CPO .....	47
VII.4 Evaluación del desempeño del catalizador CPO/SiO <sub>2</sub> en agua del lago de ciudad universitaria (CU).....	47
VII.4.1 Descripción y ubicación de la zona de estudio .....	47
VII.4.2 Muestreo y caracterización fisicoquímica del agua .....	48
VII.4.3 Pruebas de degradación de CIP Y LEVO en agua del lago de CU .....	56
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	57
VIII.1 Características fisicoquímicas del catalizador CPO/SiO <sub>2</sub> .....	57
VIII.1.1 Estructura cristalina y tamaño de partícula del soporte SiO <sub>2</sub> .....	57
VIII.1.2 Morfología de las partículas del SiO <sub>2</sub> .....	58
VIII.1.3 Composición química elemental del SiO <sub>2</sub> .....	59
VIII.1.4 Espectroscopía IR del SiO <sub>2</sub> .....	59
VIII.1.5 Cuantificación de la enzima inmovilizada en el SiO <sub>2</sub> .....	61
VIII.2 Actividad del catalizador CPO/SiO <sub>2</sub> y degradación de CIP y LEVO en soluciones modelo .....	62

VIII.2.1	Curvas de calibración del CIP y LEVO .....	62
VIII.2.2	Actividad de la enzima en la oxidación de CIP y LEVO .....	63
VIII.2.3	Optimización de las condiciones de reacción de la enzima CPO .....	64
VIII.2.4	Degradación de CIP y LEVO con el catalizador CPO/SiO <sub>2</sub> en soluciones modelo .....	67
VIII.3	Degradación de los antibióticos en el agua del lago de CU .....	69
VIII.3.1	Características fisicoquímicas del agua .....	69
VIII.3.2	Actividad del catalizador CPO/SiO <sub>2</sub> en la oxidación de CIP y LEVO en el agua de la laguna de CU .....	71
VIII.3.3	Comparación del catalizador CPO/SiO <sub>2</sub> con otras tecnologías: .....	73
IX.	CONCLUSIONES .....	76
X.	BIBLIOGRAFÍA .....	78
XI.	ANEXOS .....	86

## ÍNDICE DE FIGURAS

6.1 Estado del arte.....	7
6.2 Estructura de la cloroperoxidasa de <i>Leptoxiphium fumago</i> .....	13
6.3 Interacción Cys29 y Fe de la cloroperoxidasa de <i>Leptoxiphium fumago</i> .....	14
6.4 Estructura tetraédrica del óxido de silicio.....	17
6.5 Porcentaje de la población con servicios de salud.....	21
6.6 Parámetros de la calidad del agua en 25 puntos de muestreo del Estado de Puebla.....	28
7.1 Procedimiento para síntesis de 6 g de SiO <sub>2</sub> mediante el método Sol-Gel.....	45
7.2 Etapas de síntesis de SiO <sub>2</sub> mediante el método sol-gel.....	45
7.3 Inmovilización de CPO en SiO <sub>2</sub> mediante adsorción.....	46
7.4 Mapa de la Laguna de CU de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla con los cuatro puntos de los muestreos realizados.....	48
8.1 Patrón de difracción de óxido de silicio (SiO <sub>2</sub> ) preparado por el método Sol-Gel.....	57
8.2 Imágenes obtenidas de óxido de silicio (SiO <sub>2</sub> ) mediante un microscopio electrónico de barrido....	58
8.3 Espectro de Espectroscopía Dispersiva de energía del óxido de silicio (SiO <sub>2</sub> ) .....	59
8.4 Espectro Infrarrojo del SiO <sub>2</sub> .....	60
8.5 Inmovilización de CPO en SiO <sub>2</sub> mediante adsorción.....	61
8.6 Curvas de calibración de Ciprofloxacino y Levofloxacino en espectrofotómetro de fluorescencia en buffer fosfatos pH 3 60 mM.....	63
8.7 Gráfica de superficie de los modelos de degradación de A) Ciprofloxacino y B) Levofloxacino con catalizador CPO/SiO <sub>2</sub> .....	64
8.8 Ajuste de Michaelis-Menten de velocidad enzimática vs distintas concentraciones de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> para CPO libre e inmovilizada.....	68
8.9 Porcentaje de degradación de CIP reutilizando el catalizador CPO/SiO <sub>2</sub> .....	68
8.10 A) Velocidad de degradación de CIP (mol CIP · mol CPO <sup>-1</sup> · min <sup>-1</sup> ) y B) porcentaje de degradación de CIP.....	72
8.11 A) Velocidad de degradación de LEVO (mol LEVO · mol CPO <sup>-1</sup> · min <sup>-1</sup> ) y B) porcentaje de degradación de LEVO.....	73



## ÍNDICE DE TABLAS

6.1 Investigaciones donde se emplea enzima cloroperoxidasa libre o inmovilizada para degradar contaminantes emergentes en agua.....	8
6.2 Antibióticos fluoroquinolonas existentes hasta el momento.....	10
6.3 Estructura central de las fluoroquinolonas y estructura de las tres fluoroquinolonas más usadas en México (Ciprofloxacino, Levofloxacino y Moxifloxacino) .....	11
6.4 12 plantas de tratamiento de agua residual municipal del Estado de Puebla.....	23
6.5 Tratamientos de aguas residuales utilizados en el Estado de Puebla.....	23
6.6 Organismos presentes en sistemas de tratamiento biológico.....	24
6.7 Descripción de los tratamientos de aguas residuales más usados en el estado de Puebla.....	25
6.8 Puntos de muestreo conservados de la Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua en el Estado de Puebla.....	26
6.9 Presencia de distintos antibióticos en cuerpos de agua alrededor del mundo.....	31
8.1 Resultados obtenidos de FTIR del SiO <sub>2</sub> y su comparación con distintas fuentes consultadas.....	61
8.2 Resultados de ensayos 1 y 2 de inmovilización de CPO en SiO <sub>2</sub> por adsorción.....	62
8.3 Resultados de la degradación de CIP con distintas concentraciones de la enzima cloroperoxidasa (CPO) libre con una concentración de 1.667 mg/L de antibiótico.....	64
8.4 Puntos óptimos de degradación obtenidos mediante un DCC realizado en Mintiab y analizado en Desing Expert Version 13.....	66
8.5 Comparativa de porcentaje de degradación y velocidad, así como actividad conservada de la CPO libre e inmovilizada.....	67
8.6 Resultados de análisis de muestra compuesta de la Laguna de oxidación de CU, BUAP.....	70
8.7 Comparación de distintos métodos de tratamiento de fármacos en agua con el catalizador CPO/SiO <sub>2</sub> elaborado.....	74

## I. INTRODUCCIÓN

La presencia de contaminantes emergentes en cuerpos de agua ha sido un tema que ha pasado desapercibido por muchas décadas, entre estos se encuentran los antibióticos. Parte de los antibióticos administrados se excretan por el organismo de manera que llegan al sistema de drenaje municipal y finalmente a los cuerpos receptores. Se ha reportado la presencia y efectos de los antibióticos en la biota, como la afectación de las comunidades microbianas, desbalance dentro de cloroplastos, mitocondrias y conductancia estomática, alterando el crecimiento. Recientemente se ha reportado la presencia de antibióticos en aguas residuales en San Martín Texmelucan, Puebla, por lo que se diseña un catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> basado en óxido de silicio (SiO<sub>2</sub>) y la enzima cloroperoxidasa (CPO) de *Caldariomyces fumago*, el SiO<sub>2</sub> fue sintetizado por el método Sol-Gel utilizando tetraetilortosilicato (TEOS) como precursor de silicio, el material se caracterizó por Difracción de rayos X (DRX), Microscopía electrónica de barrido (MEB), Espectroscopía dispersiva de energía (EDS) y Espectroscopía Infrarroja (FTIR), lo que permite asumir una síntesis exitosa al tratarse de un material amorfo, sin impurezas, y de acuerdo a la Ecuación de Echerrer tiene un tamaño de partícula de 13.01 nm. Mediante adsorción se logró inmovilizar 129.50 nmol de enzima por gramo de soporte, usando espectroscopía de fluorescencia se determina una degradación de 93.19% de ciprofloxacino (CIP) después de 5 minutos de reacción a pH 3 con una concentración de enzima inmovilizada de  $5 \times 10^{-11}$  mol L<sup>-1</sup>, adicionalmente el catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> degradó 93.19% en el primer ciclo de reacción, 51.52%, 23.56%, 18.22%, 16.41%, 11.62% y 6.93% en ciclos subsecuentes. Finalmente se comprueba la capacidad de degradación del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> en una muestra de agua compuesta de la laguna de CU.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las ciencias ambientales es una disciplina cuyo propósito es investigar y conocer cuál es la relación de los seres vivos tanto consigo mismos como con el medio ambiente, dentro de su área se pueden encontrar distintos elementos como son los estudios de los problemas ambientales y las propuestas para la solución de estos, esto puede ser a través de la comprensión sobre los procesos químicos que se encuentran en el medio ambiente (Echevarría, 2020). Un agente que altera a la sociedad son las enfermedades causadas por microorganismos patógenos, como bacterias, parásitos u hongos. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades infecciosas representan 25% como causa de mortalidad general en todo el mundo y esta proporción se incrementa en países en vías de desarrollo (Alduenda, Murrieta & Rodríguez, 2018).

Para combatir esta problemática, el humano crea a los antibióticos que restringen o anulan el crecimiento de microorganismos (Gothwal & Shashidhar, 2015), por lo que, la prescripción de los antibióticos y especialmente de fluoroquinolonas es cada vez más común, incluso en algunos casos se cae en el abuso (Alduenda, Murrieta & Rodríguez, 2018). Dentro de este marco de mejoramiento de la calidad de vida, la Organización Mundial de la Salud (OMS) presenta una lista modelo de medicamentos esenciales mínimos requeridos para el sistema básico de salud humana, que son eficientes, seguros y rentables, y el ciprofloxacino y levofloxacino (CIP y LEVO), que son antibióticos pertenecientes a la familia de las fluoroquinolonas se encuentran entre los de la lista (WHO, 2017, 2018).

Una vez prescritos y consumidos los antibióticos, no se metabolizan totalmente y el 50-80% del compuesto original se excreta a través de la orina y parcialmente a través de las heces (Jjemba, 2006; Peng *et al.*, 2009) y finalmente llegan a las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) a través del sistema de drenaje municipal (Kemper *et al.*, 2008). Los antibióticos a menudo se eliminan de forma incompleta durante el tratamiento de aguas residuales y, por lo tanto, se emiten al agua superficial receptora, lo cual puede generar toxicidad en el medio y la aparición de resistencia a los antibióticos presentes (Reddersen *et al.*, 2002). Con el tiempo, la aparición de resistencia a las fluoroquinolonas se ha convertido en un problema grave entre muchos patógenos resistentes emergentes y esto finalmente termina limitando su uso (Hooper, 2001), y con esto se pierden las ventajas que estos fármacos ofrecen, alta potencia, amplio espectro de actividad, biodisponibilidad favorable, formulaciones convenientes y altas concentraciones séricas, así como una incidencia comparativamente baja de efectos secundarios (Andersson, 2003).

La aparición de resistencias a los antibióticos se puede clasificar en dos categorías, por generación de mutaciones en los genes y por la adquisición de genes de resistencia de otras fuentes mediante

plásmidos (Pham, Ziora & Blaskovich, 2019). Estos plásmidos que portan los genes de resistencia pueden causar problemas clínicos graves con una disminución de la susceptibilidad de 10 a 250 veces (Strahilevitz *et al.*, 2009). La transmisión de plásmidos se produce por transferencia horizontal (de bacteria a bacteria), así como por transferencia vertical (de generación en generación), lo que conduce a la rápida propagación de la resistencia (Hooper & Jacoby, 2015). Actualmente se han presentado tratamientos para enfrentar la presencia de antibióticos en aguas residuales, estos son: adsorción, fotodegradación, biodegradación y oxidación. Estos métodos no han resultado ser eficientes, seguros y/o no se han aplicado a procesos de gran escala, por lo que es necesario identificar y evaluar la eficiencia de otros medios de eliminación. Por lo que se propone el diseño de un catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> basado en óxido de silicio (SiO<sub>2</sub>) y la enzima cloroperoxidasa (CPO), para eliminación de CIP y LEVO en agua. Para tal efecto, se usó una enzima de baja especificidad con la capacidad de usar distintos compuestos como sustrato, que fue inmovilizada en un soporte inorgánico con capacidades adsorbentes, de esta relación obtuvo un efecto sinérgico de ambos materiales para la remoción de antibióticos en agua.

### III. JUSTIFICACIÓN

El agua es un recurso importante para la humanidad. Es un bien usado en todas las actividades del hombre y la naturaleza. De acuerdo a la ley de aguas nacionales, las aguas residuales deben ser tratadas previo su descarga a cuerpos receptores, los contaminantes presentes en las aguas residuales pueden ser físicos, químicos o biológicos, sin embargo, actualmente existe un creciente interés por los contaminantes emergentes, estos contaminantes son compuestos de diversos orígenes y características químicas, cuya presencia en ambiente y/o las consecuencias de su presencia, han pasado inadvertidas, causando problemas ambientales y de riesgo para la salud. Un caso particular de estos contaminantes son los antibióticos, que son medicamentos con gran importancia debido a que se utilizan para tratar o prevenir las enfermedades e infecciones causadas por hongos y bacterias, el amplio uso por parte de la sociedad genera que estos fármacos estén presentes en las aguas residuales, tras el tratamiento de las aguas residuales, los efluentes y lodos generados, y con ellos los residuos de antibióticos, alcanzan masas de aguas superficiales, dado que la presencia de estos fármacos es un riesgo para el ambiente. En este trabajo se propone la aplicación de tecnología química-biológica para el tratamiento de estos contaminantes, como una tecnología eficiente. El desarrollo del tema incluye la construcción de un marco teórico en donde se abordan las generalidades del uso de antibióticos fluoroquinolonas, la contaminación por estos compuestos. Además, se resumen las estrategias ya elaboradas para abordar este problema. Posteriormente se describe a mayor detalle la enzima cloroperoxidasa y el enfoque planteado para aplicarla en la eliminación de ciprofloxacino en agua. Se explican sus ventajas y desventajas, su potencial y sus limitaciones para la eventual aplicación. Finalmente se detalla la estrategia metodológica planteada en este trabajo, y se explica en cronograma de actividades para los dos años de desarrollo del proyecto.

## IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS

### IV.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la eficiencia de un catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> hecho a partir de enzima cloroperoxidasa que está inmovilizada en un gel de óxido de silicio, para la degradación de ciprofloxacino en agua?

### IV.2 HIPÓTESIS

La aplicación de un proceso híbrido CPO/SiO<sub>2</sub> aumenta la degradación de ciprofloxacino presente en agua.

## V. OBJETIVOS

### V.1 Objetivo general

Evaluar la eficiencia del catalizador de cloroperoxidasa inmovilizada en dióxido de silicio (CPO/SiO<sub>2</sub>) para eliminación de dos antibióticos tipo fluoroquinolonas en agua.

### V.2 Objetivos específicos

- Identificar las deficiencias en la infraestructura de tratamiento de aguas residuales del Estado de Puebla que permiten un aumento de contaminación por antibióticos en cuerpos receptores y determinar el impacto de los antibióticos en la salud y el ecosistema.
- Diseñar y caracterizar el catalizador con la enzima cloroperoxidasa inmovilizada el óxido de silicio obtenido por el método sol-gel (CPO/SiO<sub>2</sub>).
- Determinar la eficiencia del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> en la eliminación de los antibióticos tipo fluoroquinolonas: ciprofloxacino y levofloxacino (CIP y LEVO) en sistemas de reacción modelo.
- Evaluar el desempeño del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> en una muestra de agua superficial de la laguna de CU, conteniendo los antibióticos CIP y LEVO.

## VI. MARCO DE REFERENCIA

### VI.1 Marco teórico

Como primer paso se realizó una búsqueda del estado del arte. En la Figura 6.1 se muestran tres gráficas, en la gráfica A se utiliza *Google trends* como una herramienta para medir el interés de la sociedad ya que esta plataforma muestra los términos de búsqueda más populares en los últimos 12 meses en todo el mundo. En B se presentan las áreas que cuentan con más publicaciones en el buscador Scopus usando las palabras clave “*chloroperoxidase antibiotic*” dado que al buscar “*chloroperoxidase fluoroquinolone*” no se mostraron resultados. Y en C se tienen los resultados obtenidos en distintos buscadores académicos usando cuatro palabras clave, “*degradation antibiotics*”, “*degradation fluoroquinolone*”, “*chloroperoxidase antibiotics*” y “*chloroperoxidase fluoroquinolone*”, se hace uso de la escala logarítmica para poder apreciar la baja cantidad de resultados obtenidos para “*chloroperoxidase antibiotics*” y “*chloroperoxidase fluoroquinolone*”.

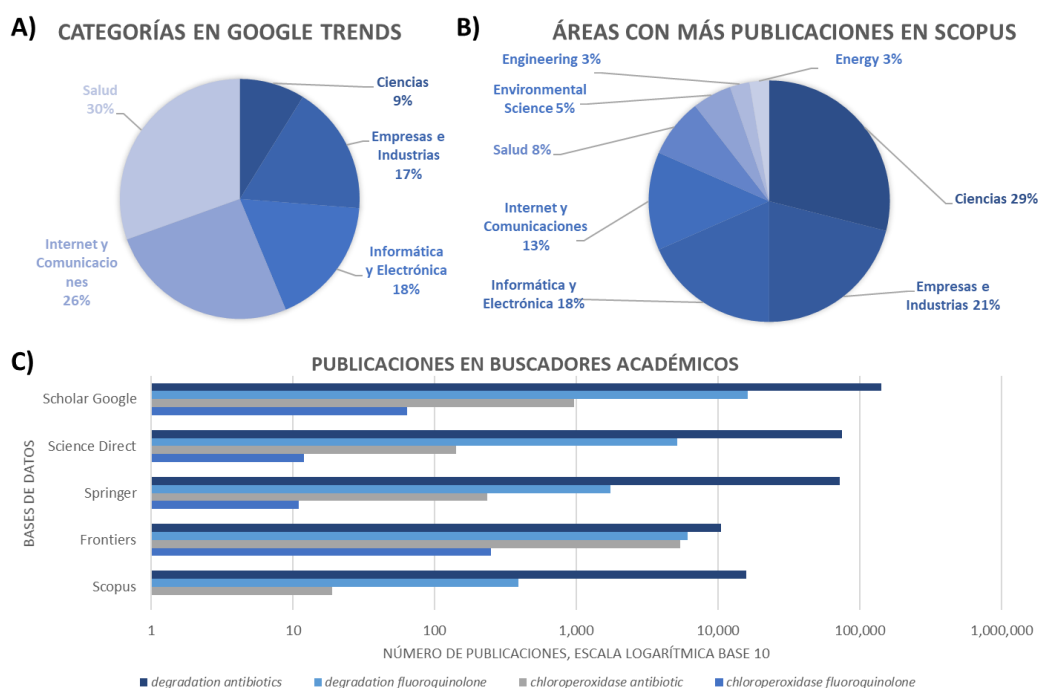


Figura 6.1. Estado del arte. A) *Categorías dentro de las que se aborda el término “degradation antibiotics” en Google trends en los últimos 12 meses.* B) *Áreas que cuentan con más publicaciones en el buscador Scopus en el periodo 2015-2022* Revisión bibliográfica del 2015-2022 usando las palabras “*degradation antibiotics*”, “*degradation fluoroquinolone*”, “*chloroperoxidase antibiotics*” y “*chloroperoxidase fluoroquinolone*”, el eje X se encuentra en escala logarítmica.

De igual manera, siendo parte del estado del arte, se realizó una investigación en distintos motores de búsqueda académicos con la finalidad de encontrar investigaciones previas relacionadas el uso de CPO



libre e inmovilizada para la degradación de distintos contaminantes emergentes en cuerpos de agua.

Los resultados obtenidos se condensan en la Tabla 6.1

Tabla 6.1. Investigaciones donde se emplea enzima cloroperoxidasa libre o inmovilizada para degradar contaminantes emergentes en agua.

Origen de la CPO	Contaminante	Proceso (inmovilizada o no)	Eficiencia lograda (%)	Proceso biológico o químico-biológico	Ventajas y desventajas del proceso	Referencia
<i>Caldariomyces fumago</i>	Norfloxacin (Antibiótico)	Libre	82.18	Biológico	pH 5, 25 minutos de reacción Produce compuestos menos tóxicos	Zhao <i>et al.</i> , 2017
<i>Caldariomyces fumago</i>	Metsulfuron metil (Herbicida)	Libre	93.20	Biológico	pH 3, 10 minutos de reacción Produce compuestos menos tóxicos	Lu <i>et al.</i> , 2019
<i>Caldariomyces fumago</i>	Sulfametoxazol Sulfadimetoxina Sulfamerazina Sulfadimidina Sulfacetamida (Antibióticos)	Libre	98.64 95.00 100.00 100.00 98.00	Biológico	pH 3-4, 20 minutos de reacción, requiere adición de Cl <sup>-</sup>	Zhang <i>et al.</i> , 2016
<i>Caldariomyces fumago</i>	Isoproturón (Herbicida)	Inmovilizada en Nanotubos de Halloysita	100	Biológico	10 minutos de reacción, proceso de inmovilización complejo Produce compuestos menos tóxicos	Fan <i>et al.</i> , 2018
<i>Caldariomyces fumago</i>	Azul de anilina (Colorante)	Inmovilizada en nanopartículas magnéticas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	>90	Biológico	10 minutos de reacción, proceso de inmovilización complejo	Cui <i>et al.</i> , 2015
<i>Caldariomyces fumago</i>	β-estradiol (Hormona)	Inmovilizada en Eupergit (material acrílico mesoporoso)	100	Biológico	5 min de reacción pH 3-5.5 Produce compuestos menos tóxicos	Salcedo <i>et al.</i> , 2015
<i>Caldariomyces fumago</i>	Diclofenaco Naproxeno (Antinflamatorio)	Libre	4.9 9.1	Biológico	30 min de reacción Baja degradación Compuestos menos tóxicos	Li <i>et al.</i> , 2017
<i>Caldariomyces fumago</i>	Tioflavina T (Tinte fluorescente)	Libre	-	Biológico	pH 2,	Al-Maqdi <i>et al.</i> , 2017
<i>Caldariomyces fumago</i>	Violeta cristal (Colorante)	Inmovilizada formando complejo CPO-Cu <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	99.66	Químico-Biológico	pH 3, 20 min de reacción	Wang <i>et al.</i> , 2018
<i>Caldariomyces fumago</i>	Pirogalol	Atrapamiento en SiO <sub>2</sub>	-	Químico-Biológico	Pérdida del 72% de la actividad enzimática	Le <i>et al.</i> , 2018
<i>Caldariomyces fumago</i>	Rifaximina Levofloxacin	Inmovilizada en partículas dendríticas de sílice	80.22 80.25	Biológico	Tiempo de reacción de 25 minutos	Song <i>et al.</i> , 2019

Continuación Tabla 6.1. Investigaciones donde se emplea enzima cloroperoxidasa libre o inmovilizada para degradar contaminantes emergentes en agua.

Origen de la CPO	Contaminante	Proceso (inmovilizada o no)	Eficiencia lograda (%)	Proceso biológico o químico-biológico	Ventajas y desventajas del proceso	Referencia
<i>Caldariomyces fumago</i>	Naproxeno	Libre	84.78	Químico-Biológico	10 minutos de reacción Degradación en los primeros 5 minutos de reacción Adsorción y degradación	García-Zamora <i>et al.</i> , 2018
	Diclofenaco		83.99			
	Sulfametoxazol		64.95			
	17 $\beta$ -estradiol		70.40			
	Ketoconazol		75.96			
	Tetraciclina		88.79			
	Ketorolaco		92.98			
<i>Caldariomyces fumago</i>	Trazodona	14.76				
<i>Caldariomyces fumago</i>	Lincomicina	Libre	90.16	Biológico	pH 3, 20 minutos de reacción	Zhu <i>et al.</i> , 2020
<i>Caldariomyces fumago</i>	Mesotrina	Inmovilizada en nanotubos magnéticos de Halloysita	92.2	Biológico	Enzima colectable por magnetismo	Zhu <i>et al.</i> , 2021
<i>Caldariomyces fumago</i>	Paracetamol Carbamazepina Sulfadimidina Diclofenaco Naproxeno	Libre	100	Biológico	Total degradación con Cl y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> añadido a la reacción	He, 2016

#### VI.1.1 Antibióticos fluoroquinolonas

El grupo de antibióticos fluoroquinolonas (FQ), descubierto en las décadas de 1970 y 1980, son los agentes antibacterianos más importantes hasta la actualidad. Su actividad antibacteriana se debe a la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos bacterianos mediante la alteración de las enzimas topoisomerasa IV y ADN girasa que, en consecuencia, conduce a la rotura de los cromosomas bacterianos. Los antibióticos fluoroquinolonas bloquean la etapa final de la reacción de la topoisomerasa y la unión de ambos extremos de las cadenas de ADN (Drlica *et al.*, 1997). La Organización Mundial de la Salud (OMS) presenta una lista modelo de medicamentos esenciales mínimos requeridos para el sistema básico de salud humana, que son eficientes, seguros y rentables, y el CIP y LEVO se encuentran entre los de la lista (WHO, 2017, 2018). Este grupo de antibióticos es utilizado para el tratamiento de un amplio espectro de infecciones bacterianas entre las que se incluyen: Infecciones del tracto urinario, respiratorias, del aparato genital y gastroenteritis aguda infecciosa, así como infecciones cutáneas y tejidos blandos, óseas y articulares, fiebre tifoidea, también se usa para tratar a los portadores crónicos de *Salmonella*, para la prevención - peritonitis espontánea del cirrótico, otitis externa maligna, enfermedades del tracto respiratorio, profilaxis de enfermedad meningocócica y finalmente enfermedades de transmisión sexual (González & Muñoz, 2004; AEMPS, 2018).

### VI.1.1.1 Características de antibióticos fluoroquinolonas

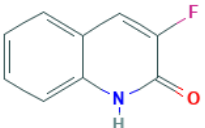
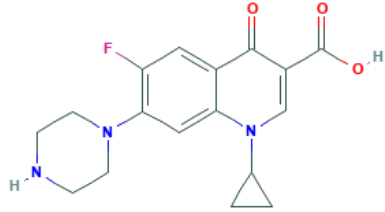
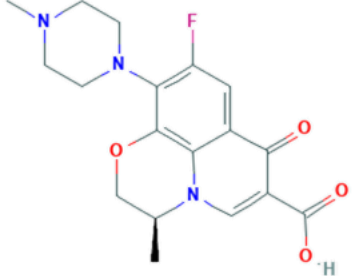

Tabla 6.2. Antibióticos fluoroquinolonas existentes hasta el momento. (Modificado de Pham, Ziora, & Blaskovich, 2019).

Generación	Nombre	Espectro
1	• Ácido nalidíxico	Organismos gramnegativos (excepto especies de <i>Pseudomonas</i> )
2a	• Enoxacina • Norfloxacin • Ciprofloxacino	Todos los patógenos gramnegativos y algunos patógenos atípicos (incluidos <i>Mycoplasma pneumoniae</i> y <i>Chlamydia pneumoniae</i> )
2b	• Ofloxacino • Levofloxacino • Lomefloxacino	Todos los patógenos gramnegativos y algunas bacterias grampositivas (incluido <i>Staphylococcus aureus</i> , excepto <i>Streptococcus pneumoniae</i> ) y algunos organismos atípicos
3	• Esparfloxacino • Grepafloxacino • Clinafloxacino • Gatifloxacino	Conserva la actividad de los fármacos de segunda generación y posee una cobertura grampositiva ampliada ( <i>S. pneumoniae</i> sensible a penicilina y resistente a penicilina) y una actividad mejorada contra patógenos atípicos.
4	• Moxifloxacino • Gemifloxacino • Trovafloxacino • Garenoxacino	Cubre todas las actividades de los fármacos de tercera generación y la actividad anaeróbica extra.

Desde su descubrimiento a principios de la década de 1960, los antibióticos fluoroquinolonas han ganado una importancia cada vez mayor como ejes clave para tratar tanto las infecciones graves adquiridas en la comunidad como las adquiridas en el hospital (Liu & Mulholland, 2005). Debido a la alta potencia, amplio espectro de actividad, biodisponibilidad favorable, formulaciones convenientes y altas concentraciones séricas, así como una incidencia comparativamente baja de efectos secundarios, han logrado posicionarse en un alto uso en las últimas décadas (Andersson, 2003). En la Tabla 6.2 se muestran los antibióticos fluoroquinolonas existentes hasta el momento.

Para comprender cómo es que funcionan estos antibióticos es necesario indagar acerca del funcionamiento celular: durante la síntesis de ADN, el ADN de doble hebra necesita desenrollarse en dos estructuras de hebra sencilla que se utilizan como molde, permitiendo que la maquinaria de transcripción realice su trabajo y se logre el apareamiento de las bases complementarias (Jacob, Brenner, & Cuzin, 1963). Este proceso de desenrollamiento es realizado por las enzimas bacterianas de tipo topoisomerasa II, ADN girasa y ADN topoisomerasa IV (Jacob, Brenner, & Cuzin, 1963).

Tabla 6.3. Estructura central de las fluoroquinolonas y estructura de las tres fluoroquinolonas más usadas en México (Ciprofloxacino, Levofloxacino y Moxifloxacino).

Antibiótico	Estructura	Referencia
<b>Fluoroquinolona</b> (3-fluoro-1H-quinolin-2-one)		National Center for Biotechnology Information (2021a).
<b>Ciprofloxacino</b> (1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-ylquinoline-3-carboxylic acid)		National Center for Biotechnology Information (2021b).
<b>Levofloxacino</b> ([(2S)-7-fluoro-2-methyl-6-(4-methylpiperazin-1-yl)-10-oxo-4-oxa-1-azatricyclo [7.3.1.0.5,13] trideca-5(13),6,8,11-tetraene-11-carboxylic acid)		National Center for Biotechnology Information (2021c).
<b>Moxifloxacino</b> (7-[(4aS,7aS)-1,2,3,4,4a,5,7,7a-octahydropyrrolo[3,4-b]pyridin-6-yl]-1-cyclopropyl-6-fluoro-8-methoxy-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid)		National Center for Biotechnology Information (2021d).

El efecto antimicrobiano de las fluoroquinolonas se debe a que inhiben la síntesis de ADN de las bacterias al alterar la topoisomerasa bacteriana tipo II; inhibir la actividad catalítica de la ADN girasa y la topoisomerasa IV (Anderson & Osheroff, 2001). Estas dos enzimas, la girasa y la topoisomerasa, son enzimas bacterianas críticas que regulan el enrollamiento cromosómico requerido para la síntesis de ADN (Lima & Mondragón, 1994). Durante la replicación, la girasa y la topoisomerasa IV generan roturas de doble hebra en el ADN para relajar los giros. Las fluoroquinolonas se unen a los complejos enzima-ADN, en lugar de a las enzimas diana solas. Por lo tanto, logran matar a las bacterias interfiriendo con la síntesis de ADN e inhibiendo su vía de replicación (Hooper, 1995).

Se han reportado dos formas de acción de estos antibióticos que conducen a la muerte celular, la primera es a través de la inhibición del ADN y la segunda es mediante la activación de la respuesta al estrés del ADN bacteriano (Redgrave, Sutton, Webber, & Piddock, 2014). En la Tabla 6.3, se puede

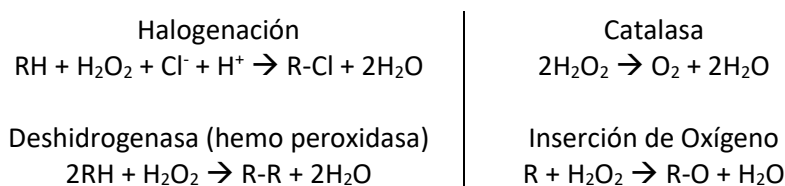
observar la estructura central de las fluoroquinolonas, el prefijo fluoro- se debe a la incorporación de un flúor en la estructura. El ciprofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino y demás fluoroquinolonas, como se ve en la Tabla 6.3, parten de esta estructura central antes mencionada. Todas las estructuras fueron obtenidas del *National Center for Biotechnology Information*.

En el presente trabajo se utilizaron los antibióticos CIP y LEVO, el punto isoeléctrico del CIP es de 7.42 y de 6.8 para LEVO (Bryskier, 2005), estos valores tendrán que considerarse debido a que dependiendo del pH utilizado los antibióticos cambiarán su carga y esto afectará la afinidad de la enzima hacia ellos. Aunque el punto isoeléctrico de ambos es similar, eso no significa que tendrán un comportamiento similar, se reporta el caso de que los puntos isoeléctricos de levofloxacino y finafloxacino son casi idénticos (diferencia de 0.1) y ambos son afectados de distintas formas por cambios de pH (Dalhoff, Schubert & Vente, 2017)

## VI.1.2 Biocatálisis ambiental

### VI.1.2.1 Origen y funcionamiento de las cloroperoxidasas

La cloroperoxidasa (CPO) es enzima hemoproteína glicosilada perteneciente a la familia de las peroxidasas con 42 kDa de peso molecular. Es producida y excretada por el hongo *Caldariomyces fumago*, es descrita por primera vez en 1966 por Morris & Hager. Cataliza una variedad de oxidaciones de uno y dos electrones (Manoj y Hager, 2008) con una actividad máxima que ocurre a un pH de 3-3.5, pudiendo trabajar a pH 6, dependiendo del tipo de sustrato (Sundaramoorthy, Tener & Poulos, 1995; Guerrero *et al.*, 2013), bajo estas condiciones presenta actividad de halogenasa, deshidrogenación (hemo peroxidasa), catalasa (descomposición del peróxido de hidrógeno) e inserción de oxígeno como se muestra a continuación (Morris & Hager, 1966).



### VI.1.2.2 Propiedades moleculares de las cloroperoxidasas

La CPO hace uso de un cofactor que puede ser vanadio o hierro (Fe) (Butler & Carter-Franklin, 2004). En este caso se trabajará con las hemo CPO, aquellas que contienen Fe. En estas enzimas el grupo sulfuro ubicado en la Cys29 se encuentra a la distancia adecuada del grupo amida Leu 32 y Glu51 que conduce a la formación de enlaces de hidrógeno de los grupos amida de azufre (Adman, Watenpaugh & Jensen, 1975), este hecho, importante en las metalproteínas, permite la alineación del hierro (Cramer, Dawson, Hodgson & Hager, 1978). Como se da en otras hemoproteínas, el grupo hemo de la

CPO (protoporfirina IX con Fe) tiene una posición de silla de montar, con el hierro colocado debajo del plano principal de la porfirina hacia el ligando Cys29 (Kuwahara, Glenn, Morgan & Gold, 1984) (Ver Figura 6.2).

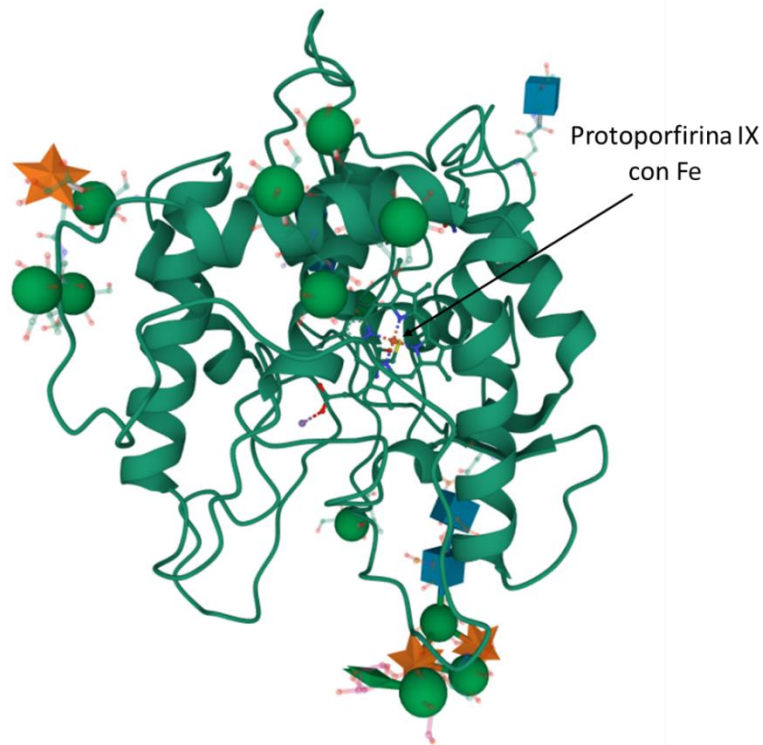


Figura 6.2 Imagen obtenida de RCSB PDB (rcsb.org) correspondiente a la estructura de la cloroperoxidasa de *Leptoxyphium fumago*, obtenida mediante difracción de rayos x. Se observa el grupo hemo de la CPO (protoporfirina IX con Fe) así como los distintos azúcares presentes en la enzima, Glucosas (cubos azules), Manosas (esferas verdes y estrellas naranjas) (Sundaramoorthy & Poulos, 2019).

En la CPO, hay una pequeña abertura por encima del grupo hemo lo que facilita el acceso al centro y le permite constituir la forma activa de la enzima. El canal hidrofóbico en la periferia del grupo hemo se vuelve más ancho y polar cerca de la entrada. El azúcar manosa se une a Thr238 en la entrada, mientras que Glu69 y Glu266 también están cerca de la entrada. Además, los residuos de Val182, Phe186 y Phe103 se encuentran al final de la entrada. Esta enzima contiene trece azúcares, incluidas cinco N-acetil D-glucosaminas y ocho manosas, unidas a la proteína a través de enlaces glucosídicos. Los N-acetil D-glucosaminas están unidos a los residuos Asn12, Asn93 y Asn216. La posición de los residuos Asn93 y Asn216 está alrededor del sitio activo. Las manosas se unen a los residuos Thr238, Ser239, Ser241, Ser242, Ser248, Thr250, Thr251 y Thr252 (Sundaramoorthy, Tener & Poulos, 1995; Sangoli, Housaindokht & Bozorgmehr, 2020).

## Efectos del pH en la actividad enzimática de la CPO

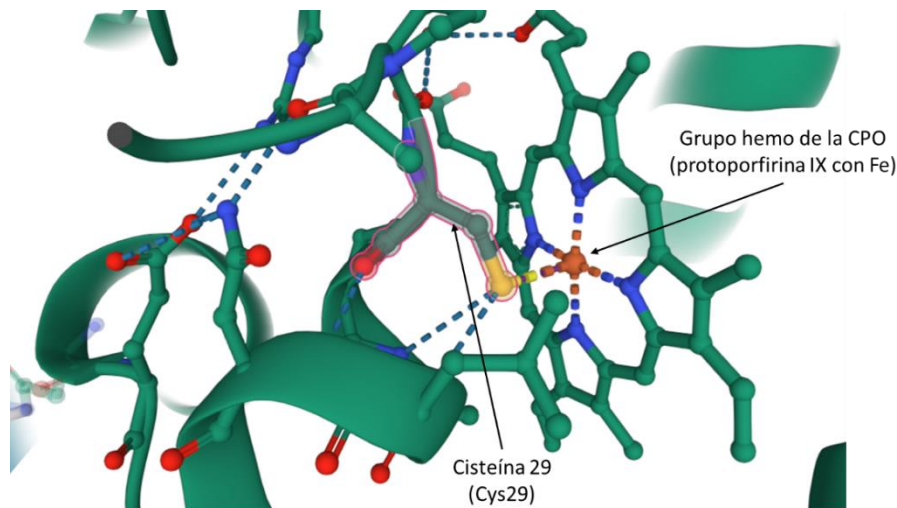


Figura 6.3 Imagen obtenida de RCSB PDB (rcsb.org) correspondiente a la interacción entre la Cys29 y el Fe del grupo hemo de la cloroperoxidasa de *Leptoxiphium fumago*, obtenida mediante difracción de rayos x. (Sundaramoorthy & Poulos, 2019).

Como se mencionó anteriormente, la Cys 29 de la CPO conduce a la formación de enlaces de hidrógeno en los grupos amida del aminoácido que junto con el compuesto de coordinación generado por el grupo SH de la Cys 29 y el Fe del grupo hemo, se produce la alineación del sitio activo de la CPO (Figura 6.3) (Cramer, Dawson, Hodgson & Hager, 1978 Sundaramoorthy & Poulos, 1995). A pH elevados cercanos a 7 la CPO sufre cambios estructurales estables seguidos de una pérdida de la actividad (Hollenberg & Hager, 1973). Estos cambios inhabilitan al Fe para unirse con ligandos exógenos y se genera un aumento en la reactividad de la Cys29, esto en conjunto, genera una restricción al sitio reactivo e incrementa la accesibilidad a la Cys29, lo que conserva parcialmente el complejo de coordinación debido a una esfera de coordinación (electrones del ligando interactúan con los orbitales vacíos del átomo central). El sitio activo en medio alcalino aparentemente pierde el ligando tiol con la Cys29 y se produce un compuesto de coordinación con una histidina. Una segunda transición ocurre a pH 10. (Guerrero *et al.*, 2013). Se ha reportado que la CPO de *Caldariomyces fumago* cuenta con un punto isoeléctrico 4 (Aoun, Chebli & Baboulène, 1998; Hollenberg & Hager, 1973; Muñoz-Guerrero *et al.*, 2015), valor que se tiene que tener en cuenta al momento de realizar las degradaciones dado que el pH utilizado podrá afectar la afinidad hacia determinados sustratos.

### VI.1.3 Inmovilización de enzimas

Con las técnicas de ADN recombinante (Stewart, 2001), en principio, es posible reproducir la mayoría de las enzimas a un precio comercialmente aceptable. Los avances en la ingeniería de proteínas han hecho posible, utilizar técnicas como la mutagénesis dirigida al sitio y la evolución *in vitro* mediante la

mezcla de genes (Powell *et al.*, 2001; Reetz & Jaeger, 2000; Minshull & Stemmer, 1999; May, Nguyen, & Arnold, 2000), para manipular las enzimas de manera que exhiban las propiedades deseadas, entre otras cosas, la especificidad del sustrato, actividad, selectividad, estabilidad y pH óptimo. No obstante, la aplicación industrial a menudo se ve obstaculizada por la falta de estabilidad operativa a largo plazo y la difícil recuperación y reutilización de la enzima. Estos inconvenientes a menudo pueden superarse mediante la inmovilización de la enzima (Cao, 2005; Bornscheuer, 2003; Tischer & Kasche, 1999; Tischer & Wedekind, 1999; Adamczak & Krishna, 2004; Krajewska, 2004; Cabral & Kennedy, 1993).

Hay varias razones para usar una enzima que se encuentre inmovilizada. Además de un manejo más conveniente de la enzima, permite su fácil separación del producto, minimizando o eliminando así la contaminación proteica del producto. La inmovilización también facilita la recuperación y reutilización eficiente de enzimas costosas, en muchas aplicaciones, la inmovilización es una condición para la viabilidad económica, y permite su uso en funcionamiento continuo en lecho fijo. Un beneficio adicional es a menudo la estabilidad mejorada (Cabral & Kennedy, 1993), tanto en condiciones de almacenamiento como operativas, por ejemplo, la desnaturalización por calor o disolventes orgánicos o por autólisis. El rendimiento enzimático mejorado mediante una estabilidad mejorada y una reutilización repetida se refleja en productividades de catalizador más altas (kg de producto / kg de enzima) que, a su vez, determinan los costos de la enzima por kg de producto. Se pueden encontrar varios métodos tradicionales de inmovilización enzimática:

Encapsulación y atrapamiento: la enzima está incluida en la red del soporte, por lo que no implican enlaces químicos con el soporte, la enzima al estar atrapada hace imposible su difusión fuera del soporte. En consecuencia, se trata de una modificación mínima de la estructura nativa, pero a menudo se observa una pérdida de enzima. Además, a menudo pueden ocurrir problemas de transferencia de masa, que involucran tanto sustratos como productos (Zucca & Sanjust, 2014; Sassolas *et al.*, 2012).

Adsorción e interacción electrostática: son a menudo fenómenos superpuestos debido a interacciones débiles no específicas, que aún no se han aclarado por completo (Ramsden, 1995; Hudson *et al.*, 2008). La simplicidad de la técnica y la baja modificación de las superficies de las enzimas generan una amplia difusión de la técnica (Rimola *et al.*, 2013). El soporte puede ser una resina sintética, un biopolímero o un polímero inorgánico como el óxido de silicio (mesoporoso) o una zeolita (Sheldon, 2007). La inmovilización por este método ya sea dentro de los poros del material como en la superficie, la cual, al tener ciertas características químicas y físicas, mejora el desempeño de la enzima y produce catalizadores resistentes a diversos ambientes. Esto a través de la restricción de movimiento,



reduciendo su flexibilidad y evitando la desnaturalización (Takahashi *et al.*, 2000; Takahashi *et al.*, 2001).

Reticulación: implica la formación de enlaces covalentes entre moléculas de proteína utilizando reactivos bifuncionales como glutaraldehído (Sheldon, 2007; Tran & Balkus, 2011), a menudo evitando el uso de cualquier compuesto extra. La naturaleza covalente de la interacción se refleja en la fuga mínima y la mayor estabilidad de las enzimas (Hartmann & Kostrov, 2013), sin embargo, puede ocurrir modificación química de la superficie de la enzima, afectando estructura y velocidades de difusión del sustrato/producto, a menudo, es necesario el uso de reactivos tóxicos en condiciones de reacción complicadas (Hartmann & Kostrov, 2013). El uso de un vehículo conduce inevitablemente a una dilución de la actividad, debido a la introducción de una gran parte de lastre no catalítico, lo que se traduce en menores rendimientos y productividades espacio-tiempo (Tischer & Kasche, 1999). Además, la inmovilización de una enzima en un portador a menudo conduce a la pérdida de más del 50% de la actividad nativa (Bryjak & Kolarz, 1998), especialmente con cargas enzimáticas elevadas (Janssen *et al.*, 2002).

Unión covalente: al ser una interacción fuerte se minimiza la fuga de enzimas. Varias cadenas laterales de aminoácidos pueden formar enlaces covalentes con soportes inorgánicos activados por lo que es probable que se produzcan modificaciones estructurales de las enzimas inmovilizadas. Incluso cuando esto se excluye, la mala orientación del sitio activo podría afectar la interacción adecuada entre las enzimas y los sustratos (Zhou & Hartmann, 2012).

Cabe señalar que, a partir de los literalmente miles de artículos sobre inmovilización enzimática, es difícil hacer comparaciones de las diferentes metodologías y que la mayoría de los autores comparan el rendimiento de la enzima inmovilizada, preparada mediante una técnica particular, con la de la enzima libre pero no comparan diferentes métodos de inmovilización. Además, los detalles de la inmovilización de biocatalizadores industriales a menudo no se describen.

#### *Catalizador híbrido*

##### *Por qué fijar la enzima en un material catalítico*

Las enzimas han sido utilizadas en la degradación de una variedad de disruptores endócrinos (DE) y compuestos farmacéuticos; sin embargo, algunos de estos compuestos presentan un potencial redox por encima de 1.3 V, que está muy por encima del expresado típicamente por ciertas enzimas que va de 0.5 a 0.8 V (Cañas & Camarero, 2010; Majeau *et al.*, 2010). Es por esto por lo que es necesaria la adición de un compuesto adicional que normalmente se denomina "mediador" que tienen la función de "lanzar electrones" (Fabbrini *et al.*, 2002). Por el tipo de reacción que llevan a cabo estos

mediadores, se pueden clasificar en tres categorías: 1) transferencia de radicales de hidrógeno, 2) transferencia de electrones, 3) oxidación iónica. Por el origen se clasifican en dos: 4) natural, y 5) residuos de madera de metabolitos fúngicos excretados, radical N-O (Majeau *et al.*, 2010).

#### Degradación de DE usando sistemas de enzimas inmovilizadas

La inmovilización de enzimas se puede realizar en cuatro categorías principales: unión covalente, atrapamiento, reticulación y adsorción (Bautista *et al.*, 2015; Bayramoğlu & Arıca, 2009; Lante *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2012; Moeder *et al.*, 2004; Rahmani *et al.*, 2015; Songulashvili *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2008). A pesar de la eficacia de la inmovilización para retener y mejorar la actividad de la enzima, todavía existen desventajas en el proceso de inmovilización convencional, como los métodos de regeneración para extender la vida útil de los soportes biocatalíticos, la pérdida de actividad enzimática debido a la posición sobre el soporte, el interacción entre el soporte y los grupos amina de la enzima, disminución de la flexibilidad y reducción de la transferencia de masa entre el sustrato y la enzima (Altinkaynak *et al.*, 2016).

#### VI.1.4 Óxido de silicio

Desde 2008 se han realizado investigaciones *in vivo* para la identificación de la biodistribución, toxicidad y efecto terapéutico del óxido de silicio. Aunque este nano material ha ganado un interés creciente y han demostrado su compatibilidad para aplicaciones biológicas en la última década. Es bien sabido que el óxido de silicio a granel se usa intensamente en la industria alimentaria o cosmética, lo que indica que tiene baja toxicidad.

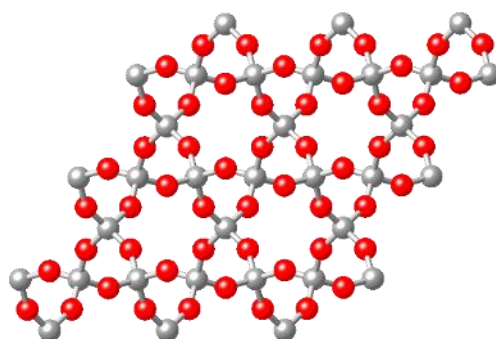


Figura 6.4. Estructura tetraédrica del óxido de silicio, que proporciona cargas superficiales negativas debido a los grupos aniónicos de oxígeno, en gris se representan a los átomos de oxígeno y en rojo a los átomos de silicio (Benjah, 2008).

En las aplicaciones, los parámetros y efectos que deben ser monitoreados incluyen, además de la degradabilidad y la posibilidad de ser eliminados, el tamaño, forma, volumen de poro y funcionalización de la superficie (Kim *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2011; Meng *et al.*, 2011). En la Figura 6.4 se muestra la estructura tetraédrica el óxido de silicio, en ella se puede ver cómo es que se da este

arreglo estructural, además se observa que existen grupos aniónicos de oxígeno (color gris) los cuales aportan cargas negativas en la superficie de la estructura.

#### *Síntesis del óxido de silicio mediante el método sol-gel*

El proceso sol-gel se usa ampliamente para producir sílice, vidrio y materiales cerámicos debido a su capacidad para formar productos puros y homogéneos en condiciones sencillas. Una ruta sintética general sigue algunos pasos típicos: la hidrólisis y condensación de alcóxidos metálicos ( $\text{Si}(\text{OR})_4$ ) como tetraetilortosilicato (TEOS,  $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ ) o sales inorgánicas como silicato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ) en presencia de ácido mineral (HCl, HF, etc.) o base ( $\text{NH}_3$ , NaOH, etc.) como catalizador (Niculescu, 2020; Klabunde *et al.*, 1996; Hench *et al.*, 1990; Stöber *et al.*, 1968) con la introducción de un codisolvente u otro tensoactivo se genera una supresión del crecimiento de partículas generando nanomateriales de óxido de silicio mesoporosos con tamaño controlado (Niculescu, 2020). La hidrólisis ácida o básica de las moléculas de TEOS forma grupos silanol ( $\text{Si-OH}$ ), una vez condensados-polimerizados dan paso a la formación de puentes siloxano ( $\text{Si-O-Si}$ ) que forman la estructura completa del óxido de silicio (Rahman & Padavettan, 2012). El  $\text{SiO}_2$  sintetizado por esta vía presenta un punto isoeléctrico que van de 2 a 3 (Gustafsson *et al.*, 2012; Anastasescu *et al.*, 2018).

#### *Adsorción de enzimas en el óxido de silicio*

Los grupos silanol presentes en la superficie del óxido de silicio están cargados negativamente, proporcionando propiedades adsorbentes al material, pudiendo interactuar con una amplia variedad de macromoléculas como polímeros y proteínas (Gun'ko *et al.*, 2005). Cuando el  $\text{SiO}_2$  entra en contacto con altas temperaturas como puede ser el proceso de secado del método de síntesis, los grupos silanol se eliminan, pero una vez que el material se pone en contacto con medios acuosos estos grupos se regeneran (Cruz *et al.*, 2010; Gun'ko *et al.*, 1997). Las interacciones entre los grupos silanol y las proteínas se da de manera más específica con los grupos  $-\text{NH}_2$ , tanto en grupos  $\alpha$ -amino N-terminal como el grupo lisina. Esto se explica por tres motivos, la lisina está extendida en casi todas las proteínas, tiene una alta reactividad hacia cargas negativas, suele tener una relevancia mecánica menor (no es fundamental para la actividad catalítica) y por lo general se encuentra en la superficie de las proteínas por lo que es fácilmente accesible (Srere *et al.*, 1976; Morales-Sanfrutos *et al.*, 2010).

### VI.1.5 Situación actual de la contaminación de agua en el Estado de Puebla

#### *Reportes de gobierno*

Un reporte de la Red Nacional de Medición de Calidad del Agua (RENAMECA, 2021), menciona el grado de contaminación de seis sitios de agua superficial en el municipio de San Martín Texmelucan, en el estado de Puebla, la RENAMECA, midió la calidad del agua en seis sitios superficiales; tres de ellos ubicados en el río Atoyac, uno en el río Chiquito, uno en el río Cotzala y el último en el río Xochiac,

todos los sitios presentaron contaminación por Demanda Química de Oxígeno, Demanda Bioquímica de Oxígeno, Coliformes Fecales, *Escherichia coli*, bajo porcentaje de Oxígeno Disuelto, Sólidos Suspendidos Totales y Toxicidad.

#### *Investigaciones*

Título: Diagnóstico de indicadores de calidad fisicoquímica del agua en afluentes del río Atoyac

Información: En esta investigación se analizaron diferentes muestras de agua recolectadas en los afluentes del río Atoyac; la parte estudiada fue la zona productora del Valle de Texmelucan, que es una zona montañosa que comprende los municipios de San Felipe Teotlalcingo, San Martín Texmelucan, San Matías Tlalancaleca, Santa Rita Tlahuapan y San Salvador el Verde. Con estos antecedentes y debido a que no existen estudios en esta región sobre la calidad del agua que se utiliza para riego se determinó la concentración de los iones que afectan al suelo y al desarrollo de los cultivos.

Autor: González-Pérez *et al.*, 2019

Título: LOS NIVELES DE MICROCONTAMINANTES ORGÁNICOS EXPLICAN UNA MUERTE MASIVA DE PECES EN EL RÍO ATOYAC, PUEBLA, MÉXICO

Información: Investigación derivada de la muerte masiva de peces en el río Atoyac, se analizaron muestras de agua, sedimentos y tejidos. Se detectaron bajas concentraciones de oxígeno y altas concentraciones de amonio y nitritos. Se determinó que la contaminación provino del vertido de residuos municipales al cauce de la corriente.

Autor: Navarro, Herrera & Morales, 2017.

Dada la situación actual de la planta de tratamiento aunado con la información disponible acerca de la contaminación del río Atoyac (el cual incorpora al río Cotzala) se llega a la conclusión de que dentro de las distintas etapas del tratamiento convencional con el que cuenta la planta de tratamiento de agua residual del municipio de San Martín Texmelucan, en las cuales se realiza una separación y asentamiento de sólidos, un tratamiento biológico de la materia orgánica en suspensión para degradarla y reducir los niveles de DQO, DBO y finalmente un proceso de desinfección, no se incorporan tratamientos específicos para la degradación de contaminantes emergentes. En la actualidad se han presentado tratamientos para enfrentar la presencia de estos contaminantes (dentro de los cuales podemos encontrar a los antibióticos) en aguas residuales, estos son: adsorción, fotodegradación, biodegradación y oxidación. Estos métodos, si bien, han resultado ser eficientes en fase de laboratorio no se han aplicado a procesos de gran escala en plantas de tratamiento de aguas residuales, por lo que

es necesario identificar y evaluar la eficiencia de otros medios de eliminación de esta clase de contaminantes.

#### VI.1.6 Infraestructura de tratamiento y monitoreo de la calidad del agua en el Estado de Puebla

##### *Descripción general socioeconómica y ambiental del Estado de Puebla*

De acuerdo con el INEGI (2020), el estado de Puebla, conformado por 217 municipios, tiene una extensión de 34 309.6 km<sup>2</sup> lo que representa 1.7 % de la superficie del país. El 35% de la superficie del estado presenta clima templado subhúmedo presente en la región central y sureste el 25% presenta clima cálido subhúmedo en la parte norte y sureste, el 19% presenta clima seco y semiseco hacia el sur y centro oeste, el 14% presenta clima cálido húmedo localiza en el norte y sureste, el 7% presenta clima templado húmedo en la región norte y una pequeña área hacia el sureste, también encontramos un pequeño porcentaje (0.2%) de clima frío en la cumbre de los volcanes. La temperatura media anual del estado es de 17.5°C, la temperatura máxima promedio es de 28.5°C y se presenta en los meses de abril y mayo, la temperatura mínima promedio es de 6.5°C durante el mes de enero. La precipitación media estatal es de 1 270 mm anuales, las lluvias se presentan en verano en los meses de junio a octubre.

En lo que se refiere a cuerpos de agua presentes, el estado cuenta con los ríos: Atoyac, Nexapa, Pantepec, San Marcos, Necaxa, Ajajalpa, Apulco, Salado, Zempoala, Tilapa, Mixteco, Acatlán, Zapoteco, Coyolapa, Alseseca, Atila, La Huertilla, Axuxuca, El Chivo, Tizáac, Texcapa y Hondo. Así como las presas: Manuel Ávila Camacho, Necaxa, Tenango, Nexapa, La Soledad, Boqueroncito y San Felipe; y las lagunas: El Salado, Totolcingo, Grande, Chica, Ajolotla, Alchichica y La Preciosa.

De acuerdo con el censo de población del INEGI 2020, el estado cuenta con 6 583 278 habitantes con una edad media de 28 años, donde 6 567 335 personas se encuentran en viviendas particulares, 15 803 personas en viviendas colectivas y 140 personas sin vivienda. Siendo el 52 % (3 423 163 personas) mujeres y 48 % (3 160 115 personas) hombres. El promedio de hijas e hijos nacidos vivos de las mujeres de 12 años y más fue de 2.2 con 34.7 % solteros, 30.5% casados, 23.1% en unión libre, 5.5% separados, 5.0% viudos y 1.2% divorciados.

Del total de las viviendas (2 170 439), 1 713 381 están habitadas, 314 785 están deshabitadas y 142 273 son de uso temporal. De las viviendas encuestadas el 99.1% cuenta con energía eléctrica, el 60% cuenta con agua entubada dentro de la vivienda, 35.4% con agua entubada en patio o terreno y 4.4% no disponen de agua entubada; el 81.3% se encuentra conectada la red pública de drenaje, 12% cuenta con fosa o tanque séptico, 1.8% descarga sus aguas a barrancas o cuerpos de agua receptores y 4.8% no cuenta con drenaje. El 74.6% cuenta con refrigerador, 58.6 con lavadora, 35.4% con automóvil,

88.7% con televisor, 84.4% con teléfono celular, 70.6% con dispositivo para oír la radio, 40.4% con internet, 29.6% con computadora, laptop o Tablet, 28.7% con línea telefónica fija, 32.5% con horno de microondas, 8.6% con motocicleta o motoneta, 26.4% con bicicleta como medio de transporte, 31.6% tv de paga, 12.5% servicios de paga por internet y 7.6% consola de videojuegos.

En lo que respecta a la educación, de la población de 3 a 5 años el 69.1% asiste a la escuela, de 6 a 14 años el 93.7% asiste a la escuela y de 15 a 24 años el 44.8% asiste a la escuela. En total se tiene una población analfabeta de 334 179 personas (7% de la población).

En las características económicas se tiene que el 77.4% de la población de 12 años y más participan económicamente, teniendo un total de 3 145 110 personas económicamente activas de los cuales el 58.8% son hombres y el 41.2% son mujeres. De la población no económicamente activa (1 947 673 personas) el 5.5% son pensionados, 35.7% son estudiantes, 47.2% se dedican a los quehaceres del hogar, 4.3% tiene limitaciones físicas o mentales permanentes que les impide trabajar y finalmente el 7.3% tiene actividades no económicas. Los principales sectores de actividad por porcentaje de aportación al PIB son: actividades primarias con 4.1%, actividades secundarias con 35.2% y actividades terciarias con 60.8%. En total se tienen 298 183 establecimientos (6.2% del total nacional).

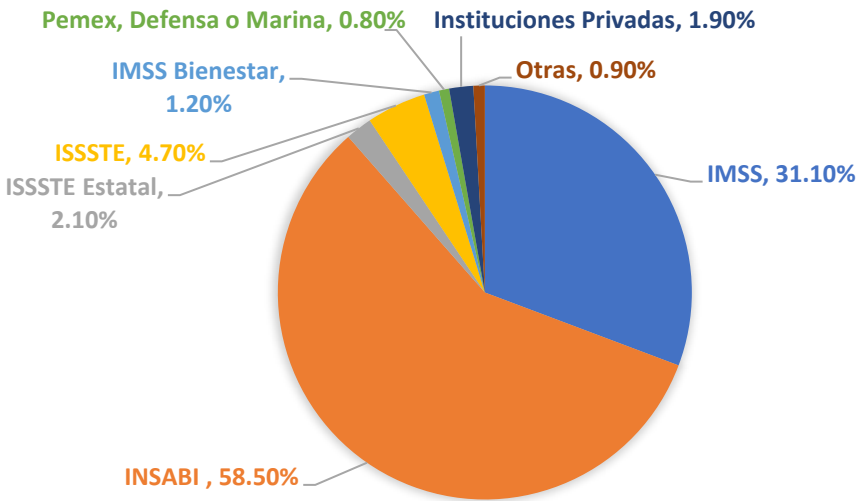


Figura 6.5. Porcentaje de la población con servicios de salud.

Respecto a los servicios de salud, el 70.6% de la población se encuentra afiliada a alguno de los siguientes servicios: 58.5% al Instituto de Salud para el Bienestar (INSABI), 31.1% al instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), 4.7% al Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado (ISSSTE), 2.1% al Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado del Puebla (ISSSTEP), 1.9% a Instituciones privadas, 1.2% al IMSS-BIENESTAR, 0.8% a PEMEX, Defensa o

Marina y 0.9% a otras instituciones (Figura 6.5). Hay que resaltar que la suma de porcentajes da más de 100% dado que algunas personas se encuentran afiliadas a más de un servicio de salud.

Adicionalmente se encontró información relacionada con la presencia de contenedores seguros para la disposición de medicamentos caducos. De acuerdo con la página oficial del Sistema Nacional de Gestión de Residuos de Envases de Medicamentos A.C. (SINGREM), el estado de Puebla cuenta con 184 contenedores seguros a lo largo de su territorio.

#### *Ubicación de las PTAR y los cuerpos de agua receptores*

Del “Inventario Nacional de Plantas Municipales de Potabilización y de Tratamiento de Aguas Residuales en Operación” publicado por la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) en Diciembre del 2021, el estado de Puebla cuenta con un total de 149 PTARS con una capacidad instalada de 4 462.3 L/s y un caudal tratado de 4 299.4 L/s, en específico la Ciudad de Heroica Puebla de Zaragoza cuenta con 8 PTARS en funcionamiento que en conjunto aportan una capacidad instalada de 2 930.0 L/s y 2 987.5 L/s de caudal tratado, teniendo dos PTARS con capacidad excedida, siendo estas las plantas de Puebla Alseseca y Puebla San Francisco, ambas con el tratamiento primario avanzado y bajo operación por el Sistema Operador de los Servicios de Agua Potable y Alcantarillado de Puebla (SOAPAP). De este inventario se extrajeron los datos correspondientes a las 149 plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) presentes en el estado de Puebla, posteriormente se procedió a localizar los 93 puntos de la Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua (RNM) presentes en el estado de Puebla, donde se reportan distintos parámetros de la calidad del agua y dependiendo el punto de monitoreo, el año del reporte varía de 2012 a 2021, de estos puntos de monitoreo únicamente se conservaron aquellos que estaban aguas arriba (AA) o aguas abajo (aa) de alguna de las 149 PTARs del Estado, adicionalmente los puntos que estaban dentro del municipio de San Martín Texmelucan se conservan dado que parte del área metropolitana de Puebla y finalmente considerando que el río Atoyac desemboca en la Presa Manuel Ávila Camacho los tres puntos de muestreo ahí presentes se conservaron. Finalmente se conservaron 25 puntos de monitoreo y 12 PTARs que cuentan con al menos un punto de monitoreo (Tabla 6.4).

Tabla 6.4. 12 plantas de tratamiento de agua residual municipal del Estado de Puebla

ID de Planta	Nombre de la Planta	Cuenca Hidrológica	Municipio y Localidad	Tipo de Tratamiento	Caudal Instalado-Tratado (L/S)	Cuerpo Receptor
615	Acatlán	-	Acatlán, Acatlán de Osorio	Lodos Activados	40-40	Río Acatlán
620	Parque Ecológico	Balsas	Puebla, Heroica Puebla de Zaragoza	Discos Biológicos o Biodiscos	80-80	Río Alseseca / riego áreas verdes
1094	Santiago Coltzingo	Balsas	Tlahuapan, Santiago Coltzingo	Lodos Activados	3-1.8	Barranca sin nombre de la localidad Santiago Coltzingo
1161	Atoyac Sur	Balsas	Puebla, Heroica Puebla de Zaragoza	Primario Avanzado	400-436	Río Atoyac
1338	Puebla Alseseca	Balsas	Puebla, Heroica Puebla de Zaragoza	Primario Avanzado	700-758	Río Alseseca
1339	Puebla Barranca del Conde	Balsas	Puebla, Heroica Puebla de Zaragoza	Primario Avanzado	340-209	Río Atoyac
1340	Puebla San Francisco	Balsas	Puebla, Heroica Puebla de Zaragoza	Primario Avanzado	1 100.0-1 292	Río Atoyac
2108	Santa María Texmelucan	Balsas	Tlahuapan, Santa María Texmelucan	Rafa o Wasb	5-6	Río Ayotla
2404	Coronel Tito Hernández	Golfo Centro	Venustiano Carranza, Coronel Tito Hernández (María Andrea)	Lodos Activados	4-4	Barranca sin nombre de la localidad de Coronel Tito Hernández
3146	Chiautzingo	Balsas	Chiautzingo, San Lorenzo Chiautzingo	Lodos Activados	20-20	Barranca Xochiac
3148	Izúcar de Matamoros	Balsas	Izúcar de Matamoros, Izúcar de Matamoros	Filtros Biológicos o Rociadores o Percoladores	90-90	Río Nexapa
3389	Atlixco	Balsas	Atlixco, Atlixco	Lodos Activados	150-113	Río Cantarranas

*Tipos de tratamientos de aguas utilizados en las PTAR del Estado de Puebla*

De los datos mostrados en la Tabla 6.4, se logra observar los distintos tipos de tratamiento, así como su frecuencia de uso en las PTAR del estado de Puebla (Ver Tabla 6.5). A continuación, se describen los tratamientos, haciendo énfasis en el tratamiento biológico dado que es el fundamento para el resto de los tratamientos.

Tabla 6.5. Tratamientos de aguas residuales utilizados en el Estado de Puebla

Tipo de Tratamiento	Número de PTAR	Tipo de Tratamiento	Número de PTAR
Reactor Biológico	11	Lodos Activados	15
Discos Biológicos o Biodiscos	1	Primario Avanzado	6
Tanque Séptico	7	Rafa o Wasb	63
Filtro rociador	3	Rafa + otro	11
Lagunas de Estabilización	32	Total	149

Cuando las aguas residuales presentan una elevada concentración de materia orgánica disuelta, la alternativa más competitiva es el tratamiento biológico, por su sencillez y bajos costes, los requisitos



para la aplicación de este tratamiento es que la contaminación sea biodegradable y que no haya presencia de ningún compuesto biocida en el efluente a tratar.

Este tratamiento se basa en la capacidad de un conjunto de microorganismos que son capaces de degradar la materia orgánica presente en el agua residual para su propio crecimiento, requiriendo, aparte de materia orgánica, nutrientes como nitrógeno y fósforo (Tabla 6.6) La eliminación de la materia orgánica biodegradable, así como el nitrógeno y el fósforo, mediante tratamientos biológicos es la forma más económica y sencilla de tratar los efluentes.

Es por esta razón que es el tratamiento más aplicado no sólo para el tratamiento de las aguas residuales urbanas, sino también para las industriales. Las limitaciones de este tipo de tratamiento están relacionadas con la biodegradabilidad de la contaminación y con la presencia en el efluente a tratar de alguna sustancia inhibidora del crecimiento de los microorganismos (biocidas) (Ferrer, Seco & Robles, 2018; Condorchem, 2021).

Tabla 6.6. Organismos presentes en sistemas de tratamiento biológico (Ferrer, Seco & Robles, 2018).

<b>Organismo</b>	<b>Función en el tratamiento biológico</b>
Bacterias	En los sistemas biológicos de depuración intervienen en múltiples procesos. Entre ellos, el más importante es el de la eliminación de la materia orgánica por la vía aerobia (oxidación y síntesis de nuevos materiales orgánicos en forma de material celular). Pero también intervienen en los procesos de descomposición anaerobia, así como en los de desnitrificación, nitrificación y acumulación de fósforo en sistemas de eliminación de nutrientes en plantas de fangos activados.
Protozoos	Pueden alimentarse de bacterias u otros microorganismos (holozoicos) o de materia orgánica disuelta (osmótrofos), aunque no se cree que compitan eficazmente con las bacterias por el sustrato soluble, pudiéndose asumir que la eliminación de la materia orgánica disuelta es llevada a cabo por las bacterias.
Hongos	Aunque pueden utilizar la materia orgánica disuelta, rara vez compiten con las bacterias en los sistemas de cultivo en suspensión. Bajo determinadas condiciones (pH bajos, déficit de nitrógeno) pueden proliferar, produciendo unos fangos con pobres cualidades de sedimentación. Son más frecuentes en los sistemas de cultivo fijo constituyendo en estos sistemas una parte importante de la biomasa.
Algas	Su utilización en los sistemas de depuración no es tanto por su capacidad de depurar sino como fuente de oxígeno en los sistemas extensivos. Al ser autótrofas su presencia en un sistema de depuración no disminuye el contenido en materia orgánica, sino que lo aumenta pues la sintetizan a partir de las fuentes minerales de carbono existentes.
Rotíferos	En los sistemas de fangos activados constituyen normalmente, junto a los nemátodos, la cima de la pirámide trófica; ejerciendo una acción depredadora sobre el resto de los organismos que existen en el medio.
Nemátodo	En los sistemas de depuración actúan como depredadores de los organismos inferiores, y, como ya se ha dicho antes, en los fangos activados constituyen la cima de la pirámide trófica.

El conjunto de microorganismos es muy variado y rico en especies y su composición exacta depende de las características del agua residual que se esté tratando y de las condiciones de proceso, siendo una especie de ecosistema que se adapta continuamente a las condiciones externas cambiantes. En la Tabla 6.6 se resumen los distintos organismos empleados en sistemas de tratamiento biológico.

El tratamiento biológico es la base para el tratamiento de aguas residuales, de éste se derivan tratamientos especializados para zonas, caudales, tipos de aguas y presupuestos, estos tratamientos alternativos, usados en el Estado de Puebla se resumen en la Tabla 6.7.

Tabla 6.7. Descripción de los tratamientos de aguas residuales más usados en el estado de Puebla.

Tratamiento	Fundamento
Discos Biológicos o Biodiscos	Este tipo de tratamiento es una variante de los procesos de biopelícula, los biodiscos son instalaciones de discos con superficie cubierta de biomasa en condiciones aerobias que, en régimen continuo, consumen materia orgánica presente en el agua residual afluyente. Desde el punto de vista estructural consisten en placas sintéticas que rotan montadas sobre un eje horizontal a velocidad variable, sumergidas parcialmente en un tanque donde está contenida el agua residual (Gutiérrez & Moreno, 2020).
Filtros Biológicos o Rociadores o Percoladores	Son reactores que cuentan con un relleno filtrante (material de soporte) en el que crece una capa de microorganismos con el objetivo de formar una biopelícula que tiene el mismo fundamento que el tratamiento biológico, en el cual los microorganismos presentes degradan y eliminan una gran parte de carga contaminante (Aquatreat, 2020). El material de soporte que se deposita en los filtros biológicos está conformado por sólidos que presentan alta porosidad y diversidad en su geometría (pueden ser circulares, cuadrados o rectangulares) (Galindo <i>et al.</i> , 2016).
Lagunas de Aireadas o de Estabilización	Es similar a una laguna facultativa, pero con una mejora de oxigenación mediante aireadores mecánicos que mantienen a organismos aerobios en suspensión alcanzando una elevada tasa de degradación orgánica. Al mejorar la oxigenación natural, las lagunas aireadas son ser más profundas, reduciendo la demanda de superficie, y se adaptan mejor a climas más fríos. El efluente puede servir para recarga de acuíferos, pero el lodo generado demanda un tratamiento adicional o un correcto vertido o destino final.
Reactor anaerobio de flujo ascendente (RAFA) o Wasb	Este diseño es aplicado especialmente a aguas residuales con alto contenido de materia orgánica. El reactor RAFA y manto de lodo describe un reactor de biopelícula fija sin medio de empaque, con una cámara de digestión que tiene flujo ascendente y a cierta altura se desarrolla un manto de lodos anaerobios que es altamente activa y en el cual se da la estabilización de la materia orgánica del afluyente hasta CH <sub>4</sub> y CO <sub>2</sub> (Caicedo, 2006).
Zanjas de Oxidación	Son una aplicación del tratamiento biológico. En este tratamiento se hace uso de un sistema biológico de tratamiento con lodos activados basado en un tiempo extenso de retención de sólidos ( <i>solids retention times, SRT</i> ) para la remoción de compuestos orgánicos biodegradables (EPA, 2000). Esta retención de sólidos se da en la zanja de oxidación, en ella circula una mezcla líquida de aguas residuales y lodos activados, la velocidad de circulación tiene que ser de 25 a 30 cm/s, a fin de que los flóculos de lodo se mantengan en suspensión. (Baars, 1963).

*Puntos de monitoreo y calidad del agua determinada por la CONAGUA*

La CONAGUA lleva a cabo, a través de la Red Nacional de Medición de Calidad del Agua, el monitoreo de los principales cuerpos de agua del país. La red está constituida por puntos ubicados en cuerpos de agua lóticos, lénticos, costeros y subterráneos donde se monitorean parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, de acuerdo con el tipo de cuerpo de agua. Adicionalmente estos puntos están dentro de la jurisdicción de los organismos de cuenca (unidades operativas para la administración del agua) de la CONAGUA.

Tabla 6.8. Puntos de muestreo conservados de la Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua en el Estado de Puebla. Aguas arriba (AA) o aguas abajo (aa) de alguna de las PTARs.

CLAVE	SITIO, MUNICIPIO	CUERPO DE AGUA	RELACIÓN CON PTAR
DLPUE1992M1	Rio Atoyac, Tlahuapan	Rio Atoyac	1094 aa
DLPUE2053	Echeverria Atoyac Sur, Puebla	Rio Atoyac	1161 AA
DLPUE2055W1	Hidrométrica Echeverria, Puebla	Rio Atoyac	1161 aa
DLPUE2060W1	Totimehuacan, Puebla	Rio Alseseca	1338 AA
DLPUE2064	Puente San Francisco, Puebla	Rio Alseseca	1338 AA
DLPUE2061W1	Alseseca San Francisco, Puebla	Rio Alseseca	1338 aa
DLPUE1989	La Autopista, Puebla	Rio Atoyac	1339 AA
DLPUE1991W1	Barranca del Conde, Cuautlancingo	Rio Atoyac	1339 AA
DLPUE1976	San Francisco, Puebla	Rio Atoyac	1340 AA
DLPUE1977	Confluencia Rio San Francisco, Puebla	Rio Atoyac	1340 aa
DLPUE2074M1	Santa María Texmelucan, Tlahuapan	Rio Atoyac	2108 AA
DLPUE2008	Lázaro Cárdenas, Venustiano Carranza	Rio San Marcos	2404 aa
DLPUE2018	Confluencia con Rio Atoyac, Huejotzingo	Rio Xochiac	3146 aa
DLPUE2042	Puctla, Izúcar De Matamoros	Rio Nexapa	3148 AA
DLPUE2032M1	Rio Nexapa, Atlixco	Rio Nexapa	3389 AA
DLPUE2035	Rio Nexapa, Huaquechula	Rio Nexapa	3389 aa
DLPUE2058	Rio Acatlán, Acatlán	Rio Acatlán	615 aa
DLPUE1978	Rio Alseseca Sur, Puebla	Rio Alseseca	620 AA
DLPUE2016	Rio Cotzala, San Martin Texmelucan	Rio Cotzala	AA PTAR
DLPUE2017	San Martin-Tlaxcala, San Martin Texmelucan	Rio Atoyac	AA PTAR
DLPUE2057	Presa Manuel Ávila Camacho, Puebla	Presa Manuel Ávila	Valsequillo
DLPUE2068	Presa Manuel Ávila Camacho, Puebla	Presa Manuel Ávila	Valsequillo
DLPUE2070	Manuel Ávila Camacho, Puebla	Rio Atoyac	Valsequillo
DLPUE2015M1	Arroyo La Presa, San Martin Texmelucan	Rio Atoyac	N/A
DLPUE2054M1	Rio Xochiac, San Martin Texmelucan	Rio Xochiac	N/A

De los puntos de muestreo elegidos de la Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua todos ellos pertenecen al organismo de cuenca del Balsas, excepto uno, DLPUE2008 que pertenece al organismo de cuenca del Golfo Centro. Todos pertenecen a la cuenca del Rio Alto Atoyac, excepto DLPUE2008 que

pertenece a la cuenca del Rio Cazones DLPUE2042, DLPUE2032M1 y DLPUE2035 pertenecen a la cuenca del Rio Nexapa y finalmente DLPUE2058 pertenece a la cuenca del Rio Mixteco. En lo que respecta al tipo de cuerpo de agua DLPUE1992M1 es un arroyo, DLPUE2057, DLPUE2068 y DLPUE2070 son en una presa y el resto en ríos. Estos puntos de monitoreo elegidos se enlistan en la Tabla 6.8.

De los 25 puntos de muestreo elegidos, se extraen datos de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>), sólidos suspendidos totales (SST) y coliformes fecales (CF), ya que estos son los parámetros que mencionan las normas oficiales mexicanas NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997 acerca de contaminantes presentes en aguas residuales de descarga y reúso. Las NOM mencionan otros contaminantes como son metales pesados pero los puntos de monitoreo no reportan estos contaminantes. Adicionalmente se compararon los datos reportados por los puntos de monitoreo con los parámetros de calidad del agua de la CONAGUA y los límites máximos permisibles de ambas NOM (Ver Figura 6.6).

En lo que respecta a la DBO<sub>5</sub>, únicamente DLPUE2008 y DLPUE2074M1 contaron con una calidad aceptable dentro de los parámetros de calidad de agua, DLPUE1992M1 tuvo una buena calidad y DLPUE2017, DLPUE2035, DLPUE2042, DLPUE2053, DLPUE2057 y DLPUE2058 tuvieron una calidad aceptable. Hay que resaltar que DLPUE2054M1 se encuentra en el río Xochiac, el cual es un afluente del Rio Atoyac en el municipio de San Martin Texmelucan, DLPUE1978 es en el río Alseseca aguas arriba de la PTAR 620, ambos con una calidad fuertemente contaminada. En la Figura 6.6 (A) se resumen los datos de DBO<sub>5</sub> para los 25 puntos de monitoreo conservados, es de notar que sólo 11 de los 25 puntos están por debajo del valor mínimo de DBO<sub>5</sub> que menciona la NOM-001-SEMARNAT-2021 con un valor límite de 30 mg/L en promedio mensual para la protección de vida acuática.

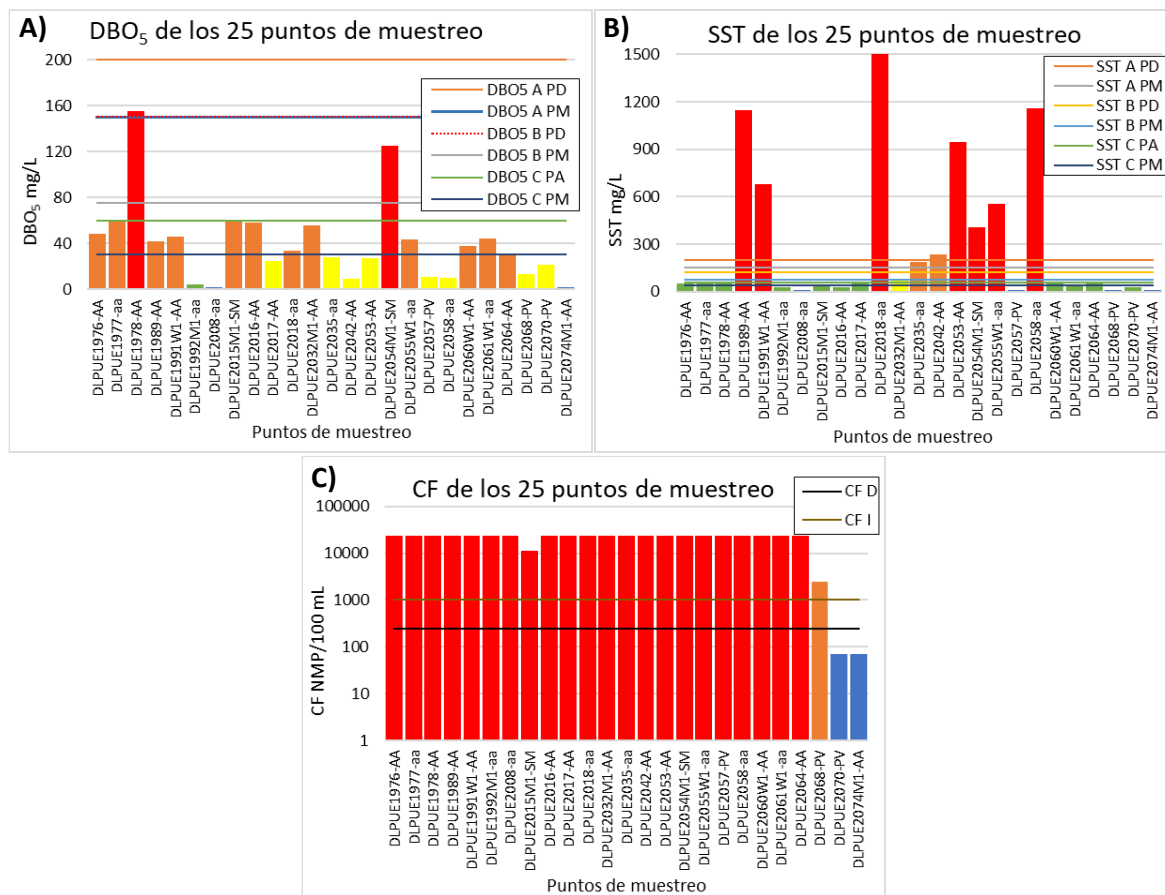


Figura 6.6. Parámetros de la calidad del agua en 25 puntos de muestreo del Estado de Puebla. **A)** Demanda Bioquímica de Oxígeno<sub>5</sub> mg/L (DBO<sub>5</sub>), de acuerdo con la NOM-001-SEMARNAT-1996, PD: Promedio Diario; PM: Promedio Mensual, A: Uso en riego agrícola; B: Uso Público Urbano; C: Protección de vida acuática. Excelente: DBO menor o igual a 3; Buena calidad: DBO mayor de 3 y menor o igual a 6; Aceptable: DBO mayor de 6 y menor o igual a 30; Contaminada: DBO mayor de 30 y menor o igual a 120; Fuertemente contaminada; DBO mayor de 120. **B)** Sólidos Suspendidos Totales mg/L (SST), de acuerdo con la NOM-001-SEMARNAT-1996, PD: Promedio Diario; PM: Promedio Mensual, A: Uso en riego agrícola; B: Uso Público Urbano; C: Protección de vida acuática. Excelente: SST menor o igual a 25; Buena calidad: SST mayor de 25 y menor o igual a 75; Aceptable: SST mayor de 75 y menor o igual a 150; Contaminada: SST mayor de 150 y menor o igual a 400; Fuertemente contaminada: SST mayor de 400. **C)** Coliformes Fecales (CF), de acuerdo con la NOM-003-SEMARNAT-1997, D: Servicios al público con contacto directo; I: Servicios al público con contacto indirecto u ocasional. En todos los casos el color de las barras representa los rangos del índice de la calidad del agua de la CONAGUA, donde Azul: Excelente, Verde: Buena calidad, Amarillo: Aceptable, Naranja: Contaminada, Rojo: Fuertemente contaminada.

En el apartado de los SST, únicamente DLPUE2008, DLPUE2057, DLPUE2068 y DLPUE2074M1 contaron con una calidad aceptable dentro de los parámetros de calidad de agua, de los 7 puntos fuertemente contaminados DLPUE1989, DLPUE1991W1 y DLPUE2053 son aguas arriba de alguna PTAR, mientras que DLPUE2018, DLPUE2055W1, DLPUE2058 y DLPUE1992M1 corresponden a puntos aguas abajo, una vez recibidos los efluentes tratados. Finalmente, DLPUE2054M1 corresponde a un río que fluye dentro del municipio de San Martín Texmelucan. En la Figura 6.6 (B) se resumen los datos de SST para los 25 puntos de monitoreo conservados, es de notar que sólo ocho de los 25 puntos estaban por debajo del

valor mínimo de SST que menciona la NOM-001-SEMARNAT-2021 con un valor límite de 40 mg/L en promedio mensual para la protección de vida acuática.

Finalmente se tiene el último parámetro a considerar, los CF, en estos datos se observa que 22 de los 25 puntos estaban fuertemente contaminados, uno contaminado y dos con una calidad excelente. DLPUE2068 se encuentra en la presa de Valsequillo y estaba contaminado, DLPUE2070 se encuentra igualmente en la presa de Valsequillo y DLPUE2074M1 se encuentra aguas arriba de la PTAR 2108, ambos puntos con una calidad excelente. Estos valores se pueden observar en la Figura 6.6 (C), hay que destacar que sólo un punto de monitoreo se encontraba por debajo del valor mínimo que acepta la NOM-003-SEMARNAT-1997 para Coliformes fecales de 240 NMP/100 mL en aguas residuales tratadas que serán usadas en servicios al público con contacto directo.

Dado el alto grado de contaminación encontrado en los distintos puntos de monitoreo de la calidad del agua, y que esta contaminación está presente sin importar si los muestreos son aguas arriba o aguas abajo del vertido de los efluentes tratados por las PTAR, se llegó a la conclusión de que las PTAR no están reduciendo contaminantes. Por lo que se requiere el desarrollo de tecnologías o tratamientos para eliminar los contaminantes presentes.

#### *Antibióticos como contaminantes y su impacto en la salud y el ecosistema*

Los antibióticos son el producto de rápidas innovaciones en el sector de la salud y su uso ha cambiado el patrón de la forma de vida moderna. Se han utilizado extensa y eficazmente en medicamentos humanos y veterinarios cuyos beneficios se han reconocido en la agricultura, la acuicultura, la apicultura y la ganadería como promotores del crecimiento. Los antibióticos pueden definirse como agentes quimioterapéuticos que restringen o anulan el crecimiento de microorganismos (Gothwal & Shashidhar, 2015).

Hay varios tipos diferentes de antibióticos y se pueden clasificar según su estructura química, mecanismo de acción, espectro de acción y vía de administración. De estas clasificaciones, la más popular es su mecanismo de acción y basándose en los grupos más comunes se tienen: b-lactámicos, sulfonamidas, monobactamas, carbapenémicos, aminoglucósidos, glucopéptidos, lincomicina, macrólidos, polipéptidos, polienos, rifamicina, tetraciclinas, cloranfenicol, quinolonas y fluoroquinolonas. En general, el 50-80% del total de compuestos parentales se excretan a través de la orina y parcialmente a través de las heces como una mezcla de compuestos conjugados con metabolitos (Jjemba, 2006; Peng *et al.*, 2009), ya sea parcialmente metabolizados o completamente inalterados, y llegan a las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) (Kemper *et al.*, 2008).

Los antibióticos a menudo se eliminan de forma incompleta durante el tratamiento de aguas residuales y, por lo tanto, se emiten al agua superficial receptora. La aplicación terrestre de biosólidos municipales también da como resultado la admisión de antibióticos en suelos, aguas subterráneas y redes de drenaje subterráneas, así como en una escorrentía superficial producida artificialmente. La eliminación inadecuada de medicamentos no utilizados o vencidos, que se arrojan directamente a los inodoros o cubos de basura terminan en plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) y vertederos (Reddersen *et al.*, 2002).

La minimización y la mitigación son la mejor solución para reducir las fuentes de antibióticos en el medio ambiente. La prescripción de dosis más bajas podría desempeñar un papel importante en la reducción de la incidencia del desperdicio de medicamentos. Al apuntar a una dosis más baja, también puede reducir la entrada de antibióticos al medio ambiente a través de la excreción (Daughton *et al.*, 2013). Impartir educación adecuada y concienciar al público sobre los problemas del consumo seguro puede ser una herramienta eficaz para la mitigación. Los problemas ambientales derivados de las prácticas de salud se han abordado en el pasado, pero la mayoría de ellos no incorporaron soluciones sostenibles porque los profesionales de la salud y el medio ambiente apenas interactúan y participan entre sí. En estas circunstancias, las directrices técnicas derivadas de estudios basados en la ecotoxicidad y la evaluación del riesgo ambiental pueden ayudar a priorizar el comportamiento de la ingesta del fármaco y la dosis antes de su lanzamiento al mercado (Daughton *et al.*, 2013; Halling-Sorensen *et al.*, 1998; Castensson *et al.*, 2009)

#### Resistencia bacteriana

Con el tiempo, la aparición de resistencia a las fluoroquinolonas se ha convertido en un problema grave entre muchos patógenos resistentes emergentes y esto finalmente termina limitando el uso de esta clase de antibióticos (Hooper, 2001). Los mecanismos de resistencia se clasifican en dos categorías, la primera es cuando se generan mutaciones en los genes de las bacterias (mutación en genes que codifican las dianas de ADN girasa y topoisomerasa IV, u otras alteraciones genómicas que afectan la acumulación de antibióticos) y la segunda trata de la adquisición de genes de resistencia de otras fuentes (adquisición de plásmidos del medio ambiente u otras cepas resistentes, con múltiples vías de resistencia) (Pham, Ziora & Blaskovich, 2019). Estos plásmidos que portan los genes de resistencia pueden causar problemas clínicos graves con una disminución de la susceptibilidad a los antibióticos que puede ir de 10 a 250 veces (Strahilevitz, Jacoby, Hooper & Robicsek, 2009). La transmisión de estos plásmidos de resistencia se produce a través de la transferencia horizontal de bacteria a bacteria, así como por transferencia vertical de generación en generación.

Las mutaciones generadas por las bacterias contra las quinolonas generalmente se localizan en la enzima diana sitios de unión en la ADN girasa y la topoisomerasa IV (Aldred *et al.*, 2013) Además, la resistencia a esta clase de antibióticos puede obtenerse mediante la adquisición de un plásmido resistente de otras fuentes en el medio ambiente mediante transferencia horizontal, lo que conduce a la rápida propagación de la resistencia (Hooper & Jacoby, 2015).

#### Efectos de las fluoroquinolonas en flora y fauna

En la Tabla 6.9 se muestra un compendio de autores que reportan presencia de ciprofloxacino, en la primera columna se menciona la región donde fueron realizados los estudios, seguido de los antibióticos encontrados, posteriormente se menciona el tipo de agua, puede ser superficial (cuerpos de agua superficiales), subterránea o de grifo (agua potable), finalmente se mencionan las concentraciones reportadas para los distintos antibióticos.

Tabla 6.9. Presencia de distintos antibióticos en cuerpos de agua alrededor del mundo.

<b>País o región</b>	<b>Antibióticos encontrados</b>	<b>Tipo de agua</b>	<b>Concentración</b>	<b>Referencia</b>
Guangzhou y Macao, China	norfloxacino, ciprofloxacino, lomefloxacino, y enrofloxacino	de grifo	1.0 - 679.7 ng/L y 2.0 - 37 ng/L, respectivamente	Wang <i>et al.</i> , 2010
China Ríos: Pearl, Yellow, Hai y Liao	norfloxacino, ofloxacino, ciprofloxacino, y oxitetraciclina	Superficial	5770, 1290, 653, y 652 ng/g, respectivamente	Peng <i>et al.</i> , 2008 Peng <i>et al.</i> , 2009 Peng <i>et al.</i> , 2011
España Ríos: Jarma, Manzanares, Guadarrama, Henares, Tagus	ciprofloxacino, claritromicina, eritromicina, metronidazol, norfloxacino, ofloxacino, sulfametoxazol, tetraciclina y trimetoprima	Superficial	3, 235, 320.5, 1195.5, 10, 179, 326, 23, and 424 ng/L, respectivamente	Valcárcel <i>et al.</i> , 2011
España Delta del río Llobregat	Ciprofloxacino fue el de mayor concentración dentro de los antibióticos encontrados	Subterránea	323.75 ng/L debido a las actividades de agricultura y agua residual pobremente tratada	Cabeza <i>et al.</i> , 2012

Como parte de los efectos ambientales que presentan los antibióticos en el ambiente se ha reportado que los antibióticos actúan como un factor ecológico en el medio ambiente que podría afectar potencialmente a las comunidades microbianas. Los efectos de estos fármacos en el ambiente incluyen alteración de la estructura filogenética, expansión de la resistencia a antibióticos y alteración de la función ecológica en el micro ecosistema. También se han detectado cambios en la estructura de la comunidad microbiana tras la adición de antibióticos en el suelo y el medio acuático. Finalmente se han descubierto efectos de los antibióticos sobre las funciones ecológicas, incluida la transformación de nitrógeno, la metanogénesis y la reducción de sulfatos y fosfatos (Yi *et al.*, 2017; Chan & Hi, 2010).



Investigaciones revelan que el ciprofloxacino puede interferir con la fotosíntesis y, en consecuencia, afectar el crecimiento de las plantas (Aristilde & Sposito, 2010).

La presencia de antibióticos en aguas superficiales, subterráneas, marinas, suelos y lodos abre la entrada de los antibióticos a la biota presente en esos ecosistemas. Una vez que los antibióticos llegan a esos lugares, pueden ser absorbidos por vegetales, cultivos, plantas acuáticas y animales (Gothwal & Shashidhar, 2015).

Eggen *et al.* (2011) estudiaron la absorción de ciprofloxacino en zanahoria (*Daucus ssp. Sativus cvs. Napoli*) y cebada (*Hordeum vulgare*). En el estudio, encontraron que el factor de bioacumulación era  $<1$  (un factor  $>1$  indica que el organismo tiene la capacidad de bioacumular la sustancia en su biomasa) y se encontró que el factor de concentración de raíces era más alto que el factor de concentración de hojas correspondiente. Además, se logró determinar la distribución de antibióticos en las plantas, la cual respeta la siguiente secuencia: hoja  $>$  tallo  $>$  raíz, también, se encontró que la temporada de invierno es más favorable que el verano para la bioacumulación.

De acuerdo a Hu, Zhou & Lou (2010), en invierno, las hojas de cilantro acumulan altos niveles de oxitetraciclina, tetraciclina y clortetraciclina que se encuentran en el rango de 78-330, 1.9-5.6, 92-481 mg/kg, respectivamente; las hojas de rábano acumulan sulfadoxina, sulfachloropiridazina, cloranfenicol y sulfametoxazol en el rango de 0.2-a 0.6, 0.1-0.5, 8-30 y 0.9-2,7 mg/kg, respectivamente; las hojas de apio acumulan ofloxacina, pefloxacina y lincomicina en el rango de 1.7-3.6, 1.1 y 5-20 mg/kg, respectivamente.

Li *et al.* (2012) encontró una presencia predominante de fluoroquinolonas en plantas acuáticas en un rango de 8.37-6532 mg/kg, donde el ciprofloxacino se encontró en una cantidad 10 veces superior al segundo antibiótico con mayor presencia, el norfloxacino, en animales acuáticos y aves se encontraron concentraciones de fluoroquinolonas en el rango de 17.8-167 mg/kg y macrólidos desde no detectables hasta 182 mg/kg en el lago Baiyangdian del norte de China.

Las vías mediante las cuales los antibióticos presentes en cuerpos de agua ingresan a la biota generalmente tienen lugar desde suelos modificados con lodos activados provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales, a través de la retención por superficies radiculares, absorción radicular, translocación, absorción foliar e ingestión animal (ingestión de suelo y pasto) (Duarte-Davidson & Jones 1996).

Profundizando en los efectos que tienen los antibióticos en la biota presente en cuerpos de agua, se ha reportado que las tetraciclinas, las fluoroquinolonas y los macrólidos afectan la síntesis de proteínas cloroplásticas y mitocondriales en las plantas (Kümmerer, 2009; Brain *et al.*, 2008). En el caso de las

fluoroquinolonas, logran inhibir la síntesis de ADN en las células eucariotas, la replicación de los plastos y tienen influencias negativas en la morfología y la fotosíntesis de las plantas. Dentro de las fluoroquinolonas, el ciprofloxacino reduce la fotosíntesis y, por tanto, el crecimiento de las plantas. Las tetraciclinas, la ciprofloxacina y la eritromicina reducen el contenido de pigmentos fotosintéticos, clorofilas y carotenoides en las plantas. Las penicilinas, cefalosporinas y tetraciclinas afectan la velocidad de transporte de electrones fotosintéticos (Kümmerer, 2009; Brain *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009). Opris *et al.* 2013) estudiaron el efecto de nueve antibióticos sobre la fotosíntesis del follaje y encontraron que la ciprofloxacina y las cefalosporinas inhiben fuertemente la tasa neta de asimilación debido a la reducción de la conductancia estomática.

## VI.2 Marco legal

### VI.2.1 Análisis de la normatividad referente a la contaminación del agua por antibióticos

#### *Jerarquía del sistema jurídico mexicano*

De acuerdo con la Suprema Corte de Justicia de la Nación (2006), el Sistema Jurídico Mexicano se divide en varios peldaños, el nivel máximo superior es ocupado por la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos, los tratados internacionales se encuentran en segundo plano inmediatamente debajo de la constitución, en tercer lugar, se encuentran el derecho federal y el local, con igual jerarquía.

#### *NORMAS Y TRATADOS INTERNACIONALES*

##### *ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS*

Declaración Universal de los Derechos Humanos. Asamblea General de las Naciones Unidas, 10 de diciembre de 1948.

El artículo 25 menciona que toda persona tiene derecho a un nivel de vida adecuado que le asegure, así como a su familia, la salud y el bienestar, y en especial la alimentación, el vestido, la vivienda, la asistencia médica y los servicios sociales necesarios.

Comité de Derechos Económicos, Sociales y Culturales Observación general N.º 15 (2002) El derecho al agua. Pacto Internacional de Derechos Económicos, Sociales y Culturales.

En la introducción y los artículos 10, 11 y 12 se mencionan que el derecho humano al agua es el derecho de todos a disponer de agua suficiente, salubre, aceptable, accesible y asequible para el uso personal y doméstico. Un abastecimiento adecuado de agua salubre es necesario para evitar la muerte por deshidratación, para reducir el riesgo de las enfermedades relacionadas con el agua y para satisfacer las necesidades de consumo y cocina y las necesidades de higiene personal y doméstica. El agua es un recurso natural limitado y un bien público fundamental para la vida y la salud. El derecho humano al agua es indispensable para vivir dignamente y es condición previa para la realización de otros derechos

humanos. Los Estados Parte deben adoptar medidas eficaces para hacer efectivo el derecho al agua sin discriminación alguna.

Pacto Internacional de Derechos Económicos, Sociales y Culturales Asamblea General de las Naciones Unidas Aprobado 16 de diciembre de 1966

Los artículos 1 y 12 mencionan que todos los pueblos pueden disponer libremente de sus riquezas y recursos naturales, sin perjuicio de las obligaciones que derivan de la cooperación económica internacional basada en el principio de beneficio recíproco, así como del derecho internacional. Y que los estados parte en el presente pacto reconocen el derecho de toda persona al disfrute del más alto nivel posible de salud física y mental.

#### ORGANIZACIÓN DE LOS ESTADOS AMERICANOS

Protocolo Adicional a la Convención Americana sobre Derechos Humanos en materia de Derechos Económicos, Sociales y Culturales "Protocolo de San Salvador". Asamblea General de la Organización de los Estados Americanos Adoptado el 17 de noviembre de 1988

Los artículos 10 y 11 mencionan que toda persona tiene derecho a la salud, entendida como el disfrute del más alto nivel de bienestar físico, mental y social, derecho a vivir en un medio ambiente sano y a contar con servicios públicos básicos y que los estados parte promoverán la protección, preservación y mejoramiento del medio ambiente.

#### MARCO LEGAL NACIONAL

Dentro de la legislación mexicana podemos encontrar cuatro Leyes Generales, la LEY GENERAL DEL EQUILIBRIO ECOLÓGICO Y LA PROTECCIÓN AL AMBIENTE, LEY GENERAL PARA LA PREVENCIÓN Y GESTIÓN INTEGRAL DE LOS RESIDUOS, LEY DE AGUAS NACIONALES, LEY GENERAL DE SALUD. Adicionalmente el país cuenta con normar oficiales mexicanas (NOMs) y normas mexicanas (NMX).

#### CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

Del TÍTULO PRIMERO, CAPÍTULO I, los artículos 3, 4, 25, 27 hablan de los Derechos Humanos y sus Garantías y cómo el estado debe de asegurarse de proporcionarlos mediante: planes y programas de estudio, la generación de responsabilidades a quien dañe el ambiente, le definición de leyes para garantizar el derecho al agua, la impulsión de empresas bajo el interés público, la imposición de propiedad privada a bienes de interés público.

Del TÍTULO TERCERO, CAPÍTULO II, el artículo 73 habla del Poder Legislativo y cómo el congreso tiene facultad para expedir leyes en materia de protección al ambiente y de preservación y restauración del equilibrio ecológico.

Del TÍTULO QUINTO, CAPÍTULO IV, los artículos 115 y 122 hablan del Poder Judicial los estados de la federación y de la ciudad de México y de cómo los municipios tienen a su cargo todo tipo de funciones de agua, desde la potabilización, el drenaje, alcantarillado, y la disposición de aguas residuales.

#### LEY DE AGUAS NACIONALES

Del TÍTULO SEGUNDO, CAPÍTULO I, el artículo 7 habla de las Disposiciones Generales y se declara de utilidad pública el mejoramiento de la calidad de las aguas residuales, la prevención y control de su contaminación, la recirculación y el reúso de dichas aguas, así como la construcción y operación de obras de prevención, control y mitigación de la contaminación del agua, incluyendo plantas de tratamiento de aguas residuales. Del CAPÍTULO III, el artículo 9 habla de la Comisión Nacional del Agua y sus atribuciones de Nivel Nacional fomentando y apoyando el desarrollo de los sistemas de agua potable y alcantarillado; los de saneamiento, tratamiento y reúso de aguas. Del CAPÍTULO III BIS, el artículo 12 habla de los Organismos de Cuenca y sus atribuciones dentro del territorio.

Del TÍTULO CUARTO (DERECHOS DE EXPLOTACIÓN, USO O APROVECHAMIENTO DE AGUAS NACIONALES), CAPÍTULO I el artículo 16 habla de aguas nacionales, reglas y condiciones para el otorgamiento de concesiones para aprovechamiento. Del CAPÍTULO III, los artículos 29 y 29 BIS hablan de los Derechos y Obligaciones de Concesionarios o Asignatarios de descargas de aguas residuales y la adopción de costos económicos y ambientales que provocan dichas descargas.

Del TÍTULO SEXTO, CAPÍTULO I, los artículos 44 y 46 hablan de los USOS DEL AGUA, del Uso Público Urbano, explotación y aprovechamiento de agua, obras de captación o almacenamiento, conducción y, en su caso, tratamiento o potabilización para el abastecimiento de agua, con los fondos pertenecientes al erario federal o con fondos obtenidos con aval o mediante cualquier otra forma de garantía otorgada por la Federación.

Del TÍTULO SÉPTIMO, CAPÍTULO I el artículo 86 habla de la PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN DE LAS AGUAS Y RESPONSABILIDAD POR DAÑO AMBIENTAL, donde menciona que "La Autoridad del Agua" tendrá a su cargo, en términos de Ley: Promover o realizar las medidas necesarias para evitar que basura, desechos, materiales y sustancias tóxicas, así como lodos producto de los tratamientos de aguas residuales, de la potabilización del agua y del desazolve de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, contaminen las aguas superficiales o del subsuelo y los bienes que señala el Artículo 113 de la presente Ley.

#### LEY GENERAL PARA LA PREVENCIÓN Y GESTIÓN INTEGRAL DE LOS RESIDUOS

Del TÍTULO TERCERO, CAPÍTULO ÚNICO, el artículo 19 habla de la CLASIFICACIÓN DE LOS RESIDUOS, la parte de interés es aquella que alude a los residuos de manejo especial que se dentro de su clasificación

podemos encontrar A) Residuos de servicios de salud, generados por los establecimientos que realicen actividades médico-asistenciales a las poblaciones humanas o animales, centros de investigación, con excepción de los biológico-infecciosos; B) Lodos provenientes del tratamiento de aguas residuales.

Del TÍTULO CUARTO, CAPÍTULO II, el artículo 31 habla de los INSTRUMENTOS DE LA POLÍTICA DE PREVENCIÓN Y GESTIÓN INTEGRAL DE LOS RESIDUOS, en especial de los Planes de manejo y de cómo los Fármacos y Lodos de perforación base aceite, provenientes de la extracción de combustibles fósiles y lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales cuando sean considerados como peligrosos, están sujetos a un plan de manejo de residuos.

#### LEY GENERAL DEL EQUILIBRIO ECOLÓGICO Y LA PROTECCIÓN AL AMBIENTE

Del TÍTULO TERCERO (APROVECHAMIENTO SUSTENTABLE DE LOS ELEMENTOS NATURALES), CAPÍTULO I, el artículo 92 habla del Aprovechamiento Sustentable del Agua y los Ecosistemas Acuáticos y de cómo las autoridades competentes promoverán el ahorro y uso eficiente del agua, el tratamiento de aguas residuales y su reúso. CAPÍTULO III, los artículos 117, 118, 119 BIS, 120, 121, 122, 123, 124, 126, 127, 128, 129 y 130 hablan de la Prevención y Control de la Contaminación del Agua y de los Ecosistemas Acuáticos, Los criterios para la prevención y control de la contaminación del agua, correspondencia de los gobiernos, control de aguas residuales, regulaciones locales y federales, autorización de colecta, tratamiento y reúso de aguas residuales.

#### LEY GENERAL DE SALUD

Del TÍTULO SEPTIMO, CAPITULO IV, el artículo 118, 119 y 122 hablan de la PROMOCIÓN DE LA SALUD, los Efectos del Ambiente en la Salud y de cómo le corresponde a la Secretaría de Salud: I. Determinar los valores de concentración máxima permisible para el ser humano de contaminantes en el ambiente; II. Emitir las normas oficiales mexicanas a que deberá sujetarse el tratamiento del agua para uso y consumo humano; III. Establecer criterios sanitarios para la fijación de las condiciones particulares de descarga, el tratamiento y uso de aguas residuales o en su caso, para la elaboración de normas oficiales mexicanas ecológicas en la materia. Y de que queda prohibida la descarga de aguas residuales sin el tratamiento para satisfacer los criterios sanitarios emitidos de acuerdo con la fracción III del artículo 118, así como de residuos peligrosos que conlleven riesgos para la salud pública, a cuerpos de agua que se destinan para uso o consumo humano.

Del TÍTULO DECIMO OCTAVO, CAPITULO VI, el artículo 457 habla de las Medidas de Seguridad, Sanciones y Delitos y de cómo se sancionará con pena de uno a ocho años de prisión y multa por el equivalente de cien a dos mil días de salario mínimo general vigente en la zona económica de que se

trate, al que por cualquier medio contamine un cuerpo de agua, superficial o subterráneo, cuyas aguas se destinen para uso o consumo humanos, con riesgo para la salud de las personas.

#### [NORMAS OFICIALES MEXICANAS](#)

Se seleccionan aquellas Normas Oficiales Mexicanas (NOM) relacionadas con esta investigación, por lo que aquellas normas emitidas por la SEMARNAT, CONAGUA o SSA, donde se traten temas de agua de consumo y uso humano, aguas residuales, identificación de contaminantes presentes, límites máximos permisibles de contaminantes, características de infiltración de mantos acuíferos, vigilancia y evaluación, son de relevancia para esta sección: NOM-001-SEMARNAT-2021, NOM-002-SEMARNAT-1996, NOM-014-CONAGUA-2003, NOM-015-CONAGUA-2007, NOM-127-SSA1-1994, NOM-179-SSA1-1998, NOM-201-SSA1-2015 y NOM-230-SSA1-2002.

#### [ACUERDO POR EL QUE SE DECLARA LA OBLIGATORIEDAD DE LA ESTRATEGIA NACIONAL DE ACCIÓN CONTRA LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS \(RAM\), 2018.](#)

Objetivos:

1. Mejorar la concientización y la comprensión con respecto a la RAM, a través de la comunicación efectiva, la educación y la capacitación.
2. Reforzar los conocimientos y la evidencia de la RAM a través de la vigilancia y la investigación, tanto en salud humana como en salud animal (incluyendo vigilancia epidemiológica, sanitaria y del uso de antimicrobianos).
3. Reducir la incidencia de las infecciones, a través de las medidas preventivas, de higiene y sanitarias efectivas, tanto en salud humana como en Salud animal.
4. Utilizar de forma óptima los agentes antimicrobianos, tanto en la salud humana como en la salud animal, mediante el uso racional de los antimicrobianos.
5. Desarrollo de la evaluación económica del problema en el país con el fin de asegurar una inversión sostenible para abordar y combatir la RAM, incluyendo el desarrollo de nuevos medicamentos, herramientas diagnósticas, vacunas y otras intervenciones.

#### [COMISIÓN FEDERAL PARA LA PROTECCIÓN CONTRA RIESGOS SANITARIOS \(Cofepris\), GUÍA PARA LA CORRECTA DISPENSACIÓN DE ANTIBIÓTICOS](#)

Menciona que las farmacias sólo deben vender antibióticos a aquellos que presenten receta médica, además determina los lineamientos a los que estará sujeta y dispensación de antibióticos. Los establecimientos necesitan llevar un registro en el que se asienten diversos datos establecidos por la guía, toda receta retenida y su registro correspondiente deberán conservarse por un periodo de 365 días naturales, cada vez que se surta el antibiótico, deberá sellarse la receta indicando en ella la cantidad vendida y la fecha de la venta

## MARCO LEGAL INTERNACIONAL

### ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS)

Organización Mundial de la Salud. (2016). Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos.

#### Objetivos:

1. Mejorar el conocimiento de la resistencia a los antimicrobianos (RAM) a través de una comunicación, educación y formación efectivas, y la concienciación al respecto
2. Reforzar los conocimientos y la base científica a través de la vigilancia y la investigación
3. Reducir la incidencia de las infecciones con medidas eficaces de saneamiento, higiene y prevención de la infección
4. Utilizar de forma óptima los medicamentos antimicrobianos en la salud humana y animal
5. Preparar argumentos económicos a favor de una inversión sostenible que tenga en cuenta las necesidades de todos los países, y aumentar la inversión en nuevos medicamentos, medios de diagnóstico, vacunas y otras intervenciones.

#### Acciones derivadas:

Se ha establecido una secretaría conjunta tripartita (FAO, OIE y OMS), acogida por la OMS, con el fin de impulsar la colaboración multipartita en relación con la RAM.

El Grupo de Coordinación Interorganismos sobre la RAM presentó al secretario general de las Naciones Unidas en abril de 2019 su informe, titulado “No podemos esperar: Asegurar el futuro contra las infecciones farmacorresistentes”. Sus recomendaciones están en proceso de aplicación.

Semana Mundial de Concienciación sobre el Uso de los Antimicrobianos; Esta Semana se denominaba anteriormente “Semana Mundial de Concienciación sobre el Uso de los Antibióticos”.

A partir de 2020 cambió de nombre a “Semana Mundial de Concienciación sobre el Uso de los Antimicrobianos”. El Comité Ejecutivo de la Iniciativa Tripartita decidió fijar las fechas de todas las futuras semanas mundiales de concienciación del 18 al 24 de noviembre, empezando por la de 2020. En 2020 el lema cambió a “Antimicrobianos: manéjalos con cuidado”

Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos y de su Uso (*Global Antimicrobial Resistance Surveillance System*, GLASS).

La OMS puso en marcha GLASS con el objetivo de seguir colmando las lagunas en conocimientos y orientar las estrategias a todos los niveles. GLASS ha sido concebido para incorporar de forma progresiva datos procedentes de la vigilancia de la RAM en los seres humanos, la vigilancia del uso de los medicamentos antimicrobianos, y la resistencia a los antimicrobianos en la cadena alimentaria y el medio ambiente. Ofrece un enfoque normalizado para la recopilación, análisis,

interpretación e intercambio de datos por los países, territorios y zonas, y permite supervisar la situación de los sistemas nacionales de vigilancia nuevos o existentes, haciendo hincapié en la representatividad y la calidad de los datos compilados. Algunas regiones de la OMS han establecido redes de vigilancia que prestan apoyo técnico a los países y facilitan el registro en GLASS.

Establecimiento de prioridades mundiales de investigación y desarrollo para la RAM

En 2017, y con el fin de orientar la investigación y desarrollo de nuevos antimicrobianos, medios de diagnóstico y vacunas, la Organización elaboró la lista OMS de patógenos prioritarios. Se actualizará en 2022. Cada año, la OMS examina las líneas preclínicas y clínicas de desarrollo de antibacterianos para valorar su progresión con respecto a la lista OMS de patógenos prioritarios. Sigue habiendo una laguna importante en investigación y desarrollo, en particular para los antibacterianos dirigidos contra las bacterias gramnegativas resistentes a los antibióticos carbapenémicos.

Alianza Mundial para la Investigación y Desarrollo de Antibióticos (*Global Antibiotic Research and Development Partnership*, GARDP).

GARDP, una iniciativa conjunta de la OMS y la Iniciativa Medicamentos para las Enfermedades Desatendidas (DNDi), fomenta la investigación y el desarrollo mediante alianzas público-privadas. Para 2025, la alianza tiene por objeto elaborar y distribuir cinco nuevos tratamientos contra las bacterias farmacorresistentes identificadas por la OMS como las que representan una mayor amenaza.

#### UNIÓN EUROPEA

El interés en contaminantes emergentes en la unión europea y sus respectivos miembros ha generado que desde hace más de una década la inclusión de determinados contaminantes emergentes dentro de la lista de observación de sustancias prioritarias.

Esta lista, actualizada cada dos años, sirve para el seguimiento de las sustancias de la lista de observación, este seguimiento debe producir datos de alta calidad sobre sus concentraciones en el medio acuático, adecuados al objetivo de apoyar, en un ejercicio de revisión independiente de conformidad con el artículo 16, apartado 4, de la Directiva 2000/60/CE, las evaluaciones de riesgo que permiten la determinación de las sustancias prioritarias. En dicha revisión, ha de estudiarse la posibilidad de incluir en la lista de sustancias prioritarias aquellas sustancias que se considere representan un riesgo significativo. A continuación, se debería establecer también una norma de calidad ambiental, que los Estados miembros habrían de cumplir. La propuesta de una sustancia para su inclusión en la lista de sustancias prioritarias sería objeto de una evaluación de impacto.



Reglamentación relacionada al manejo de antibióticos y su presencia en cuerpos de agua  
Unión Europea incluyó algunos antibióticos como eritromicina, claritromicina y azitromicina en una lista de compuestos para su observación en las aguas en el año 2015 (Decisión de Ejecución (UE) 2015/495 de la Comisión (Europa 2015), actualmente derogada). Mientras que otros como amoxicilina y ciprofloxacina fueron incorporados posteriormente en la lista de observación (Decisión de Ejecución (UE) 2018/840 de la Comisión (Europa 2018), también derogada) y se mantienen en la lista de observación más reciente (Decisión de ejecución (UE) 2020/1161 de la Comisión (Europa 2020)), que ha añadido además sulfametoxazol y trimetoprima.

DIRECTIVA 2008/105/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 2008 relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas, por la que se modifican y derogan ulteriormente las Directivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE y 86/280/CEE del Consejo, y por la que se modifica la Directiva 2000/60/CE Directiva 2013/39/EU. LISTA DE SUSTANCIAS PRIORITARIAS EN EL ÁMBITO DE LA POLÍTICA DE AGUAS; Que menciona los límites permisibles de diclofenaco y anticonceptivos (17 $\alpha$ -etinil estradiol, 17 $\beta$ -estradiol) en aguas residuales.

REGLAMENTO (UE) 2019/6 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 11 de diciembre de 2018 sobre medicamentos veterinarios y por el que se deroga la Directiva 2001/82/CE: Regulación en el manejo de medicamentos veterinarios, entre ellos los antimicrobianos.

DECISIÓN DE EJECUCIÓN (UE) 2020/1161 DE LA COMISIÓN de 4 de agosto de 2020 por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo

A partir de los datos de seguimiento obtenidos para las tres sustancias, a saber, metaflumizona, amoxicilina y ciprofloxacina, desde 2018, la Comisión llegó a la conclusión de que los datos de seguimiento de alta calidad obtenidos eran insuficientes y que, por lo tanto, esas sustancias debían permanecer en la lista de observación.

Antimicrobianos incluidos en la lista: Amoxicilina, Ciprofloxacina, Sulfametoxazol y compuestos azólicos antimicóticos como Clotrimazol, Fluconazol, Imazalil, Ipconazol, Metconazol, Miconazol, Penconazol, Procloraz, Tebuconazol, Tetraconazol.

#### ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

Acción de EE. UU. Para combatir la resistencia a los antibióticos

La resistencia a los antibióticos es una prioridad nacional y el gobierno de EE. UU. ha tomado medidas ambiciosas para combatir esta amenaza. Por ejemplo, estableció una estrategia nacional y

un plan de acción nacional para combatir las bacterias resistentes a los antibióticos. Las agencias federales están trabajando juntas para:

- Responder a las amenazas a la salud pública nuevas y en curso
- Fortalecer la detección de resistencias
- Redoblar los esfuerzos para frenar la aparición y propagación de la resistencia.
- Mejorar el uso y la notificación de antibióticos
- Desarrollo avanzado de diagnósticos rápidos
- Mejorar las medidas de control de infecciones
- Acelerar la investigación sobre nuevos antibióticos y alternativas a los antibióticos.

Acciones clave de EE. UU. respecto a la resistencia a los antimicrobianos desde el 2013 hasta la actualidad: en el 2013 los CDC (centros de control de enfermedades) publicaron el primer Informe sobre amenazas de resistencia a los antibióticos. En el 2014 La Casa Blanca dio a conocer la Estrategia Nacional para combatir las bacterias resistentes a los antibióticos, el Consejo de Asesores de Ciencia y Tecnología del Presidente (PCAST) publicó un informe sobre la lucha contra la resistencia a los antibióticos con recomendaciones clave, el presidente emitió la Orden Ejecutiva 13676 ordenando a las agencias federales que implementen las recomendaciones del informe PCAST y los CDC publicaron elementos básicos de los programas hospitalarios de administración de antibióticos, seguidos de una guía para otros entornos. En el 2015 la casa blanca organizó el foro sobre administración de antibióticos, publicó un Plan de Acción Nacional de cinco años (2020-2025), que describe los pasos para implementar la Estrategia Nacional y estableció el PACCARB (*Presidential Advisory Council on Combating Antibiotic-Resistant Bacteria*, finalmente el congreso asignó fondos para apoyar la implementación de las actividades establecidas en el Plan de Acción Nacional (2015). En el 2016 se organiza una reunión en la ONU donde las naciones aprobaron una resolución para combatir la resistencia a los antibióticos en todo el mundo. Los CDC establecieron *AR Lab Network* para respaldar la capacidad de los laboratorios a nivel nacional y financiaron a expertos locales en resistencia a los antibióticos en todos los estados, las principales ciudades y Puerto Rico, otorgaron el primer financiamiento para la innovación (\$40 millones de dólares) a investigadores académicos, de la industria y de la salud, incluido el Programa de Epicentros de Prevención de los CDC, lanzaron el Módulo de resistencia y uso de antimicrobianos para informar y analizar el uso de antibióticos en los centros de atención médica a través de la Red Nacional de Seguridad en la Atención Médica (un sistema nacional de seguimiento de infecciones en la atención médica). En el 2017 el presidente emitió una Orden Ejecutiva para continuar con los comités

asesores, incluido el PACCARB, los CDC agregaron el Centro Nacional de Vigilancia Molecular de la Tuberculosis a la AR Lab Network y la FDA publicó la Directiva sobre piensos veterinarios para ayudar a garantizar que los antibióticos solo se utilicen para tratar y prevenir infecciones en los animales destinados al consumo. En el 2018 el gobierno lanza *The AMR Challenge*, una campaña de un año encabezada por los CDC para alentar a las organizaciones globales a asumir compromisos formales que promuevan el progreso contra la resistencia, los CDC copatrocinaron un foro sobre la resistencia a los antibióticos en el medio ambiente y el efecto potencial en la salud humana, lo que resultó en un informe publicado titulado “Iniciativas para abordar la resistencia a los antimicrobianos en el medio ambiente” y lanzaron la Estrategia de contención para ayudar a detener la propagación de resistencias nuevas o emergentes, En el año 2019 los laboratorios *PulseNet* hicieron la transición a la secuenciación del genoma completo para los gérmenes transmitidos por los alimentos y el gobierno, por los CDC y el Departamento de Salud y Servicios Humanos, Concluyó *The AMR Challenge* con más de 350 compromisos de socios en todo el mundo. Los CDC publicaron el segundo Informe sobre amenazas de AR. Finalmente en el año 2020 la casa blanca publicó el Plan de Acción Nacional, 2020-2025, con acciones estratégicas coordinadas para mejorar la salud y el bienestar de todos los estadounidenses al cambiar el curso de la resistencia a los antibióticos en todo el espectro de *One Health*.

Con el análisis del marco legal internacional podemos observar que países como Estados Unidos de América o Regiones como la Unión Europea, si bien no tienen normatividad vigente aplicable a límites máximos permisibles de antibióticos en aguas residuales y cuerpos de agua, han avanzado en este tema en la última década, generando interés público y normativo acerca de este tema. Por otro lado, en México aún no se cuenta con normatividad que regule la presencia de estos contaminantes en aguas residuales o en el ambiente y hay que resaltar que México, al estar adscrito a tratados internacionales que mencionen el derecho a un medio ambiente, agua y vida sana, está obligado a promover políticas públicas con el fin de cumplir lo establecido (2020).

### VI.3 Tipo de investigación

Cuando se indaga en la literatura acerca de la investigación cuantitativa, se encuentran diferentes clasificaciones de los diseños de investigación. En la obra escrita por Hernández, Fernández, & Baptista, (2017) se adopta la siguiente clasificación: investigación experimental e investigación no experimental. A su vez, la experimental puede dividirse en: pre-experimentos, experimentos “puros” y cuasiexperimentos. La investigación no experimental la subdividimos en diseños transversales y diseños longitudinales. En los estudios experimentales se elabora o construye el

contexto y posteriormente se manipula de manera intencional la variable independiente, después se observa el efecto de esta manipulación sobre la variable dependiente en una situación de control. Esto se simplifica con la relación Causa (variable independiente) y Efecto (variable dependiente). Conforme a lo descrito por Hernández *et al.* (2017) la presente investigación es de tipo experimental, teniendo alcances exploratorios iniciales (ya que se examina un problema de investigación poco estudiado, del cual se tienen muchas dudas), y finales correlacionales (al describir la relación existente entre las variables).

## VII. METODOLOGÍA

### VII.1 Análisis de Infraestructura hidráulica y contaminación del agua en el Estado de Puebla

#### VII.1.1 Descripción general socioeconómica y ambiental del Estado

Para conocer la información socioeconómica y ambiental del Estado de Puebla se utilizaron distintas bases de datos: Censo de población 2020 del INEGI de la cual se obtuvo información geográfica básica del estado, así como información socioeconómica de la población. Del Sistema Nacional de Gestión de Residuos de Envases de Medicamentos A.C. (SINGREM) se obtuvo información acerca de los centros de acopio de medicamentos caducos.

#### VII.1.2 Plantas tratamiento de aguas residuales (PTAR)

La información relacionada a las plantas de tratamiento de aguas residuales se obtuvo del Inventario Nacional de Plantas Municipales de Potabilización y de Tratamiento de Aguas Residuales en Operación” publicado por la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) en diciembre del 2021, adicionalmente se realizó una búsqueda bibliográfica en motores de búsqueda académicos para la descripción del fundamento teórico de los distintos tipos de tratamiento de aguas que se usan en el Estado.

#### VII.1.3 Contaminación del agua

Se utilizó la base de datos de la Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua (RNM) para conocer la calidad del agua en distintos puntos de interés, donde se reportan distintos parámetros de la calidad del agua y dependiendo el punto de monitoreo, el año del reporte varía de 2012 a 2021. Para este fin se extrajo la información más reciente que ha sido reportada por distintos puntos de monitoreo cercanos a las PTAR obtenidas en el punto anterior.

### VII.2 Diseño y caracterización del catalizador cloroperoxidasa/dióxido de silicio (CPO/SiO<sub>2</sub>)

#### VII.2.1 Síntesis y caracterización del soporte SiO<sub>2</sub>

Se elaboró óxido de silicio a partir de la metodología propuesta por Bedoya & Muñoz (2020).

Para síntesis de 6 g de soporte SiO<sub>2</sub> por el método Sol-Gel, se mezcló precursor de silicio tetraetilortosilicato (TEOS) con solvente (etanol) y agua bajo una relación estequiométrica de 1:26:6 de TEOS:Agua:Etanol bajo la metodología mostrada en la Figura 7.1.

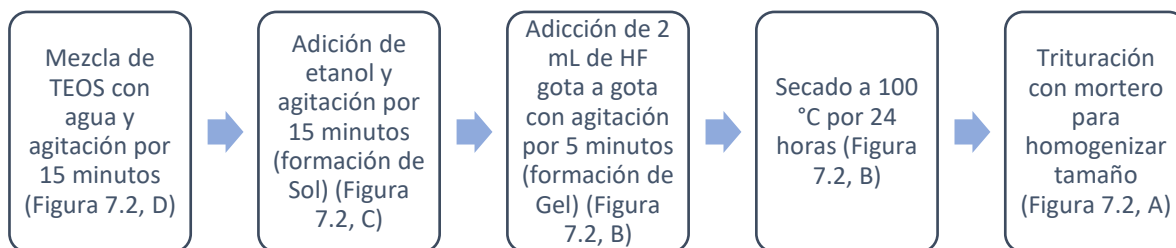


Figura 7.1. Procedimiento para síntesis de 6 g de SiO<sub>2</sub> mediante el método Sol-Gel.

Posterior a la síntesis, el soporte SiO<sub>2</sub>, se caracterizó mediante cuatro técnicas: Difracción de rayos X (DRX) que aportó información acerca de la estructura y ordenamiento del óxido de silicio e indicó si se trata de un sólido cristalino, un nano cristal o un sólido amorfo. Microscopía electrónica de barrido (MEB) que ayudó a observar la forma que presentan las partículas obtenidas, ya sean esféricas, cilíndricas o sin forma, además a confirmar lo obtenido mediante la difracción de rayos X, La Espectroscopía dispersiva de energía (EDE) que aportó información acerca de la composición química elemental (% atómico) del óxido de silicio, y Espectroscopía de Infrarrojo que aportó información acerca de la presencia o ausencia de enlaces, esta información tiene importancia ya que indica si el material tiene impurezas o rastros de la síntesis.

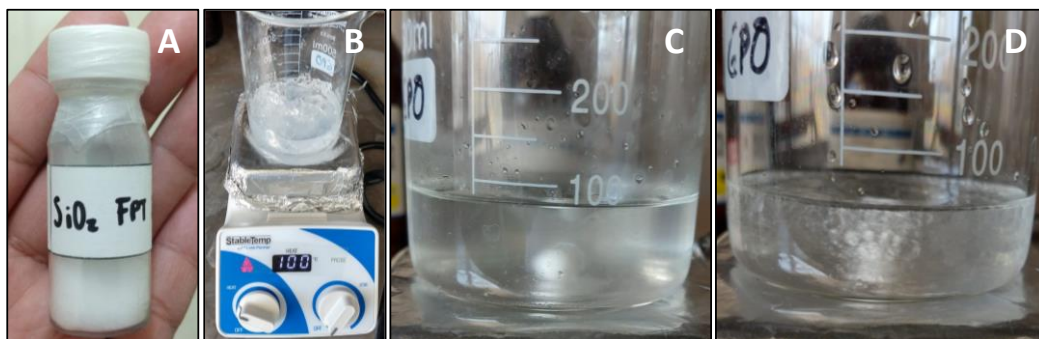


Figura 7.2. Etapas de síntesis de SiO<sub>2</sub> mediante el método sol-gel. A) SiO<sub>2</sub> sintetizado y almacenado; B) SiO<sub>2</sub> en la etapa de gelificación; C) TEOS, Etanol y Agua destilada en agitación; D) TEOS y Agua destilada en agitación.

#### VII.2.2 Síntesis y caracterización del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub>

La inmovilización de la CPO se llevó a cabo mediante la técnica de adsorción descrita por Terrés *et al.* (2008), donde se colocaron  $2.3 \times 10^{-8}$  moles de CPO libre y 100 mg de SiO<sub>2</sub> en buffer acetato pH 7 con un volumen final de 1 mL a 4°C en agitación durante 24 horas (Figura 7.3, A). El catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> (Figura 7.3, B) se recuperó por centrifugación a 12 000 rpm y se lavó cinco veces con buffer acetato pH 7, la cantidad de CPO inmovilizada se determinó por diferencia, esto es restando la cantidad de enzima removida en los lavados realizados a la concentración de enzima inicial, las mediciones de concentración de CPO se determinaron en espectrofotómetro UV-Vis a 398 nm y un coeficiente de extinción molar de  $\epsilon = 85\,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Libby *et al.*, 1989) el ensayo se realizó por

duplicado. Una vez que se obtuvo el catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> se hicieron ensayos preliminares para ver su funcionamiento, así como la posible pérdida de actividad.



Figura 7.3. Inmovilización de CPO en SiO<sub>2</sub> mediante adsorción. A) Proceso de adsorción y B) catalizador CPO/SiO<sub>2</sub>.

Para visualizar de una manera adecuada los cambios que sufrió la CPO al momento de la inmovilización, resultó adecuado calcular las constantes cinéticas, para su determinación se realizaron reacciones a distintas concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que van de 0.001 a 1.2 mM y concentraciones constantes de 3 μM de CIP, 20 mM de KCl y 2.3x10<sup>-11</sup> moles de CPO libre e inmovilizada, todo esto en buffer fosfato 60 mM y pH 3.

Como se mencionó con anterioridad, una justificación para la pérdida de actividad enzimática es su posible recuperación y reutilización, para esto se llevó a cabo un ensayo de ciclos de reacción, donde reaccionaron 2.3x10<sup>-11</sup> moles de CPO inmovilizada con 3 μM de CIP, 0.375 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y 20 mM de KCl en *buffer* fosfato 60 mM pH 3 con cinco minutos de reacción. Al finalizar cada ciclo de reacción la enzima se recuperó mediante centrifugación a 12 000 rpm durante 3 minutos y posteriormente se colocó en un medio de reacción nuevo, los resultados se reportaron como el porcentaje de degradación de CIP medible en un espectro de fluorescencia, con 277 nm de excitación y 450 nm de emisión.

### VII.3 Oxidación de los antibióticos ciprofloxacino y levofloxacino (CIP y LEVO) con el CPO/SiO<sub>2</sub>

#### VII.3.1 Preparación de las soluciones sintéticas de antibióticos (CIP y LEVO)

La solución de CIP se preparó con una tableta de 500 mg de ciprofloxacino comercial de la marca Fluxacord, la tableta se trituró en un mortero, el polvo producido de la molienda se disolvió en 400 mL de agua tridestilada, la solución formada se filtró con papel filtro Whatman n° 8, Grade 2V con 125mm de diámetro, finalmente la solución se aforó a 500 mL produciendo una concentración final

de 1 g/L. La solución de LEVO se preparó con una tableta de 500 mg de levofloxacino comercial de la marca Farmacias del ahorro siguiendo los mismos pasos de la solución de CIP, generando de igual manera una solución de 1 g/L.

De estas soluciones patrón de antibióticos se elaboraron disoluciones para la obtención de las curvas de calibración. Con ayuda del espectrofotómetro UV-Vis se hizo un barrido completo de cada antibiótico, obteniendo picos máximos de absorción de 277 nm para el ciprofloxacino y 294 nm para el levofloxacino, posteriormente haciendo un barrido en el espectrofotómetro de fluorescencia se determinaron los puntos máximos de emisión de cada antibiótico, siendo 450 nm para el ciprofloxacino y 500 nm para el levofloxacino, estos valores de absorción y emisión fueron de utilidad para cuantificar a los antibióticos en los ensayos realizados.

#### VII.3.2 Pruebas de degradación de los antibióticos con la enzima CPO

Se llevaron a cabo reacciones con 3  $\mu\text{M}$  de CIP y LEVO y distintas cantidades de CPO ( $1.15 \times 10^{-11}$ ,  $2.3 \times 10^{-11}$  y  $1.15 \times 10^{-10}$  moles), mediante espectrofotometría UV-Vis se determinaron las reducciones en las concentraciones de los antibióticos.

Una vez que se verificó la capacidad de degradación de CPO y contando con las curvas de calibración que nos ayudaron a cuantificar los porcentajes de degradación, se llevó a cabo un Diseño Central Compuesto (DCC) para cada antibiótico (CIP y LEVO), el cual resultó útil ya que amplió el experimento factorial necesario al agregar puntos axiales y centrales que ayudaron a comprender la importancia de cada variable en la degradación de los antibióticos. Para este diseño se consideraron tres variables independientes: CPO,  $\text{H}_2\text{O}_2$  y el tiempo de reacción, teniendo como variable respuesta el porcentaje de degradación. Con este análisis se lograron obtener altos porcentajes de degradación minimizando el tiempo y la cantidad de enzima requerida.

### VII.4 Evaluación del desempeño del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> en agua del lago de ciudad universitaria (CU)

#### VII.4.1 Descripción y ubicación de la zona de estudio

Se tomaron cuatro muestras simples, una en cada punto señalado en la Figura 7.4, para su recolección se utilizaron botellas de polietileno de 1 L de capacidad, estas botellas nuevas y limpias se enjuagaron tres veces con agua del lago antes de tomar la muestra final. Las cuatro muestras simples se combinaron en un envase de 4 L de capacidad de polietileno nuevo y limpio, que fue enjuagado de la misma manera que las botellas de 1 L, la mezcla resultante de las cuatro muestras simples se homogeniza y se etiqueta como muestra compuesta.



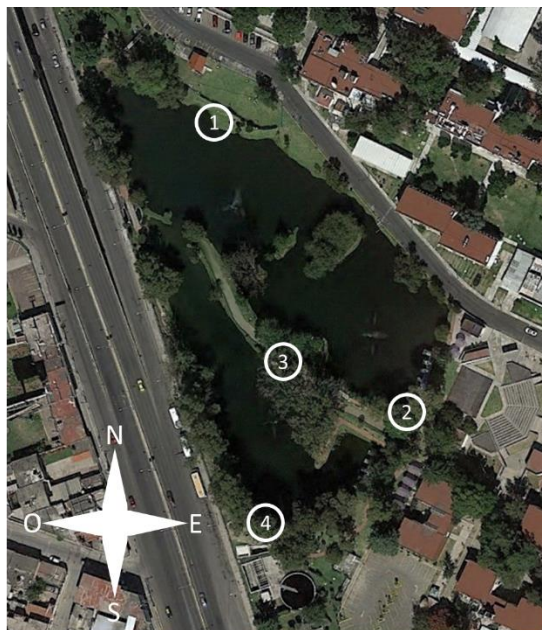


Figura 7.4. Mapa de la Laguna de CU de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla con los cuatro puntos de los muestreos realizados.

Se realizó un muestreo de agua en cuatro puntos de la laguna de oxidación que se encuentra dentro de Ciudad Universitaria de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, en el denominado “Paseo del lago Universitario, lateral al Boulevard Capitán Carlos Camacho Espíritu 6307, Cd Universitaria, Villa Universitaria, CP 72589, Puebla, Puebla, como se muestra en la Figura 7.4, siguiendo las siguientes coordenadas UTM: para el punto 1 Este (UTMX): 583634.7 y Norte (UTMY): 2101506.4, para el punto 2 Este (UTMX): 583706.3 y Norte (UTMY): 2101396.2, para el punto 3 Este (UTMX): 583659.2 y Norte (UTMY): 2101417.9 y para el punto 4 Este (UTMX): 583653.3 y Norte (UTMY): 2101356.5.

#### VII.4.2 Muestreo y caracterización fisicoquímica del agua

La mezcla compuesta es analizada bajo distintas normas mexicanas, con la finalidad de conocer los parámetros del agua del lago, así como comparar calidad con la NOM-003-ECOL-1997 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público, esta muestra será usada posteriormente para realizar ensayos con el catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> ya que al tratarse de un lago que recibe aguas residuales tratadas, es un buen campo de estudio para evaluar la eficacia del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub>. Cabe resaltar que debido a la pandemia por Covid-19, el lago dejó de recibir descargas de agua provenientes de la PTAR de la universidad por aproximadamente dos años, por lo que los análisis realizados sientan un punto de comparación para estudios futuros donde se podrá comparar el estado del lago con descargas de la PTAR y con dos años de inactividad.

#### Dureza total (NMX-AA-072-SCFI-2001)

La dureza se entiende como la capacidad de un agua para precipitar al jabón y esto está basado en la presencia de sales de los iones calcio y magnesio. La dureza es la responsable de la formación de incrustaciones en recipientes y tuberías lo que genera fallas y pérdidas de eficiencia en diferentes procesos industriales como las unidades de transferencia de calor. El método se basa en la formación de complejos por la sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético con los iones calcio y magnesio mediante una valoración empleando un indicador visual de punto final, el negro de eriocromo T, que es de color rojo en la presencia de calcio y magnesio y vira a azul cuando estos se encuentran acomplejados o ausentes. El complejo del EDTA con el calcio y el magnesio es más fuerte que el que estos iones forman con el negro de eriocromo T, de manera que la competencia por los iones se desplaza hacia la formación de los complejos con EDTA desapareciendo el color rojo de la disolución y tornándose azul.

La titulación de la muestra compuesta se llevó a cabo midiendo 50 mL en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se le añadió 1 mL de disolución *buffer* corroborando un pH de 10, posteriormente se añadió una cantidad adecuada de indicador eriocromo negro T hasta una coloración de la muestra de color vino rojizo, finalmente se tituló con disolución de EDTA 0.01 M agitando continuamente hasta que desaparecieron los últimos matices rojizos, añadiendo las últimas gotas con intervalos de 3 s a 5 s, la titulación terminó cuando la muestra cambió de color rojizo a azul. La dureza total se calculó mediante la Eq. 7.1.

$$\text{Dureza total expresada como CaCO}_3 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{(A - B) \cdot C \cdot 1000}{D} \quad \text{Eq (7.1)}$$

donde:

A son los mL de EDTA gastados en la titulación en la muestra;

B son los mL de EDTA gastados en la titulación en el blanco (1.5 mL);

C son los mg de CaCO<sub>3</sub> equivalentes a 1 mL de EDTA (0.1009), y

D son los mL de muestra.

#### Alcalinidad (NMX-AA-036-SCFI-2001)

La alcalinidad se refiere a la presencia de sustancias hidrolizables en agua y que como producto de hidrólisis generan el ion hidroxilo (OH<sup>-</sup>), como son las bases fuertes, y los hidróxidos de los metales alcalinotérreos; contribuyen también en forma importante a la alcalinidad los carbonatos y fosfatos. La presencia de boratos y silicatos en concentraciones altas también contribuyen a la alcalinidad del medio. Este método se basa en la medición de la acidez o alcalinidad en el agua por medio de una valoración de la muestra empleando como disolución valorante un álcali o un ácido según sea el caso de concentración perfectamente conocida.

La titulación de la muestra compuesta se realizó únicamente para Alcalinidad dado que el pH de la muestra fue de 9.43, el ensayo se realizó por duplicado: Se transfirieron 50 mL de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se adicionaron 2 gotas de disolución indicadora de fenolftaleína, se tituló con la disolución valorada de ácido (0.025 N) hasta el vire de la fenolftaleína (de rosa a incoloro), el valor en ambos casos fue de 0.3 mL (alcalinidad a la fenolftaleína), posteriormente se adicionaron 2 gotas de la disolución indicadora de naranja de metilo, se continuó con la titulación hasta alcanzar el vire del naranja de metilo (de canela a amarillo). La alcalinidad total se calculó mediante la Eq. 7.2.

$$\text{Alcalinidad total como CaCO}_3 \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A \cdot N \cdot 50 \cdot 1000}{100} \quad \text{Eq (7.2)}$$

donde:

A es el volumen total gastado de ácido en la titulación al vire del anaranjado de metilo en mL;

N es la normalidad de la disolución de ácido;

100 es el volumen de la muestra en mL;

50 es el factor para convertir eq/L a mg CaCO<sub>3</sub>/L, y

1 000 es el factor para convertir mL a L.

#### Demanda química de oxígeno (DQO)

La DQO se determinó mediante el kit *HI 93754C-25 HR* de la marca *HANNA instruments*, el cual es una adaptación de la norma EPA 410.4 mediante el cual se cubre la determinación de DQO en aguas superficiales, domésticas e industriales, el fabricante menciona que para la determinación se lleva a cabo una digestión en presencia de calor donde el cromo hexavalente presente en el kit se reduce a cromo trivalente debido a la oxidación de la materia orgánica presente en la muestra. La cantidad de cromo reducido es proporcional a la cantidad de materia orgánica oxidada y esta variación en el cromo se mide colorimétricamente mediante un fotómetro compatible dando como resultado la concentración de DQO se muestra en mg / L (ppm) O<sub>2</sub>.

Siguiendo el procedimiento señalado por el fabricante, se realizó un blanco (B) con 0.2 mL de agua desionizada, un ensayo por duplicado de la muestra compuesta con 0.2 mL de muestra (M) en cada ensayo y un control (C) con una DQO conocida de 8000 mg/L elaborado con una solución estándar de DQO de la marca Merck KGaA. Mediante una curva de calibración que relaciona la ABS medida en UV-Vis a 698 nm con la DQO en <sup>mg</sup>/L se obtuvo la ecuación de la recta  $ABS = 3.60E-05[DQO] + 6.54E-03$ , con esta ecuación se logró calcular B, que da una medición de 261.191 <sup>mg</sup>/L, este valor fue restado a las siguientes mediciones, C arroja un valor de 8981.229 <sup>mg</sup>/L, lo que indica un error de 10.9 %, este dato se usó para ajustar las mediciones de la muestra compuesta.

### Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>) (NMX-AA-028-SCFI-2001)

Demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>): Es una estimación de la cantidad de oxígeno que requiere una población microbiana heterogénea para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua en un periodo de 5 días. El método se basa en medir el oxígeno consumido por una población microbiana en condiciones en las que se ha inhibido los procesos fotosintéticos de producción de oxígeno en condiciones que favorecen el desarrollo de los microorganismos. El método se basa en medir la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para efectuar la oxidación de la materia orgánica presente en aguas naturales y residuales y se determina por la diferencia entre el oxígeno disuelto inicial y el oxígeno disuelto al cabo de cinco días de incubación a 20°C. La DBO<sub>5</sub> se calculó mediante la Eq. 7.3.

$$DBO_5 \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{OD_i \left( \frac{mg}{L} \right) - OD_5 \left( \frac{mg}{L} \right)}{\% \text{ dilución (decimales)}} \quad Eq (7.3)$$

Donde:

OD<sub>i</sub> (mg/L) es el oxígeno disuelto inicial

OD<sub>5</sub> (mg/L) es el oxígeno disuelto al quinto día

### Fosfatos

El fósforo generalmente se encuentra en aguas naturales, residuales y residuales tratadas como fosfatos. Éstos se clasifican como ortofosfatos, fosfatos condensados y compuestos órganofosfatados. Estas formas de fosfatos provienen de una gran cantidad de fuentes, tales como productos de limpieza, fertilizantes, procesos biológicos, etc. El fósforo es un nutriente esencial para el crecimiento de organismos, por lo que la descarga de fosfatos en cuerpos de aguas puede estimular el crecimiento de macro y microorganismos fotosintéticos en cantidades nocivas. Los fosfatos se determinaron mediante el kit *HI 93713-01* de la marca *HANNA instruments*. Este método es una adaptación del método de ácido ascórbico en donde la reacción entre los fosfatos y el reactivo causan una coloración azulada en la muestra.

Siguiendo el procedimiento señalado en el kit se tomaron 10 mL de muestra compuesta, se colocó en cero el equipo y se agregó el reactivo correspondiente, se agitó con suavidad por dos minutos hasta que el reactivo se disolvió completamente, se dejó reaccionar tres minutos y se midió en el equipo *HI 83099* de la marca *HANNA instruments*.

### Nitratos

El nitrato es un nutriente esencial para muchos autótrofos fotosintéticos, y en algunos casos ha sido identificado como el determinante del crecimiento de estos. Una concentración alta de nitratos es indicio de una etapa mayor de mineralización de los compuestos nitrogenados. Los nitratos se

determinaron mediante el kit *HI 93728-01* de la marca *HANNA instruments*. Este método es una adaptación del método de reducción de cadmio donde la reacción entre nitrato-nitrógeno y el reactivo causa un tono ámbar en la muestra.

Siguiendo el procedimiento señalado en el kit se tomaron 6 mL de muestra compuesta, se colocó en cero el equipo y se agregó el reactivo correspondiente, se agitó vigorosamente de arriba abajo durante exactamente 10 segundos, se continuó con una agitación suave invirtiendo la celda durante 50 segundos evitando la generación de burbujas, hay que resaltar que el polvo no se disolvió por completo, se dejó reaccionar durante 4 minutos y 30 segundos y se midió en el equipo *HI 83099* de la marca *HANNA instruments*.

#### Cloro libre

El cloro aplicado al agua sufre diversas reacciones para producir cloro libre que consiste en cloro molecular acuoso, ácido hipocloroso e ion hipoclorito. A su vez el cloro libre es capaz de reaccionar fácilmente con el amoníaco y ciertos compuestos de nitrógeno formando cloro combinado produciendo monoclaminas, dicloroaminas y tricloruro de nitrógeno (compuestos potencialmente cancerígenos). El cloro libre se determinó mediante el kit *HI 93701-01* de la marca *HANNA instruments*. Este método es una adaptación del USEPA 330,5 y el método estándar 4500 - Cl G. La reacción entre el cloro y los reactivos causa una coloración rosa en la muestra.

Siguiendo el procedimiento señalado en el kit se tomaron 10 mL de muestra compuesta, se colocó en cero el equipo y se agregó el reactivo correspondiente, se agitó gentilmente durante 20 segundos, se dejó reaccionar durante 1 minutos y se midió en el equipo *HI 83099* de la marca *HANNA instruments*.

#### Cloruros (NMX-AA-073-SCFI-2001)

El ion cloruro es uno de los iones inorgánicos que se encuentran en mayor cantidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas, su presencia es necesaria en aguas potables. En agua potable, el sabor salado producido por la concentración de cloruros es variable. Un alto contenido de cloruros puede dañar estructuras metálicas y evitar el crecimiento de plantas. Las altas concentraciones de cloruro en aguas residuales, cuando éstas son utilizadas para el riego en campos agrícolas deteriora, en forma importante la calidad del suelo. La determinación de cloruros por este método se basa en una valoración con nitrato de plata utilizando como indicador cromato de potasio. La plata reacciona con los cloruros para formar un precipitado de cloruro de plata de color blanco. En las inmediaciones del punto de equivalencia al agotarse el ion cloruro, empieza la precipitación del cromato. La formación de cromato de plata puede identificarse por el cambio de

color de la disolución a anaranjado-rojizo, así como en la forma del precipitado. En este momento se da por terminada la valoración.

La titulación de la muestra compuesta se realizó por duplicado: Se transfirieron 50 mL de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se adicionaron 2 gotas de disolución indicadora de cromato de potasio, se tituló con la disolución valorada de nitrato de plata (0.014 N) hasta el vire de amarillo a naranja rojizo, manteniendo un criterio constante en el punto final. La cantidad de cloruros se calculó mediante la Eq. 7.4.

$$Cl^{-} \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{(A - B) \cdot N \cdot 35.45}{mL \text{ de muestra}} \quad Eq (7.4)$$

donde:

A son los mL de disolución de nitrato de plata gastados en la valoración de la muestra;

B son los mL de disolución de nitrato de plata gastados en la valoración del blanco;

N es la normalidad del nitrato de plata.

[Sólidos suspendidos y totales \(NMX-AA-034-SCFI-2015\)](#)

El agua puede contener varios tipos de sólidos, entre ellos, sólidos disueltos y los sólidos suspendidos. Los sólidos y sales disueltas pueden afectar adversamente la calidad de un cuerpo de agua, un efluente o un proceso de varias formas, en plantas potabilizadoras por ejemplo el análisis de sólidos disueltos es importante como indicador de la efectividad de procesos de tratamiento del agua. El principio de este método se basa en la medición cuantitativa de los sólidos y sólidos disueltos, así como la cantidad de materia orgánica contenidos en aguas naturales, residuales y residuales tratadas, mediante la evaporación y calcinación de la muestra filtrada o no, en su caso, a temperaturas específicas, en donde los residuos son pesados y sirven de base para el cálculo del contenido de estos.

Dos cápsulas de porcelana se llevaron a peso constante en horno a una temperatura de  $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 20 minutos, posteriormente se llevaron a temperatura ambiente en un desecador y se pesaron, teniendo pesos de 29.5535 y 25.6525 g. A cada una se le colocó 20 mL de la muestra compuesta y se colocaron a sequedad durante 24 horas a  $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , se llevaron a un desecador hasta temperatura ambiente y se determinó el peso final, obteniendo 29.5612 y 25.6588 g respectivamente. Los sólidos totales se calcularon mediante la Eq. 7.5.

$$ST \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{(m_3 - m_1)}{V} \cdot 1\,000\,000 \quad Eq (7.5)$$

donde:

ST Son los sólidos totales, en  $\text{mg/L}$ ;

$m_3$  es la masa de la cápsula con el residuo, después de la evaporación, en g;

$m_1$  es la masa de la cápsula vacía a masa constante, en g;  
 $V$  es el volumen de muestra, en mL.

Para la determinación de sólidos suspendidos totales se llevaron a peso constante dos papeles filtro con una porosidad de 1.5  $\mu\text{m}$  acoplados a dos crisoles gooch, obteniendo pesos de 22.9838 y 21.1225 g, posteriormente se filtraron 50 mL de muestra compuesta, los papeles filtro acoplados a los crisoles gooch se colocaron a sequedad durante 24 horas a  $105\text{ }^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ , se llevaron a un desecador hasta temperatura ambiente y se midió el peso final, obteniendo 22.9856 y 21.1250 g respectivamente. Los sólidos suspendidos totales se calcularon mediante la Eq. 7.6.

$$SST \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{(m_6 - m_2)}{V} \cdot 1\,000\,000 \quad \text{Eq (7.6)}$$

donde:

$SST$  son los sólidos suspendidos totales, en  $\text{mg/L}$ ;

$m_2$  es la masa del crisol gooch con el filtro antes de la filtración, en g;

$m_6$  es la masa del del crisol gooch con el filtro después del secado, en g;

$V$  es el volumen de la muestra, en mL.

Finalmente, los sólidos disueltos totales se obtuvieron por diferencia, restando sólidos suspendidos totales a sólidos totales.

[pH \(NMX-AA-008-SCFI-2016\)](#).

La medición del pH del agua es muy importante para muchos tipos de muestra. Los valores altos y bajos de pH son tóxicos para organismos acuáticos, ya sea directa o indirectamente. Es el parámetro más importante utilizado en la evaluación de las propiedades corrosivas de un medio ambiente acuático. Asimismo, es importante para el funcionamiento efectivo de los procesos de tratamiento de aguas y su control (por ejemplo, floculación y desinfección con cloro), el control de disolución de metales en canales y conductos y tratamiento biológico de aguas residuales y los vertidos de aguas residuales. Los métodos electrométricos están basados en la medición de la diferencia de potencial de una celda electroquímica, la cual consta de dos medias celdas, la primera consiste en un electrodo de medición y la segunda en un electrodo de referencia. El potencial del electrodo de medición es una función de la actividad del ion hidrógeno de la disolución de medición. El valor de pH de una medición depende de la temperatura debido al equilibrio de disociación. Por lo tanto, la temperatura de la muestra siempre debe ser reportada en conjunto con el pH de la muestra.

Se realizaron mediciones en cada punto que conforma la muestra compuesta (ver Mapa 1). Las mediciones se realizaron con el *medidor portátil de pH, conductividad y temperatura PC18* de la marca CONDUCTRONIC.

#### Temperatura (NMX-AA-007-SCFI-2013).

Las temperaturas elevadas en el agua pueden ser indicadores de actividad biológica, química y física, lo anterior tiene influencia en los tratamientos y abastecimientos para el agua, así como en la evaluación limnológica de un cuerpo de agua, por lo que es necesario medir la temperatura como un indicador de la presencia de compuestos y contaminantes, a través del método de prueba que se establece en la presente norma mexicana. El valor de temperatura es un criterio de calidad del agua para la protección de la vida acuática y para las fuentes de abastecimiento de agua potable, es también un parámetro establecido como límite máximo permitido en las descargas de aguas residuales y una especificación de importancia en los cálculos de balance de energía y de calor de los procesos industriales.

Se realizaron mediciones en cada punto que conforma la muestra compuesta (ver Mapa 1). Las mediciones se realizaron con el *medidor portátil de pH, conductividad y temperatura PC18* de la marca CONDUCTRONIC.

#### Conductividad eléctrica (NMX-AA-093-SCFI-2018)

La medición directa de la conductividad eléctrica en aguas residuales puede realizarse con instrumentos mediante la inducción de una corriente y su conducción por los iones presentes en el agua, esta conducción dependerá de la concentración y naturaleza de los iones, así como de la temperatura del agua. Se expresa como unidades de siemens por metro (S/m) o equivalentes como microsiemens por centímetro ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ).

Se realizaron mediciones en cada punto que conforma la muestra compuesta (ver Mapa 1). Las mediciones se realizaron con el *medidor portátil de pH, conductividad y temperatura PC18* de la marca CONDUCTRONIC.

#### Oxígeno disuelto (NMX-AA-012-SCFI-2001)

En el método electrométrico los electrodos de membrana sensible al oxígeno ya sean galvánicos o polarizados están constituidos por dos electrodos de metal en contacto con un electrolito soporte, separado de la disolución de muestra por medio de una membrana selectiva. En el cátodo, que usualmente es oro o platino, ocurre la reducción del oxígeno mientras que en el ánodo ocurre la oxidación del metal (plata o plomo). La diferencia básica entre el sistema galvánico y el polarizado es que en el primero la reacción en el electrodo ocurre espontáneamente, mientras que en el segundo es necesario aplicar un potencial externo para polarizar el electrodo indicador. Generalmente se utilizan membranas de polietileno y fluorocarbón que son permeables al oxígeno molecular y relativamente rugosas.



Se realizaron mediciones en cada punto que conforma la muestra compuesta (ver Mapa 1). Las mediciones se realizaron con el *Medidor portátil de oxígeno disuelto y temperatura Ox25* de la marca CONDUCTRONIC.

#### VII.4.3 Pruebas de degradación de CIP Y LEVO en agua del lago de CU

De la muestra compuesta recolectada para los análisis realizados anteriormente, se toman alícuotas de 50 mL y se ajusta su pH con soluciones patrón de HCl y NaOH con la finalidad de tener agua de la laguna a pH 3, 4, 5, 6, 7 y 8. Adicionalmente se preparan soluciones *buffer* a los mismos pH, para los pH 3, 6, 7 y 8 se utiliza *buffer* fosfatos y para los pH 4 y 5 se usa *buffer* acetato, esto considerando los pKa de cada ácido y su desempeño como amortiguador a distintos pH. Una vez que se tiene el agua de laguna y los *buffers* a distintos pH se realiza un ensayo de estabilidad del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> a distintos pH, así como el efecto positivo o negativo que tiene el agua de una laguna de oxidación en la actividad enzimática.

Para la realización de estos ensayos, se utilizó agua de la laguna a la cual se le añadió una concentración de antibióticos de 3 μM. Hay que recordar que en ambientes contaminados por antibióticos, estos se encuentran en el orden de nano gramos por litro, pero al no tener acceso a equipos que puedan medir estas concentraciones, resultó necesario añadir esta concentración de antibióticos debido a la capacidad de detección de los equipos de medición a los que se tuvo acceso. Para las reacciones se utilizaron  $5 \times 10^{-11}$  moles de CPO inmovilizada, 3 μM de CIP, 0.375 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y 20 mM de KCl en 3 mL de volumen final. En algunos casos dada la alta velocidad alcanzada se llegó a la degradación máxima en menos de minuto y medio, por lo que los resultados se reportan como velocidad máxima alcanzada al inicio de la reacción y degradación máxima alcanzada dentro de los primeros cinco minutos.

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### VIII.1 Características fisicoquímicas del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub>

#### VIII.1.1 Estructura cristalina y tamaño de partícula del soporte SiO<sub>2</sub>

Respetando la relación estequiométrica indicada en el punto 7.2.1, se midieron 22.75 mL de TEOS, 46.89 mL de agua destilada y 35.11 mL de etanol, durante la formación de SOL se apreció la formación de micelas debido a la insolubilidad del TEOS en agua, las cuales se disolvieron al agregarse el etanol. El resultado final de la síntesis fue la obtención de 5.7559 g de soporte SiO<sub>2</sub>. La mitad del soporte SiO<sub>2</sub> se llevó a caracterización y el resto se guardó para posteriores análisis

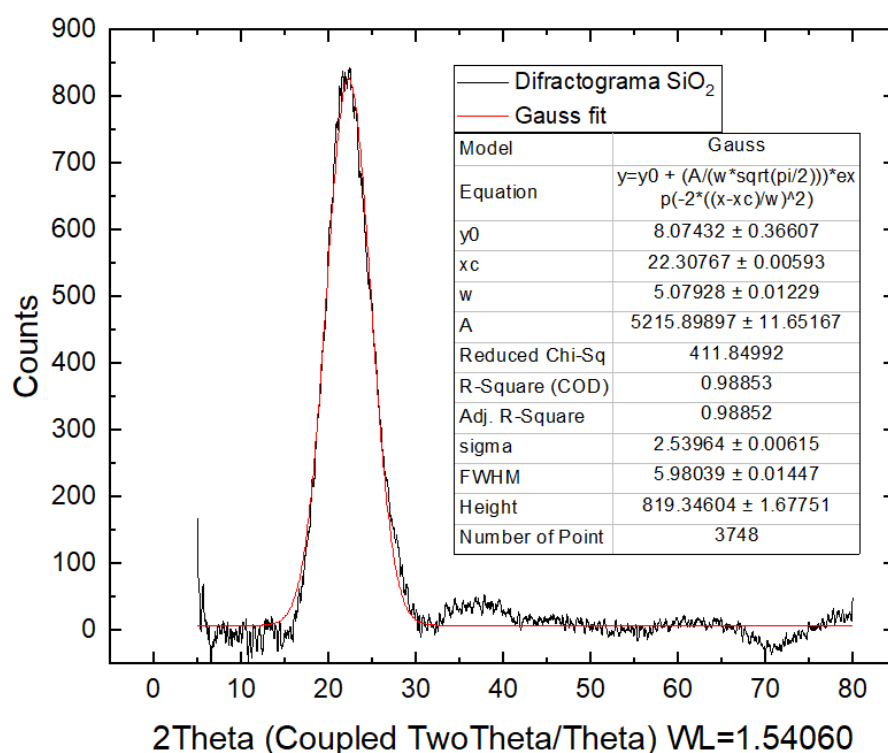


Figura 8.1. Patrón de difracción de óxido de silicio (SiO<sub>2</sub>) preparado por el método Sol-Gel.

Los datos obtenidos de la DRX se analizaron con el *software Origin Pro-2021*, donde se realizó un ajuste de curva de Gauss al difractograma, de este ajuste llamado *Gauss fit* (Figura 8.1), se pudo apreciar que el patrón de difracción de rayos X del SiO<sub>2</sub> preparado por el método Sol-Gel no presenta un comportamiento de picos definido como es el caso de un sólido cristalino, tampoco presentó el patrón de un nano cristal, por tanto, el patrón que presentó el SiO<sub>2</sub> se asemeja a un sólido amorfo o un líquido, es este caso al tratarse de un sólido, se concluye que se trató de un sólido amorfo, de acuerdo con lo planteado por (Kulkarni & Kulkarni, 2015). Adicionalmente se obtuvo el FWHM (*full*

*width half maximum*) del único pico dominante, este valor fue usado posteriormente para la determinación del tamaño promedio de partícula.

El tamaño de partícula del SiO<sub>2</sub> sintetizado mediante el método sol-gel fue determinado mediante la ecuación de *Scherrer* (Eq. 8.1) (Kulkarni, 2015)

$$T = \frac{0.9 \lambda}{\beta \cos \theta_{\beta}} \quad \text{Eq. (8.1)}$$

Donde T es el tamaño de partícula del material (nm), 0.9 es una constante denominada “factor de forma”,  $\lambda$  es la longitud de onda de los rayos X utilizados en el análisis (1.54060 Å),  $\beta$  es el FWHM observado del único pico dominante, dado que el análisis se realizó por duplicado se realiza un promedio del FWHM de ambos ensayos (5.98039° y 6.46409°) obteniendo un FWHM promedio 6.22224°, finalmente  $\theta_{\beta}$  corresponde al ángulo de difracción de Bragg donde también se realizó un valor promedio de los dos ensayos realizados (22.30767° y 22.46717°), teniendo un  $\theta_{\beta}$  promedio de 22.38742°. Con estos datos el tamaño de partícula promedio resultó ser de **13.00585 nm**.

#### VIII.1.2 Morfología de las partículas del SiO<sub>2</sub>

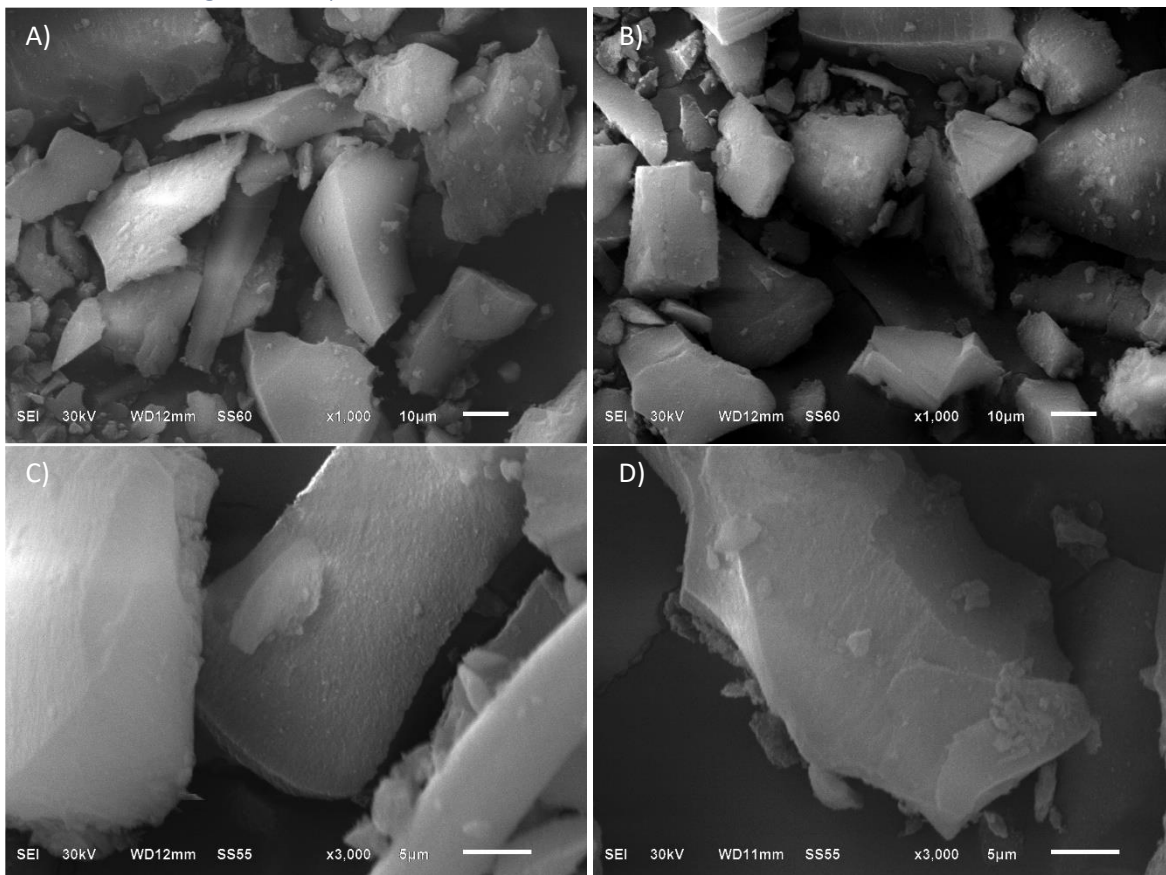


Figura 8.2. Imágenes obtenidas de óxido de silicio (SiO<sub>2</sub>) mediante un microscopio electrónico de barrido. A y B) amplificación x1000, C y D) amplificación x3000. En todas se usaron electrones secundarios (SEI).

En la Figura 8.2 se pueden apreciar distintas imágenes obtenidas de  $\text{SiO}_2$  mediante un microscopio electrónico de barrido, estas imágenes corresponden a cuatro ampliaciones realizadas mediante electrones secundarios (SEI): x1000 (A y B) y x3000 (C y D). Gracias a esta información se pudo confirmar lo obtenido en la difracción de rayos X, el  $\text{SiO}_2$  no presenta una estructura cristalina, más bien presenta tamaños de partículas variados con geometría irregular, esto muestra que las partículas tienen la estructura de un sólido amorfo.

#### VIII.1.3 Composición química elemental del $\text{SiO}_2$

En Figura 8.3, la cual es un espectro dispersivo de energía se aprecian dos picos bien definidos, uno corresponde al oxígeno (O) y otro al silicio (Si). Esto mostró que el  $\text{SiO}_2$  obtenido por el método sol-gel da un material con la composición deseada, sin contaminación, sin impurezas, sin residuos de síntesis, lo que da la posibilidad de tener un soporte para usar en la inmovilización. Adicionalmente, al realizar un escaneo en tres *Spectrum* del material se encuentra que el material tiene un porcentaje en peso promedio de  $43.31 \pm 2.84\%$  de silicio y  $56.69 \pm 2.84\%$  de oxígeno, lo que da un total de 100.00%.

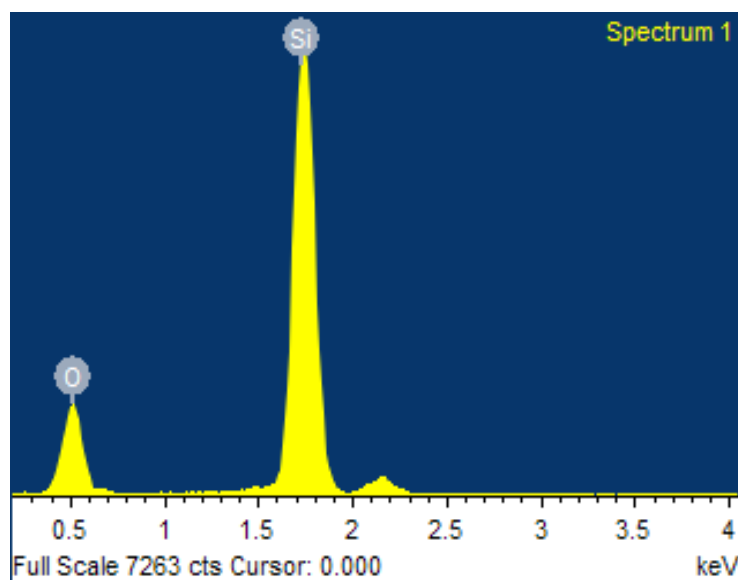


Figura 8.3. Espectro de Espectroscopía Dispersiva de energía del óxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ).

#### VIII.1.4 Espectroscopía IR del $\text{SiO}_2$

Para poder interpretar un espectro de infrarrojo del  $\text{SiO}_2$  (Figura 8.4) es necesario contar con una base de datos, donde relacionen determinados tipos de enlaces entre elementos y sus movimientos, con la longitud de onda a la cual se lleva a cabo la absorción de la radiación infrarroja. Para esto, se utilizaron los datos reportados por distintos autores acerca de los picos absorción del óxido de silicio.

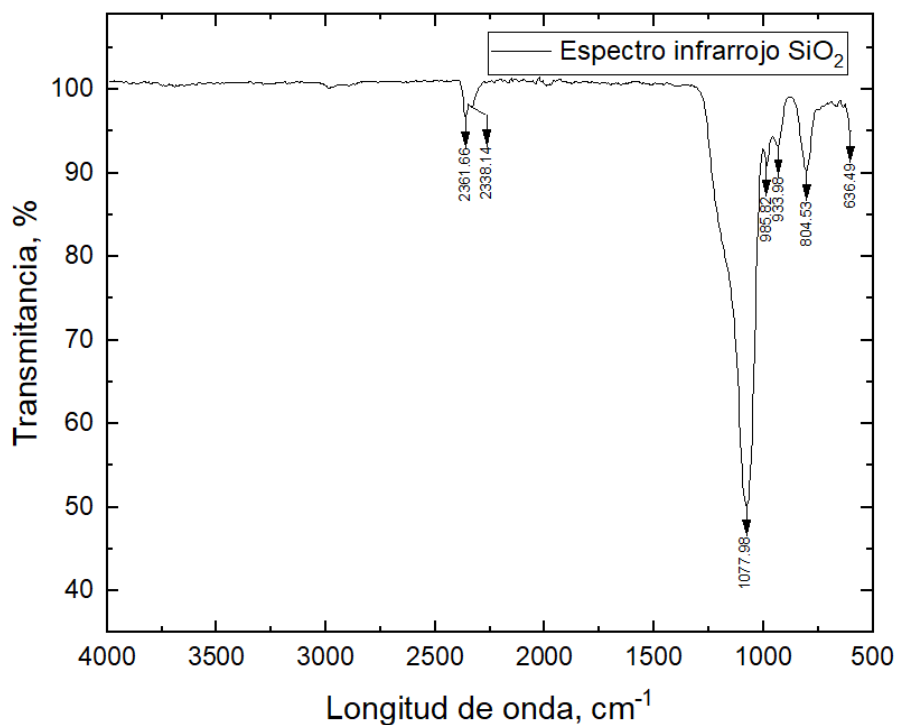


Figura 8.4. Espectro Infrarrojo del SiO<sub>2</sub>.

Para los dobles picos obtenidos a 2361.66 y 2338.14 cm<sup>-1</sup> existen tres posibles explicaciones, la primera es la presencia de H<sub>2</sub>O en la muestra, sin embargo, la presencia de dobles picos y no un pico único a esa longitud de onda (Pershina *et al.*, 2015) descarta esta posibilidad, la segunda es la presencia de enlaces Si-C (Hamelmann *et al.*, 2005), esta opción es descartada dado que en el EDS no se aprecia la presencia de carbono elemental en el SiO<sub>2</sub> sintetizado, finalmente el comportamiento de dobles picos que se obtuvieron se asemeja a lo reportado por (Baruch *et al.*, 2015; McIntosh *et al.*, 2017; Esler *et al.*, 2000; Ulagappan *et al.*, 2000), donde se aprecian dobles picos en 2276-2350 cm<sup>-1</sup> correspondientes a la presencia de CO<sub>2</sub> atmosférico. Para el pico ubicado a 1077.98 cm<sup>-1</sup> se han reportado dos posibles enlaces y distintos movimientos. La primera opción comprende Si-O *Stretching* a la longitud 1100-1175 cm<sup>-1</sup> (Hanna, 1965; Šimon & McMahon, 1953; Saksena, 1940; Lippincott *et al.*, 1958) y la segunda a Si-O-Si *Rocking, Stretching y Antisymmetric Stretching* a una longitud de 1040-1260 cm<sup>-1</sup>. Para los picos ubicados en 985.82 y 933.98 cm<sup>-1</sup> se ha reportado Si-OH *Stretching* a una longitud de 940 (Hamelmann *et al.*, 2005). Para el pico a 804.53 cm<sup>-1</sup> se ha reportado Si *Stretching* a una longitud de 792-809 cm<sup>-1</sup> (Hanna, 1965; Saksena, 1940; Lippincott *et al.*, 1958) y Si-O *Bending* a 800-805 (Hamelmann *et al.*, 2005), en la Tabla 8.1 se hace una comparativa de los resultados obtenidos de FTIR del SiO<sub>2</sub> con distintas fuentes consultadas.

Se han reportado picos a 430-470 (Hanna, 1965; Lippincott *et al.*, 1958) y 452-478 (Perschina *et al.*, 2015) correspondientes a Si-O-Si *Bending* y Si-O *Rocking* respectivamente, esto representaría la presencia de una red cristalina del óxido de silicio, sin embargo, mediante DRX se demostró que el material sintetizado es un sólido amorfo, por lo que, aunque el equipo de medición fuese capaz de realizar mediciones a tales longitudes de onda, no se apreciaría respuesta alguna.

Tabla 8.1. Resultados obtenidos de FTIR del SiO<sub>2</sub> y su comparación con distintas fuentes consultadas.

Enlace y movimiento	Longitud obtenida, cm <sup>-1</sup>	Longitud reportada, cm <sup>-1</sup>	Fuente
H <sub>2</sub> O <i>Stretching single peak</i>		2368, 2364, 2336, 2304, 2320, 2420	Perschina <i>et al.</i> , 2015
Si-C <i>Triple bond Stretching single peak</i>	2361.66, 2338.14	2350-2390	Hamelmann <i>et al.</i> , 2005
CO <sub>2</sub> <i>Double peak</i>		2350, 2276, 2346, 2280, 2310, 2306, 2290	Baruch <i>et al.</i> , 2015; McIntosh <i>et al.</i> , 2017; Esler <i>et al.</i> , 2000; Ulagappan <i>et al.</i> , 2000
Si-O <i>Stretching</i>	1077.98	1126, 1100, 1111, 1108, 1175, 1109	Hanna, 1965; Šimon & McMahon, 1953; Saksena, 1940; Lippincott <i>et al.</i> , 1958
Si-O-Si <i>Rocking, Stretching y Antisymmetric Stretching</i>		1040, 1030, 1037, 1064, 1100, 1125, 1104, 1260, 1116, 1070, 1080	Perschina <i>et al.</i> , 2015; Hamelmann <i>et al.</i> , 2005
Si-OH <i>Stretching</i>	985.82, 933.98	940	Hamelmann <i>et al.</i> , 2005
Si <i>Stretching</i>	804.53	809, 805, 792	Hanna, 1965; Saksena, 1940; Lippincott <i>et al.</i> , 1958
Si-O <i>Bending</i>		805, 800	Hamelmann <i>et al.</i> , 2005

#### VIII.1.5 Cuantificación de la enzima inmovilizada en el SiO<sub>2</sub>



Figura 8.5. Inmovilización de CPO en SiO<sub>2</sub> mediante adsorción. A) Proceso de adsorción y B) Enzima inmovilizada.

Los resultados obtenidos de los dos ensayos de inmovilización (Figura 8.5) realizados se resumen en la Tabla 8.2, donde se logró inmovilizar el 55.68% de la CPO añadida, lo que equivale a 7.69 μmol de

enzima inmovilizada por mol de soporte, o 128.05 nmol de enzima por gramo de soporte, la cantidad de enzima inmovilizada se encuentra dentro de valores obtenidos en ensayos de inmovilización por adsorción reportados (Terrés *et al.*, 2008; Aburto *et al.*, 2005; Juárez-Moreno *et al.*, 2015; Montiel *et al.*, 2007).

Tabla 8.2. Resultados de ensayos 1 y 2 de inmovilización de CPO en SiO<sub>2</sub> por adsorción

	Ensayo 1	Ensayo 2
Moles de CPO añadida	2.3x10 <sup>-8</sup>	2.3x10 <sup>-8</sup>
Moles de CPO lavada	1.005x10 <sup>-8</sup>	1.034x10 <sup>-8</sup>
Moles de CPO inmovilizada	1.295x10 <sup>-8</sup>	1.266x10 <sup>-8</sup>
% de CPO inmovilizada	56.31%	55.04%
μmol de CPO mol <sup>-1</sup> <sub>soporte</sub>	7.78	7.61
nmol de CPO g <sup>-1</sup> <sub>soporte</sub>	129.50	126.60

## VIII.2 Actividad del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> y degradación de CIP y LEVO en soluciones modelo

### VIII.2.1 Curvas de calibración del CIP y LEVO

Se inició con una curva de calibración del Levofloxacino en un equipo UV-Vis. Esto se hizo mediante concentraciones de 10, 15, 20, 25, 30 y 35 mg/L de levofloxacino en buffer fosfatos pH 3 a una concentración de 60 mM, se midió en un espectrofotómetro UV-Vis y se obtuvo una ecuación de la recta con cruce en el origen “y = 0.0919X” la cual tiene una correlación de pearson de 0.9987, lo cual nos indica una buena relación lineal entre los datos experimentales y la recta obtenida. Dado que los valores de fluoroquinolonas en aguas naturales, residuales y tratadas se encuentran en centenas de ng/L (Wang *et al.*, 2010; Peng *et al.*, 2008; Peng *et al.*, 2009; Peng *et al.*, 2011; Valcárcel *et al.*, 2011; Cabeza *et al.*, 2012), se procedió a realizar las curvas de calibración en un equipo con la capacidad de detectar concentraciones más pequeñas, un espectrofotómetro de fluorescencia, el cual permite detectar concentraciones de 0.33 μg/mL que resultan ser 30 veces más bajas al valor de 10 μg/mL en UV-Vis. Esto debido a que se requiere detectar cambios de concentraciones más pequeñas con el fin de recrear las condiciones bajo las que se encuentran los antibióticos en el ambiente. En la Figura 8.6 se muestran las curvas de calibración obtenidas, en ellas se trabajó con las disoluciones patrón a una dilución 1:100 para minimizar los errores de medición de volúmenes pequeños, todas las concentraciones se realizaron por triplicado. En ambos casos se realizó un ajuste con cruce en el origen, lo que da para CIP una ecuación **Intensidad [a.u.] = 156.84569 ± 2 · Concentración CIP [μg/mL]** y para LEVO **Intensidad [a.u.] = 163.52671 ± 1 · Concentración LEVO [μg/mL]**, en ambos casos se obtuvo una correlación de 0.99, lo que indica que ambas ecuaciones

pueden usarse para calcular concentraciones desconocidas a partir de un valor de Intensidad medido en el espectrofotómetro de fluorescencia.

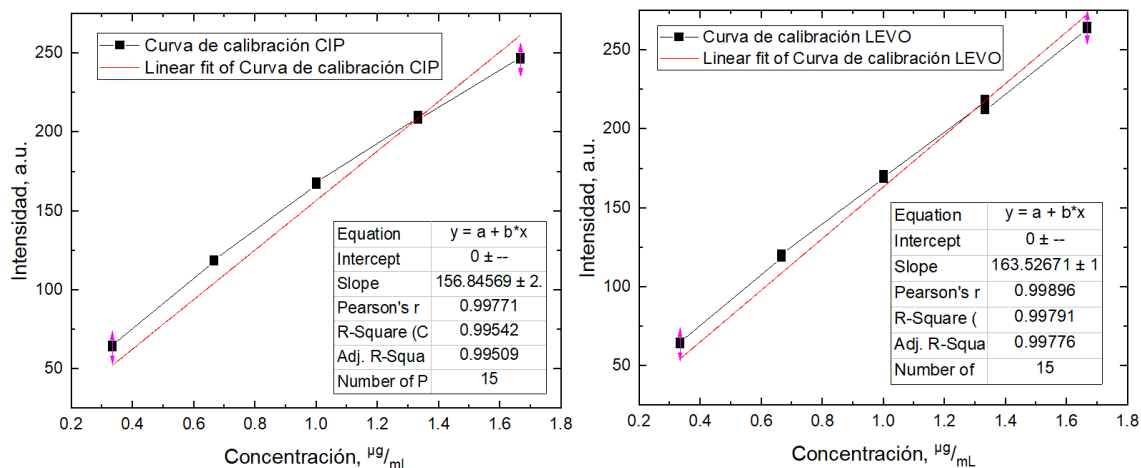


Figura 8.6. Curvas de calibración de Ciprofloxacino y Levofloxacino en espectrofotómetro de fluorescencia en buffer fosfatos pH 3 60 mM. Ambas rectas con intersección en el origen y con tres ensayos por cada concentración.

### VIII.2.2 Actividad de la enzima en la oxidación de CIP y LEVO

En el espectro UV-Vis se logró obtener disminución de las concentraciones de los antibióticos, adicionalmente se obtuvieron puntos isobésticos, lo cual es resultado de la presencia de más de una especie en el medio, esto nos mostró que la enzima logró reducir la concentración de los antibióticos y a su vez, los transformó en otros compuestos pendientes por identificar. En la Tabla 8.3 se puede ver que la enzima CPO logró degradar CIP, con una reducción de hasta el 98%, sin embargo, esa reducción se logró colocando en exceso la enzima, por lo que resultó necesario realizar un análisis posterior para determinar las condiciones óptimas de reacción de la enzima. Con estas condiciones óptimas de reacción se logró minimizar la enzima utilizada y maximizar la degradación de los antibióticos.

Adicionalmente se realizaron ensayos donde se colocó en un volumen final de 3 mL: 3  $\mu$ M de antibiótico con 0.375 mM de  $H_2O_2$ , esto debido a que al ser el peróxido de hidrógeno un reactivo altamente oxidante, podría ser gracias a él que se esté llevando a cabo la degradación de los antibióticos. Después de 30 minutos de espera no se apreció disminución alguna en la concentración de los antibióticos. Finalmente, en lo que respecta a la estabilidad de los antibióticos respecto al tiempo, las soluciones patrón elaboradas al inicio de la fase experimental no presentaron degradación apreciable a lo largo de los seis meses que permanecieron almacenadas. Con esto se concluye que la degradación observada de los antibióticos no se debió al peróxido de hidrógeno ni a la degradación natural de los antibióticos, atribuyendo esta propiedad a la enzima.



Tabla 8.3. Resultados de la degradación de CIP con distintas concentraciones de la enzima cloroperoxidasa (CPO) libre con una concentración de 1.667 mg/L de antibiótico. Reacciones en buffer fosfatos 60 mM pH 3, 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en espectrofotómetro de fluorescencia.

Cantidad de enzima libre, moles	Velocidad (Intensidad/s)	% Degradación
$1.15 \times 10^{-11}$	$198.40 \pm 5.46$	$46.35 \pm 4.04\%$
$2.3 \times 10^{-11}$	$311.36 \pm 28.45$	$57.32 \pm 5.64\%$
$1.15 \times 10^{-10}$	$882.67 \pm 28.18$	$98.32 \pm 0.42\%$

### VIII.2.3 Optimización de las condiciones de reacción de la enzima CPO

Con ayuda del *software minitab* se llevó a cabo un DCC factorial de dos niveles con tres factores o variables, tres réplicas de cada ensayo, cinco puntos centrales y un alfa de 1.5 para los puntos axiales, dando como resultado un total de 35 reacciones más un blanco, las cuales se realizaron de manera aleatoria conforme lo indica el software, al final de los experimentos, los cuales se realizaron para cada antibiótico, mediante el *Software Desing Expert Version 13* se obtuvo un modelo para cada antibiótico donde puede observarse la relevancia de cada factor en el porcentaje de degradación. Adicionalmente, con el modelo es posible realizar predicciones y obtener una gráfica 3D de cada antibiótico (Figura 8.7).

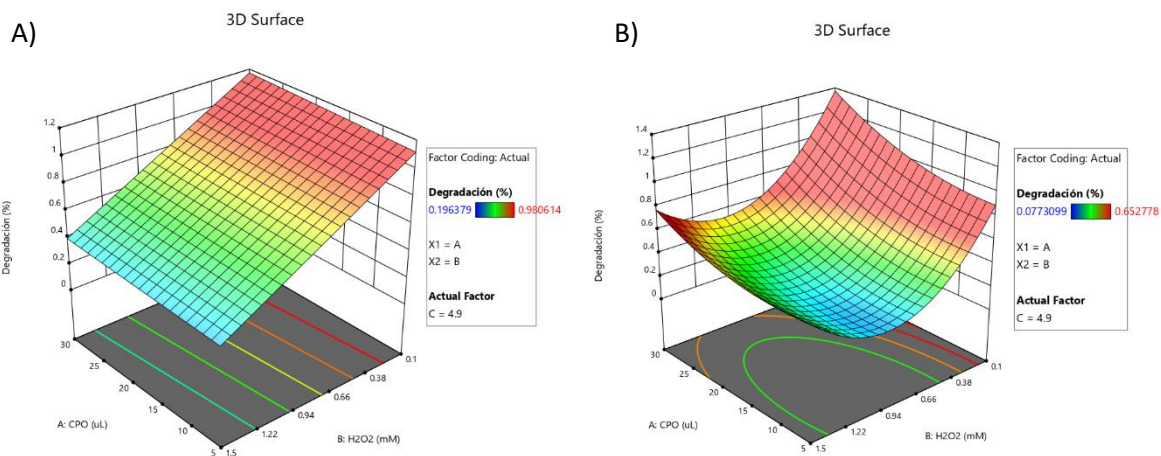


Figura 8.7. Gráfica de superficie de los modelos de degradación de A) Ciprofloxacino y B) Levofloxacino con catalizador CPO/SiO<sub>2</sub>.

#### Modelo de degradación de CIP con CPO libre

Los resultados del DCC para CIP mostraron una correlación de 0.3516 para un modelo lineal, 0.3227 para un modelo cuadrático y 0.2042 para un modelo cúbico, es por esto por lo que se seleccionó el modelo lineal para modelar los datos obtenidos, el resultado son dos ecuaciones: Ecuación en términos de las variables actuales: **Degradación = 1.15766 + 0.0021714·CPO – 0.553056· + 0.000748·Tiempo**, esta ecuación puede ser usada para realizar predicciones de la degradación para

determinados valores de las variables. Aquí las variables deben colocarse en sus respectivas unidades (CPO en  $\mu\text{L}$  a una concentración de  $2.3 \mu\text{M}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{mM}$  y Tiempo en minutos). Esta ecuación no puede usarse para determinar el impacto relativo de cada variable en la degradación dado que cada variable está escalada para ajustar las unidades en las que se realizó el ensayo y el intercepto no es el centro del diseño. Ecuación en término de variables codificadas: **Degradación =  $0.7829 + 0.0163 \cdot \text{CPO} - 0.2074 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 + 0.0056 \cdot \text{Tiempo}$** , de igual manera esta ecuación puede usarse para realizar predicciones de la degradación para determinados valores de las variables. Esta ecuación resulta importante porque permite identificar el impacto relativo de cada factor (variable codificada) mediante la comparación de su valor en la ecuación.

El valor *F-value* del modelo resultó ser de 6.96, esto implica que el modelo es significativo y existe una probabilidad de 0.11% de que la significancia sea por aleatoriedad. Adicionalmente se obtuvieron los valores *p-value* del modelo y de cada variable, en este aspecto es importante resaltar que el valor 0.0011 para el modelo indica que éste es significativo y en el caso de  $<0.0001$  para  $\text{H}_2\text{O}_2$  indica que es una variable significativa para el modelo, los valores de 0.7231 para CPO y 0.9027 para Tiempo indican que ambas variables no son significativas y que podrían ser eliminadas del modelo para aumentar su ajuste, sin embargo al momento de realizar esta acción los resultados del modelo obtenido son similares al modelo ya presente, por lo que ambas variables se conservan.

#### *Modelo de degradación de LEVO con CPO libre*

Los resultados del DCC para LEVO mostraron una correlación de 0.6800 para un modelo lineal, 0.7122 para un modelo cuadrático, el modelo cúbico no se consideró ya que el programa indica que se encuentra *Aliased*, es por esto por lo que se selecciona el modelo cuadrático para modelar los datos obtenidos, el resultado son dos ecuaciones al igual que en el modelo lineal: Ecuación en términos de las variables actuales: **Degradación =  $1.06290 - 0.005969 \cdot \text{CPO} - 1.85199 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 + 0.004995 \cdot \text{TIEMPO} - 0.006099 \cdot \text{CPO} \cdot \text{H}_2\text{O}_2 - 0.000121 \cdot \text{CPO} \cdot \text{TIEMPO} - 0.002639 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{TIEMPO} + 0.000752 \cdot \text{CPO}^2 + 1.01269 \cdot \text{H}_2\text{O}_2^2$** , al igual que en la ecuación de variables actuales del modelo lineal de CIP, esta ecuación puede ser usada para realizar predicciones de la degradación para determinados valores de las variables. Aquí las variables deben colocarse en sus respectivas unidades (CPO en  $\mu\text{L}$  a una concentración de  $2.3 \mu\text{M}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{mM}$  y Tiempo en minutos). Esta ecuación no puede usarse para determinar el impacto relativo de cada variable en la degradación dado que cada variable está escalada para ajustar las unidades en las que se realizó el ensayo y el intercepto no es el centro del diseño. Ecuación en término de variables codificadas: **Degradación =  $0.2668 + 0.0812 \cdot \text{CPO} - 1.1691 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 + 0.0091 \cdot \text{TIEMPO} - 0.0172 \cdot \text{CPO} \cdot \text{H}_2\text{O}_2 - 0.0068 \cdot \text{CPO} \cdot \text{TIEMPO} -$**

$0.0074 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{TIEMPO} + 0.0423 \cdot \text{CPO}^2 + 0.1424 \cdot \text{H}_2\text{O}_2^2$ , de igual manera esta ecuación puede usarse para realizar predicciones de la degradación para determinados valores de las variables. Esta ecuación resulta importante porque permite identificar el impacto relativo de cada factor (variable codificada) mediante la comparación de su valor en la ecuación.

El valor *F-value* del modelo resultó ser de 11.78, esto implica que el modelo es significativo y existe una probabilidad de 0.01% de que la significancia sea por aleatoriedad. Adicionalmente se obtuvieron los valores *p-value* del modelo y de cada variable, en este aspecto es importante resaltar que el valor <0.0001 para el modelo indica que éste es significativo, en el caso de <0.0001 para  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 0.0005 para CPO y 0.0083 para  $\text{H}_2\text{O}_2^2$ , indica que es estas variables son significantes para el modelo, el resto de *p-value* resultan ser >0.0500 y esto nos indica que las variables no son significantes y que podrían ser eliminadas del modelo para aumentar su ajuste, sin embargo, al igual que en el modelo lineal, al momento de realizar esta acción los resultados del modelo obtenido son similares al modelo ya presente, por lo que ambas variables se conservan.

Dado que los valores de degradación más altos se obtuvieron para CIP, es bajo este modelo que se obtuvieron distintos puntos teóricos de degradación de CIP con CPO libre (ver Tabla 8.4). Con la similitud de degradación teórica del modelo y la degradación promedio de los ensayos realizados en laboratorio se corrobora que, aunque la correlación teórica del modelo era baja (0.3516) se logró una aceptable correlación del modelo y los resultados experimentales.

Tabla 8.4. Puntos óptimos de degradación obtenidos mediante un DCC realizado en *Mintiab* y analizado en *Desing Expert Version 13*.

Puntos óptimos conforme al modelo obtenido en Desing Expert							Ensayo por triplicado
Ensayo	CPO moles	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> mM	TIEMPO min	KCL mM	Antibiótico μM	% Degradación Modelo	% Degradación Promedio
1	1.725x10 <sup>-11</sup>	0.375	2.5	20	3	96.84%	93.25 ± 0.42%
2	1.725x10 <sup>-11</sup>	0.375	17.5	20	3	98.00%	95.60 ± 1.18%
3	2.7485x10 <sup>-11</sup>	0.375	10.14	20	3	98.32%	97.97 ± 0.51%
4	4.7495x10 <sup>-11</sup>	0.383	12.34	20	3	100.00%	99.43 ± 0.04%
5	2.3x10 <sup>-11</sup>	0.375	2.5	20	3	98.90%	93.70 ± 0.47%
6	2.3x10 <sup>-11</sup>	0.375	4.99	20	3	98.50%	95.85 ± 1.69%

De los puntos óptimos de la Tabla 8.4 se eligieron las condiciones del ensayo 6 ya que se consigue lo buscado, una degradación alta (95.85 %) minimizando el tiempo de reacción (5 minutos) y la enzima (2.3x10<sup>-11</sup> moles). Estas condiciones óptimas de reacción fueron utilizadas en ensayos posteriores con la enzima inmovilizada, esto permitió determinar la actividad conservada de la enzima una vez inmovilizada.

#### VIII.2.4 Degradación de CIP y LEVO con el catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> en soluciones modelo

Una vez la CPO se inmovilizó y se comprobó que un promedio de 55.675% de la CPO usada se logró inmovilizar, resulta pertinente realizar ensayos de degradación de CIP y LEVO con CPO libre y catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> para poder observar qué cambios de actividad surgieron, estas reacciones se realizaron bajo las condiciones de reacción del sexto ensayo de la Tabla 8.5 (2.3x10<sup>-11</sup> moles de CPO inmovilizada, 0.375 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 20 mM de KCl, 3 μM de CIP en buffer fosfato 60 mM pH 3 en reacciones de cinco minutos).

Tabla 8.5. Comparativa de porcentaje de degradación y velocidad, así como actividad conservada de la CPO libre e inmovilizada, ensayos realizados con 2.3x10<sup>-11</sup> moles de CPO inmovilizada, 0.375 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 20 mM de KCl, 3 μM de CIP en buffer fosfato 60 mM pH 3 en reacciones de cinco minutos.

	CIP	LEVO
Degradación promedio ensayo CPO libre	95.85 ± 1.69%	54.83 ± 0.93%
Degradación promedio ensayo CPO inmovilizada	66.58 ± 0.87%	24.17 ± 0.36%
% actividad conservada	69.47%	44.08%
Velocidad promedio ensayo CPO libre (AU/min)	182.75 ± 5.36	55.67 ± 4.86
Velocidad promedio ensayo CPO inmovilizada (AU/min)	60.54 ± 1.56	18.91 ± 1.47

En la Tabla 8.5 se puede observar una disminución en el porcentaje de degradación en ambos antibióticos, lo que se puede expresar como actividad conservada de la CPO inmovilizada respecto a la CPO libre, en el caso de CIP esta actividad conservada resulta ser del 69.47% y para LEVO de 44.08%, así mismo se observa una notable reducción de la velocidad. Esta pérdida en la capacidad de degradación y en la velocidad en la que se lleva a cabo esta transformación de los antibióticos puede justificarse si la CPO inmovilizada resulta ser estable a pH diferentes que la CPO libre y además si la CPO inmovilizada resulta ser recuperable y por ende utilizarse más de una vez, caso contrario a la CPO libre donde una vez adicionada al medio, ésta se pierde con los productos de la reacción.

Las velocidades de reacción se obtienen mediante la disminución de la emisión del CIP vs tiempo en un espectro de fluorescencia, con 277 cm<sup>-1</sup> de excitación y 450 cm<sup>-1</sup> de emisión. Los valores de las constantes cinéticas se obtienen mediante un ajuste de los datos con el modelo de *Michaelis Menten* con el algoritmo de iteración *Lavenberg Marquardt* en el software *Origin Pro-2021*. En la Figura 8.8 se aprecia que la CPO libre obtuvo una V<sub>max</sub> de 411.58 mol CIP/mol CPO · min y una km de 0.037 mM, mientras que el catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> obtuvo una V<sub>max</sub> de 145.02 mol CIP/mol CPO · min y una km de 0.013 mM, lo que indica una clara reducción de la capacidad de degradación de la enzima (ya que ambos ensayos se realizaron con los mismos moles de CPO), este resultado era de esperarse, sin

embargo fue necesario realizar ensayos extra para corroborar que aparte de perder capacidad de degradación poder determinar otros efectos de la inmovilización en el desempeño de la enzima.

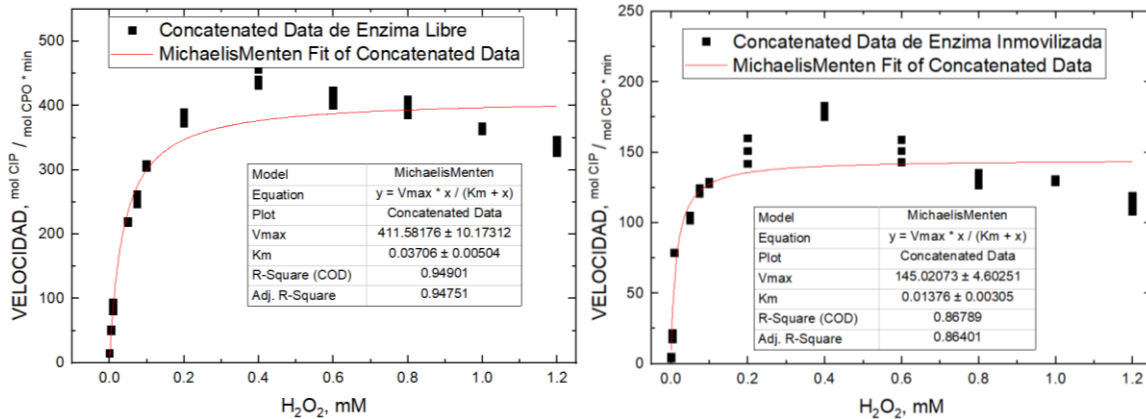


Figura 8.8. Ajuste de Michaelis-Menten de velocidad enzimática vs distintas concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para CPO libre e inmovilizada.

En lo que respecta al ensayo de ciclos de reacción, es importante señalar que se logró  $93.19 \pm 1.42$  % de degradación en el primer ciclo,  $51.52 \pm 2.06$  % en el segundo ciclo,  $23.56 \pm 1.45$  % en el tercer ciclo,  $18.22 \pm 1.84$  % en el cuarto ciclo,  $16.41 \pm 0.38$  % en el quinto ciclo,  $11.62 \pm 1.47$  % en el sexto ciclo y finalmente  $6.93 \pm 3.03$  % en el séptimo ciclo (Figura 8.9). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

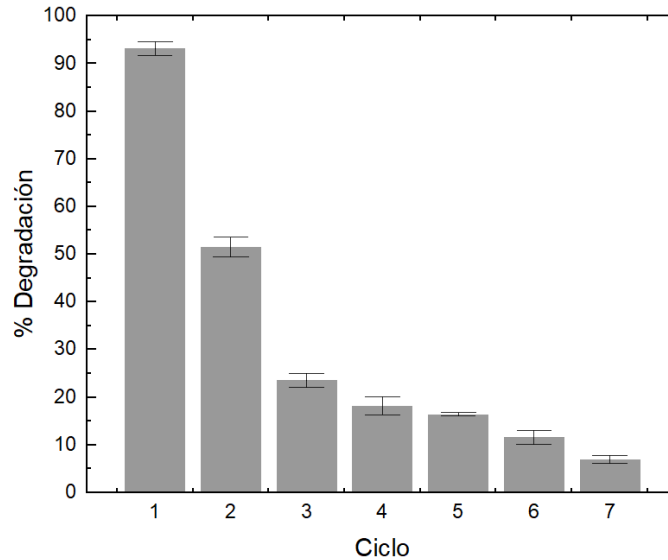


Figura 8.9. Porcentaje de degradación de CIP reutilizando el catalizador CPO/SiO<sub>2</sub>.

### VIII.3 Degradación de los antibióticos en el agua del lago de CU

#### VIII.3.1 Características fisicoquímicas del agua

##### *Dureza total (NMX-AA-072-SCFI-2001)*

El ensayo se realizó por duplicado, obtenido 12.5 y 12.9 mL de EDTA 0.01 M en ambos casos.

Siguiendo la Eq. 7.1 se hizo el cálculo de dureza correspondiente. Se obtuvo un valor **dureza total de  $22.6016 \pm 0.57$  mg/L  $\text{CaCO}_3$**

##### *Alcalinidad (NMX-AA-036-SCFI-2001)*

El ensayo se realizó por duplicado, obteniendo 6.0 y 5.6 mL en ambos casos, dando como resultado la alcalinidad total. Usando la Eq. 7.2 se calculó una **alcalinidad total de  $72.5 \pm 3.53$  mg/L  $\text{CaCO}_3$**

##### *Demanda química de oxígeno (DQO)*

Se obtuvo una **DQO promedio de  $289.968$  mg/L**

##### *Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>) (NMX-AA-028-SCFI-2001)*

El ensayo se realizó por duplicado con una disolución de 50%, teniendo como oxígeno inicial 4.6 y 4.7 mg/L y oxígeno final al quinto día de 2.6 y 2.9 mg/L. Usando la Eq. 7.3, se calculó la DBO<sub>5</sub> dando como resultado  **$3.8 \pm 0.28$  mg/L**

##### *Fosfatos*

Se obtuvo un valor de  **$0.355 \pm 0.11$  mg/L Fosfato RB ( $\text{PO}_4^{3-}$ )** o lo que es equivalente a  **$0.115 \pm 0.03$  mg/L Fosfato RB (P)** o  **$0.265 \pm 0.08$  mg/L Fosfato RB ( $\text{P}_2\text{O}_5$ )**

##### *Nitratos*

Se obtuvo un valor de  **$3.5 \pm 0.08$  mg/L Nitrato  $\text{NO}_3^-$ -N** o lo que es equivalente a  **$15.5 \pm 1.06$  mg/L Nitrato  $\text{NO}_3^-$**

##### *Cloro libre*

Se obtuvo un valor de  **$0.12 \pm 0.01$  mg/L**.

##### *Cloruros (NMX-AA-073-SCFI-2001)*

El valor en ambos casos del duplicado fue de 3.1 y 2.9 mL, adicionalmente se tituló un blanco con las muestras obteniendo 0.7 mL. Usando la Eq. 7.4 se calculó la concentración de iones Cloruro en la muestra, dando como resultado  **$0.022 \pm 0.001$  mg/L**

##### *Sólidos suspendidos y totales (NMX-AA-034-SCFI-2015)*

Usando la Eq. 7.5 se obtuvieron  **$350 \pm 49.50$  mg/L de sólidos totales**.

Usando la Eq. 7.6 se obtuvieron  **$107.5 \pm 24.75$  mg/L de sólidos suspendidos totales**.

Los sólidos disueltos totales se obtuvieron por diferencia, restando los 107.5 mg/L de sólidos suspendidos totales a los 350 mg/L de sólidos totales, obteniendo  **$242.5 \pm 24.75$  mg/L de sólidos disueltos totales**.

*pH (NMX-AA-008-SCFI-2016).*

Se obtuvo para el punto 1: 9.52, para el punto 2: 9.19, para el punto 3: 9.34 y para el punto 4: 9.67, dando como resultado un **pH promedio de 9.43 ± 0.21**.

*Temperatura (NMX-AA-007-SCFI-2013).*

Se obtuvo para el punto 1: 16.2 °C, para el punto 2: 16.4 °C, para el punto 3: 16.9 °C y para el punto 4: 16.3 °C, dando como resultado una **temperatura promedio de 16.45 ± 0.75 °C**.

*Conductividad eléctrica (NMX-AA-093-SCFI-2018)*

Se obtuvo para el punto 1: 451 µS, para el punto 2: 456 µS, para el punto 3: 533 µS y para el punto 4: 498 µS, dando como resultado una **conductividad eléctrica promedio de 484.50 ± 38.60 µS**.

*Oxígeno disuelto (NMX-AA-012-SCFI-2001)*

Se obtuvo para el punto 1: 5 mg/L, para el punto 2: 3.9 mg/L, para el punto 3: 3.1 mg/L y para el punto 4: 5.8 mg/L, dando como resultado un **oxígeno disuelto promedio de 4.45 ± 1.19 mg/L**.

Todos los resultados obtenidos del análisis de la muestra compuesta se resumen en la Tabla 8.6, donde se realiza una comparación de los valores obtenidos con los valores límites que marca la norma NOM-003-ECOL-1997 y la clasificación de calidad del agua superficial de la CONAGUA, norma correspondiente para los límites máximos permisibles de aguas residuales tratadas que tendrán uso recreativo y tendrán contacto con las personas.

Tabla 8.6. Resultados de análisis de muestra compuesta de la Laguna de oxidación de CU, BUAP. Valores obtenidos y el método realizado, así como valores límite de referencia de la NOM-003-ECOL-1997 y de la clasificación de calidad del agua superficial de la CONAGUA.

Indicador	Valor obtenido en mediciones	Valores límites norma	Clasificación de calidad del agua superficial	Método
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO <sub>5</sub> )	3.8 ± 0.28 mg/L	30	Buena calidad 3 < DBO <sub>5</sub> ≤ 6	NMX-AA-028-SCFI-2001
Demanda química de oxígeno (DQO)	289.968 mg/L	N/A	Fuertemente contaminada DQO ≥ 200	Kit HI 93754C-25 HR, HANNA instruments
Temperatura	16.45 ± 0.75 °C	N/A	N/A	NMX-AA-007-SCFI-2013
Oxígeno disuelto	4.45 ± 1.19 mg/L	N/A	N/A	NMX-AA-012-SCFI-2001
Conductividad eléctrica	484.50 ± 38.60 µS	N/A	N/A	NMX-AA-093-SCFI-2018
Fosfatos totales (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	0.355 ± 0.11 mg/L (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	N/A	N/A	Kit HI 93713-01, HANNA instruments
	0.115 ± 0.03 mg/L (P)			
	0.265 ± 0.08 mg/L (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )			

Continuación Tabla 8.6.

Indicador	Valor obtenido en mediciones	Valores límites norma	Clasificación de calidad del agua superficial	Método
Nitrógeno en nitratos (NO <sub>3</sub> <sup>-1</sup> )	3.5 ± 0.08 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N 15.5 ± 1.06 mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N/A	N/A	Kit HI 93728-01, HANNA instruments
Alcalinidad	72.5 ± 3.53 mg/L CaCO <sub>3</sub>	N/A	N/A	NMX-AA-036-SCFI-2001
Dureza total	22.6016 ± 0.57 mg/L CaCO <sub>3</sub>	N/A	N/A	NMX-AA-072-SCFI-2001
Potencial de Hidrógeno (pH)	9.43 ± 0.21	N/A	N/A	NMX-AA-008-SCFI-2016
Sólidos totales	350 ± 49.49 mg/L	N/A	N/A	
Sólidos suspendidos totales	107.5 ± 24.75 mg/L	30	Buena calidad 25 < SST ≤ 75	NMX-AA-034-SCFI-2015
Sólidos disueltos totales	242.5 ± 24.75 mg/L	N/A	N/A	
Cloruros (Cl <sup>-1</sup> )	0.022 ± 0.001 mg/L	N/A	N/A	NMX-AA-073-SCFI-2001
Cloro libre	0.12 ± 0.01 mg/L	N/A	N/A	kit HI 93701-01, HANNA instruments

### VIII.3.2 Actividad del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> en la oxidación de CIP y LEVO en el agua de la laguna de CU

En primera instancia se tiene la Velocidad (mol CIP · mol CPO<sup>-1</sup> · min<sup>-1</sup>) de degradación de CIP usando catalizador CPO/SiO<sub>2</sub>, tanto en soluciones buffer como en agua de la laguna a distintos pH (Figura 8.10). Se puede apreciar que en ambos casos la velocidad enzimática máxima obtenida se encuentra en un pH de 4, lo que es una ventaja que ofrece la inmovilización respecto a la enzima libre cuya velocidad máxima se obtiene a un pH de 3 (referencias de actividad de CPO), por lo que se obtuvo una mayor estabilidad a distintos pH, esto resulta ser conveniente dado que para la aplicación de este proceso de degradación es necesario reducir el pH del efluente a tratar, pero la CPO inmovilizada al trabajar a un pH más elevado que su homóloga libre, será menor la cantidad de insumos requeridos para este ajuste de pH y que el valor final a la descarga sea de 6-9 conforme a la NOM-001-SEMARNAT-2021.

Adicionalmente para el CIP se tiene la degradación máxima alcanzada tanto en soluciones *buffer* como en agua de la laguna a distintos pH (Figura 8.10), se puede apreciar que a diferencia de la velocidad donde el valor máximo fue a pH 4, en este caso a pH 3 se obtuvo la mayor degradación posible, sin embargo, los valores de degradación alcanzados a pH 4 no están lejos de los máximos posibles. Esto resulta ser una triple ventaja de la CPO inmovilizada sobre la CPO libre, primero se requiere un pH más cercano al valor de 6-9 de la NOM-001-SEMARNAT-2021, lo que reduce los



esfuerzos necesarios para ajustar el pH, segundo se tiene una mayor velocidad de reacción a ese valor de pH, y tercero, a pesar de que la máxima degradación fue a pH 3, se requirió de 5 minutos de reacción para alcanzar ese valor, a pH 4 al tener mayores velocidades el valor máximo de degradación se alcanzó en 1.5 minutos. En resumen, se requiere un pH más cercano al valor de la norma y se tiene una alta velocidad de reacción que permite que en 1.5 minutos se degrade más del 90% del CIP presente.

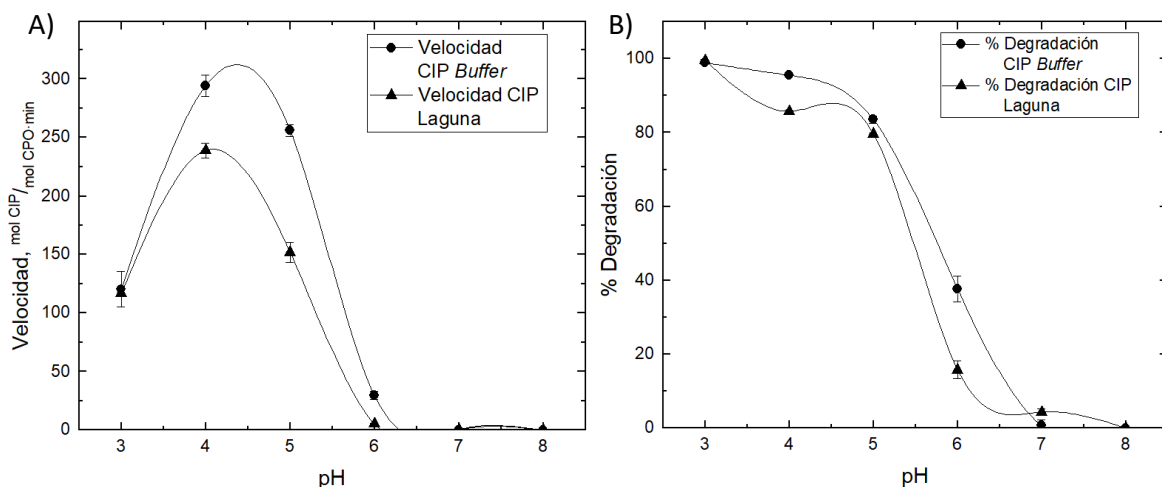


Figura 8.10. A) Velocidad de degradación de CIP ( $\text{mol CIP} \cdot \text{mol CPO}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) y B) porcentaje de degradación de CIP. Ambos usando catalizador  $\text{CPO/SiO}_2$  a distintos pH en soluciones buffer preparadas y agua de laguna con pH ajustado.

Ahora se tiene la Velocidad ( $\text{mol LEVO} \cdot \text{mol CPO}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) de degradación de LEVO usando catalizador  $\text{CPO/SiO}_2$ , tanto en soluciones *buffer* como en agua de la laguna a distintos pH (Figura 8.11). Se puede apreciar que en soluciones *buffer* la velocidad enzimática máxima obtenida se encuentra en un pH de 4, lo que es una ventaja que ofrece la inmovilización respecto a la enzima libre cuya velocidad máxima se obtiene a un pH de 3 (referencias de actividad de CPO), por lo que se estaría hablando de una mayor estabilidad a distintos pH, esto resulta ser conveniente dado que para la aplicación de este proceso de degradación es necesario reducir el pH del efluente a tratar, pero la CPO inmovilizada al trabajar a un pH más elevado que su homóloga libre, será menor la cantidad de insumos requeridos para este ajuste de pH y que el valor final a la descarga sea de 6-9 conforme a la NOM-001-SEMARNAT-2021. Sin embargo, en el caso del agua de la laguna se aprecia que la velocidad disminuye conforme aumenta el pH, caso contrario a lo obtenido con CIP. Esto puede ser debido a posibles interferencias medibles en el espectrofotómetro de fluorescencia, para confirmar o negar esta situación será necesario utilizar HPLC acoplado a UV-Vis.

Adicionalmente para el LEVO se tiene la degradación máxima alcanzada en donde nuevamente el punto máximo se obtiene a un pH de 4, esto en soluciones buffer, en el caso del agua de la laguna

la degradación disminuye al igual que la velocidad, al aumentar el pH de la reacción. En el caso de pH 4 con solución *buffer* se tiene tanto la máxima velocidad enzimática como el valor más alto de degradación del antibiótico. Esto representa una ventaja ya que se puede trabajar con un pH más cercano al valor de 6-9 de la NOM-001-SEMARNAT-2021, lo que reduce los esfuerzos necesarios para ajustar el pH, segundo se tiene una mayor velocidad de reacción a ese valor de pH, y tercero, en menor tiempo es posible alcanzar la degradación máxima de LEVO.

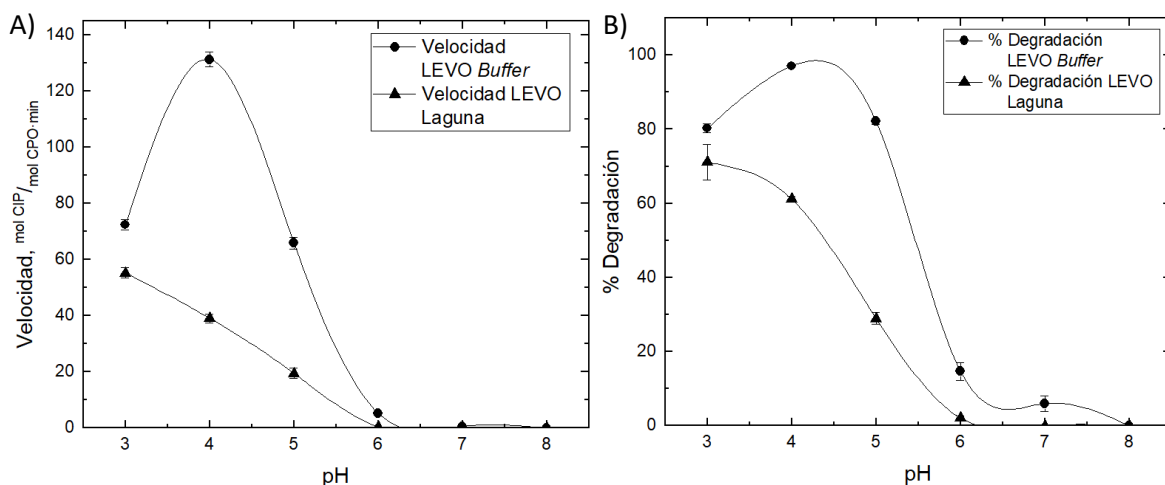


Figura 8.11. A) Velocidad de degradación de LEVO ( $\text{mol LEVO} \cdot \text{mol CPO}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) y B) porcentaje de degradación de LEVO. Ambos a distintos pH en soluciones *buffer* preparadas y agua de laguna con pH ajustado.

### VIII.3.3 Comparación del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> con otras tecnologías:

Al generarse un desarrollo de tecnología ambiental para el tratamiento de ciprofloxacino en agua, debe realizarse una comparación con distintos métodos usados para el tratamiento de fármacos en agua. Para tal efecto, se realizó una búsqueda bibliográfica de los métodos: filtración por membranas, ozono como agente oxidante, fotooxidación mediante materiales semiconductores y fotodescomposición mediante luz UV. En la tabla 8.7 se realiza la comparación.

Tabla 8.7. Comparación de distintos métodos de tratamiento de fármacos en agua con el catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> elaborado.

Método	Fundamento	Ventajas	Desventajas	Fuente
Enzima inmovilizada	Uso de enzima como agente catalizador.	Remoción de hasta el 99% de ciprofloxacino en corto tiempo.	Baja reusabilidad.	Este proyecto.
Membranas	Uso de membranas con tamaño de poro de 10 a 1000 Å como medio filtrante.	Remueve 97% de turbidez y 47% de COD en promedio.	El consumo de energía para tratamientos tradicionales de aguas residuales es generalmente 0.3–0.9 kWh/m <sup>3</sup> , las membranas usan 0.8 a 2.3 kWh/m <sup>3</sup> .	Raffin & Judd, 2013.
Ozono	Uso de ozono (O <sub>3</sub> ) como agente oxidante.	Más efectivo que cloro en la destrucción de virus y bacterias. Corto tiempo de contacto (10 a 30 minutos) para una efectiva acción No hay residuos peligrosos que necesiten ser removidos debido a que el ozono se descompone rápidamente. El ozono es generado en el sitio, por lo que se generan menos problemas en el transporte y manejo. La ozonización eleva el oxígeno disuelto (OD) en el efluente por lo que puede eliminar el requerimiento de aireación.	Una dosis baja puede no inactivar efectivamente algunos virus y esporas. El ozono es muy reactivo y corrosivo, por lo que requiere el uso de acero antioxidante u otros materiales resistentes a la corrosión. Es un tratamiento caro en efluentes con alto contenido de sólidos suspendidos, demanda bioquímica de oxígeno, demanda química de oxígeno y carbono orgánico total.	EPA, 1999.
Fotooxidación	Fotocatálisis mediante materiales semiconductores.	Altas tasas de conversión. Alta reusabilidad.	Debido a una rápida recombinación del par electrón-hueco, afecta significativamente el rendimiento fotocatalítico. Uso de luz solar puede ser limitado debido a que algunos materiales tienen una longitud de onda máxima de absorción en el rango UV. La morfología de algunos materiales podría no proporcionar una interacción superficie-luz eficiente; esto se puede mejorar aumentando la relación área superficial/volumen. Tiene un Altos tiempos de reacción	Dong <i>et al.</i> , 2015. Peighambardoust & Maghsoudi, 2019. Shurbarji & Altahtamouni, 2021.
Fotodescomposición UV	Uso de luz UV para la desintegración de moléculas.	Dependiendo de la familia de antibióticos, puede alcanzar tasas de conversión muy altas en tiempos similares a otros métodos.	Riesgo ecológico de los productos generados. Se ha observado que los intermediarios de algunos antibióticos mostraron mayor toxicidad que los compuestos parentales.	Jiao <i>et al.</i> , 2018. Wang & Lin, 2012. Ding <i>et al.</i> , 2020.

Adicionalmente a las ventajas y desventajas que el catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> realizado presenta respecto a otras tecnologías, se tienen distintos efectos negativos a nivel global enlistados por distintas agencias internacionales, efectos que el catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> generado ayudaría a mitigar en caso de aplicarse. Algunos de los efectos negativos a nivel global generados o que van a generarse por la resistencia a los antimicrobianos son:

El Banco Mundial (2017) menciona distintos efectos negativos a nivel global como efecto de la resistencia a los antimicrobianos:

- Impacto en el Producto Interno Bruto (PIB): para 2050, el PIB mundial anual caería un 1.1 % en el escenario de resistencia a los antimicrobianos de bajo impacto y un 3.8 % en el escenario de RAM de alto impacto. Los países de bajos ingresos perderían más cada año antes de 2050, con una pérdida superior al 5% del PIB en 2050 en el último escenario.
- Impacto en el comercio mundial: en 2050, el volumen de las exportaciones reales mundiales se reduciría un 1.1 % en el escenario bajo y un 3.8 % en el escenario alto.
- Impacto en los costos de atención médica: los aumentos globales en los costos de atención médica pueden oscilar entre 300 000 millones de USD y más de 1 000 000 millones de USD por año para 2050.
- Impacto en la producción ganadera: para 2050, la disminución de la producción ganadera mundial podría oscilar entre un mínimo del 2.6 % y un máximo del 7.5 % anual.

El informe de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE, 2017) menciona claramente que los pacientes requerirán cuidados más intensivos y costosos y es más probable que sean admitidos en el hospital. Los hospitales gastarán, en promedio, entre US\$10 000 y US\$40 000 adicionales para tratar a un paciente infectado por bacterias resistentes (OECD, 2017). Grupo de Coordinación Interinstitucional de las Naciones Unidas (WHO, 2019) realiza recomendaciones para detener la Resistencia a los Antimicrobianos: Actualmente, al menos 700.000 personas mueren cada año debido a enfermedades resistentes a los medicamentos y podrían causar 10 millones de muertes cada año para 2050 y un daño a la economía tan catastrófico como la crisis financiera mundial de 2008-2009. Para 2030, la resistencia a los antimicrobianos podría llevar hasta 24 millones de personas a la pobreza extrema.

## IX. CONCLUSIONES

La infraestructura hidráulica de las PTAR en el estado de Puebla es deficiente para la eliminación de un gran número de contaminantes, especialmente sustancias químicas sintéticas. De acuerdo con los datos de los distintos puntos de monitoreo de la calidad del agua en el estado de Puebla por parte de la CONAGUA, se determina que persiste un alto grado de contaminación sin importar si los muestreos son aguas arriba o aguas abajo del vertido de los efluentes tratados por las PTAR. Por lo que se llega a la conclusión de que los distintos procesos utilizados en las PTAR del estado de Puebla no están reduciendo contaminantes químicos sintéticos, como los contaminantes emergentes (antibióticos), de tal manera que se hace evidente y necesario el desarrollo de tecnologías o tratamientos para eliminar estos contaminantes y de esa manera reducir su impacto en la salud y el ecosistema. Dado estas condiciones encontradas, la aplicación del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> no es factible dada la susceptibilidad de la enzima a ser inactivada por la presencia de distintos químicos en aguas tratadas, lo recomendado es la aplicación en condiciones donde se presenten altas concentraciones de la sustancia a eliminar y bajas concentraciones de compuestos contaminantes tales como: influentes de industrias que requieran agua libre de antibióticos y/o potabilización de agua ya que se ha reportado la presencia de estos compuestos en agua potable.

A partir de la caracterización del óxido de silicio sintetizado por el método sol-gel se observó que no contiene residuos de la síntesis, logrando obtener un soporte con alta pureza y grupos funcionales superficiales que permiten inmovilizar la enzima cloroperoxidasa. En lo que respecta a la inmovilización de la enzima, la técnica de inmovilización por adsorción resultó ser adecuada dado que se obtuvo un rendimiento de inmovilización de 128.05 nmol de enzima por gramo de soporte, cantidad similar a lo reportado por otras investigaciones. La caracterización realizada al catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> muestra que, se perdió velocidad de degradación, pasando de una V<sub>max</sub> de 411.58  $\frac{\text{mol CIP}}{\text{mol CPO} \cdot \text{min}}$  y una km de 0.037 mM para la CPO, a una V<sub>max</sub> de 145.02  $\frac{\text{mol CIP}}{\text{mol CPO} \cdot \text{min}}$  y una km de 0.013 mM para el catalizador CPO/SiO<sub>2</sub>, sin embargo, a pesar de esta pérdida de velocidad es posible trabajar a pH superiores respecto a la enzima libre y adicionalmente se ganó reusabilidad.

Al trabajar con el catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> y sistemas de reacción modelo con CIP y LEVO comercial hay dos puntos a considerar, el porcentaje de degradación alcanzado (qué tanto antibiótico se degradó) y la velocidad de degradación (el tiempo requerido para alcanzar el porcentaje de degradación más alto), en el caso del porcentaje de degradación, se obtuvo la máxima degradación a un pH de 3 con 98.93 ± 0.42 % para CIP y 80.29 ± 1.23 % para LEVO, teniendo ligeramente menores a pH 4 y 5, por

otro lado, al considerar la velocidad de degradación, la velocidad máxima se obtuvo a un pH de 4 y 5, logrando duplicar en algunos casos la velocidad obtenida a pH 3. Esto significa que una vez la enzima es inmovilizada es posible obtener buenos resultados de degradación a pH 4 y 5 en 1.5 minutos respecto los 5 minutos necesarios a pH 3. Esto representa una ventaja ya que se puede trabajar con un pH más cercano al valor de 6 a 9 como lo marca la NOM-001-SEMARNAT-2021 que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores, lo que reduce los esfuerzos necesarios para ajustar el pH en las PTAR.

El desempeño del catalizador CPO/SiO<sub>2</sub> con una muestra real de agua de la laguna de CU acondicionada con ciprofloxacino y levofloxacino, muestra que es posible degradar más del 90% del ciprofloxacino y más del 70% de levofloxacino con disminución en las velocidades de reacción para ambos casos comparados con los sistemas de reacción modelo. Lo anterior puede deberse a las características fisicoquímicas como pH y temperatura, y a la presencia de agentes que interfieren en la afinidad de la enzima hacia los antibióticos o bien la inactivación enzimática, se ha reportado que la urea, los superóxidos, alcoholes, detergentes, sales metálicas y la ausencia de sustratos reductores afectan la actividad enzimática. En el caso de la degradación de levofloxacino, se desarrolló a condiciones de pH 3 mientras la degradación del ciprofloxacino se desarrolló a condiciones de pH de 3 a 5, por lo que será necesario profundizar en la degradación del levofloxacino con la técnica de HPLC para tratar de separar posibles compuestos que interfieran con las mediciones.

## X. BIBLIOGRAFÍA

- Aburto, J., Ayala, M., Bustos-Jaimes, I., Montiel, C., Terrés, E., Domínguez, J. M., & Torres, E. (2005). Stability and catalytic properties of chloroperoxidase immobilized on SBA-16 mesoporous materials. *Microporous and Mesoporous Materials*, 83(1-3), 193-200.
- Aburto, J., Ayala, M., Bustos-Jaimes, I., Montiel, C., Terrés, E., Domínguez, J. M., & Torres, E. (2005). Stability and catalytic properties of chloroperoxidase immobilized on SBA-16 mesoporous materials. *Microporous and Mesoporous Materials*, 83(1-3), 193-200.
- Adamczak, M., & Krishna, S. H. (2004). Strategies for improving enzymes for efficient biocatalysis. *Food Technology and Biotechnology*, 42(4), 251-264.
- Adman, E., Watenpugh, K. D., & Jensen, L. H. (1975). NH---S hydrogen bonds in Peptococcus aerogenes ferredoxin, Clostridium pasteurianum rubredoxin, and Chromatium high potential iron protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(12), 4854-4858.
- AEMPS. (2018). QUINOLONAS Y FLUOROQUINOLONAS DE ADMINISTRACIÓN SISTÉMICA: NUEVAS RESTRICCIONES DE USO. *Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios*, 14, 1-3.
- Aldred, K. J., McPherson, S. A., Turnbough Jr, C. L., Kerns, R. J., & Osheroff, N. (2013). Topoisomerase IV-quinolone interactions are mediated through a water-metal ion bridge: mechanistic basis of quinolone resistance. *Nucleic acids research*, 41(8), 4628-4639.
- Alduenda, C., Murrieta, F., & Rodríguez, A. (2018). Actualización en la prescripción de fluoroquinolonas. *Medicina Interna de México*, 34(1), 89-105.
- Altinkaynak, C., Tavlasoglu, S., & Ocsoy, I. (2016). A new generation approach in enzyme immobilization: Organic-inorganic hybrid nanoflowers with enhanced catalytic activity and stability. *Enzyme and microbial technology*, 93, 105-112.
- Anastasescu, C., Preda, S., Rusu, A., Culita, D., Plavan, G., Strungaru, S., ... & Zaharescu, M. (2018). Tubular and spherical SiO<sub>2</sub> obtained by sol gel method for lipase immobilization and enzymatic activity. *Molecules*, 23(6), 1362.
- Anderson, V. E., & Osheroff, N. (2001). Type II topoisomerases as targets for quinolone antibacterials turning Dr. Jekyll into Mr. Hyde. *Current pharmaceutical design*, 7(5), 337-353.
- Andersson, D. I. (2003). Persistence of antibiotic resistant bacteria. *Current opinion in microbiology*, 6(5), 452-456.
- Aoun, S., Chebli, C., & Baboulène, M. (1998). Noncovalent immobilization of chloroperoxidase onto talc: Catalytic properties of a new biocatalyst. *Enzyme and microbial technology*, 23(6), 380-385.
- Aquatreat. (2020). ¿QUÉ FUNCIÓN TIENEN LOS FILTROS BIOLÓGICOS DE LAS DEPURADORAS COMPACTAS?. Noviembre 22, 2021, de Aquatreat Sitio web: <https://www.aquatreat.es/2020/09/29/que-funcion-tienen-los-filtros-biologicos-de-las-depuradoras-compactas/#:~:text=Los%20filtros%20biol%C3%B3gicos%20son%20dep%C3%B3sitos,puedan%20tener%20las%20aguas%20residuales>.
- Aristilde, L., Melis, A., & Sposito, G. (2010). Inhibition of photosynthesis by a fluoroquinolone antibiotic. *Environmental science & technology*, 44(4), 1444-1450.
- Baars, J. K. (1963). El uso de zanjas de oxidación en el tratamiento de aguas cloacales procedentes de colectividades pequeñas. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)*; 54 (3), mar. 1963.
- Baruch, M. F., Pander III, J. E., White, J. L., & Bocarsly, A. B. (2015). Mechanistic insights into the reduction of CO<sub>2</sub> on tin electrodes using in situ ATR-IR spectroscopy. *Acs Catalysis*, 5(5), 3148-3156.
- Bautista, L. F., Morales, G., & Sanz, R. (2015). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by laccase from *Trametes versicolor* covalently immobilized on amino-functionalized SBA-15. *Chemosphere*, 136, 273-280.
- Bayramoğlu, G., & Arica, M. Y. (2009). Immobilization of laccase onto poly (glycidylmethacrylate) brush grafted poly (hydroxyethylmethacrylate) films: Enzymatic oxidation of phenolic compounds. *Materials Science and Engineering: C*, 29(6), 1990-1997.
- Bedolla, L. A. F., & Muñoz, B. C. (2020). Fabricación de capas anti reflejantes y absorbedores solares mediante la técnica Sol-gel: Un resumen sobre la variación de síntesis y condiciones experimentales realizadas en la UTP.
- Benjah. (2008). Ball-and-stick model of part of the crystal structure  $\beta$ -quartz, a form of silicon dioxide, SiO<sub>2</sub>. Enero 27, 2021, de Wikipedia Sitio web: <https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:Beta-quartz-CM-2D-balls.png>
- Bornscheuer, U. T. (2003). Immobilizing enzymes: how to create more suitable biocatalysts. *Angewandte Chemie International Edition*, 42(29), 3336-3337.
- Brain, R. A., Hanson, M. L., Solomon, K. R., & Brooks, B. W. (2008). Aquatic plants exposed to pharmaceuticals: effects and risks. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 67-115.

- Bryjak, J., & Kolarz, B. N. (1998). Immobilisation of trypsin on acrylic copolymers. *Process biochemistry*, 33(4), 409-417.
- Bryskier, A. (2005). Development of an antibiotic: microbiology. *Antimicrobial Agents: Antibacterials and Antifungals*, 93-112.
- Bucur, B., Danet, A. F., & Marty, J. L. (2005). Cholinesterase immobilisation on the surface of screen-printed electrodes based on concanavalin A affinity. *Analytica chimica acta*, 530(1), 1-6.
- Cabeza, Y., Candela, L., Ronen, D., & Teijon, G. (2012). Monitoring the occurrence of emerging contaminants in treated wastewater and groundwater between 2008 and 2010. The Baix Llobregat (Barcelona, Spain). *Journal of hazardous materials*, 239, 32-39.
- Cabral, J. M. S., & Kennedy, J. F. (1993). Immobilization techniques for altering thermal stability of enzymes. *Thermostability of enzymes*. Berlin: Springer Verlag, 163-179.
- Caicedo, F. J. (2006). Diseño, construcción y arranque de un reactor U.A.S.B. piloto para el tratamiento de lixiviados. Tesis de Especialidad en Ingeniería Ambiental-Área Sanitaria. Universidad Nacional de Colombia.
- Cañas, A. I., & Camarero, S. (2010). Laccases and their natural mediators: biotechnological tools for sustainable eco-friendly processes. *Biotechnology advances*, 28(6), 694-705.
- Cao, L. (2005). Introduction: Immobilized enzymes: Past, present and prospects. *Carrier-bound immobilized enzymes: principles, application, and design*, 1, 1-52.
- Comisión Nacional del Agua (2015). Manual del agua potable alcantarillado y saneamiento, Operación y Mantenimiento de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales: Procesos Anaerobios. Tlalpan, México, DF: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- CONAGUA (2021). Calidad del Agua Superficial en los municipios de San Martín Texmelucan y Huejotzingo, en el estado de Puebla; y Tepetitla de Lardizábal y Nativitas, en el estado de Tlaxcala. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/605098/1.\\_Nota\\_Informativa-\\_Municipios\\_Pue-Tlax\\_\\_2012-2019.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/605098/1._Nota_Informativa-_Municipios_Pue-Tlax__2012-2019.pdf)
- Condorchem. (2021). TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUAS RESIDUALES. Octubre 20, 2021, de CONDORCHEM ENVITECH Sitio web: <https://condorchem.com/es/tratamiento-biologico-aguas-residuales/>
- Cruz, J. C., Pfromm, P. H., Tomich, J. M., & Rezac, M. E. (2010). Conformational changes and catalytic competency of hydrolases adsorbing on fumed silica nanoparticles: I. Tertiary structure. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79(1), 97-104.
- Dalhoff, A., Schubert, S., & Vente, A. (2017). Pharmacodynamics of finafloxacin, ciprofloxacin, and levofloxacin in serum and urine against TEM-and SHV-type extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing enterobacteriaceae isolates from patients with urinary tract infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(5), e02446-16.
- Daughton, C. G., & Ruhoy, I. S. (2013). Lower-dose prescribing: minimizing "side effects" of pharmaceuticals on society and the environment. *Science of the Total Environment*, 443, 324-337.
- De Berríos, O. G., & de Gómez, M. Y. B. (2009). Enfoques epistemológicos que orientan la investigación de 4to. Nivel. *Visión gerencial*, 47-54.
- Diario Oficial de la Federación de México. (2011, 26 enero). ACUERDO por el que se dan a conocer los estudios técnicos de aguas nacionales superficiales de la Región Hidrológica número 18 Balsas. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [en línea]. Disponible en: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5175730&fecha=26/01/2011](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5175730&fecha=26/01/2011) [agosto 25, 2021].
- Ding, Y., Jiang, W., Liang, B., Han, J., Cheng, H., Haider, M. R., ... & Wang, A. (2020). UV photolysis as an efficient pretreatment method for antibiotics decomposition and their antibacterial activity elimination. *Journal of hazardous materials*, 392, 122321.
- Dong, H., Zeng, G., Tang, L., Fan, C., Zhang, C., He, X., & He, Y. (2015). An overview on limitations of TiO<sub>2</sub>-based particles for photocatalytic degradation of organic pollutants and the corresponding countermeasures. *Water research*, 79, 128-146.
- Drlica, K., & Zhao, X. (1997). DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiology and molecular biology reviews*, 61(3), 377-392.
- Duarte-Davidson, R., & Jones, K. C. (1996). Screening the environmental fate of organic contaminants in sewage sludge applied to agricultural soils: II. The potential for transfers to plants and grazing animals. *Science of the total environment*, 185(1-3), 59-70.
- Echevarría, M. M. (2020). Ciencias ambientales: Descubre cuáles son y su importancia. Noviembre 20, 2020, de *Contaminación Ambiental* Sitio web: <https://contaminacionambiental.net/ciencias-ambientales/>



- Eggen, T., Asp, T. N., Grave, K., & Hormazabal, V. (2011). Uptake and translocation of metformin, ciprofloxacin and narasin in forage-and crop plants. *Chemosphere*, *85*(1), 26-33.
- EPA (2000). Wastewater Technology Fact Sheet Oxidation Ditches - EPA 832-F-00-013. United States Environmental Protection Agency.
- Esler, M. B., Griffith, D. W., Wilson, S. R., & Steele, L. P. (2000). Precision trace gas analysis by FT-IR spectroscopy. 1. Simultaneous analysis of CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O, and CO in air. *Analytical Chemistry*, *72*(1), 206-215.
- Fabbrini, M., Galli, C., & Gentili, P. (2002). Comparing the catalytic efficiency of some mediators of laccase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, *16*(5-6), 231-240.
- FCEA. (2015). CUERPOS DE AGUA. Agosto 15, 2021, de Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental Sitio web: <https://agua.org.mx/cuerpos-de-agua/>
- Ferrer Polo, J., Seco Torrecillas, A., & Robles Martínez, Á. (2018). Tratamientos biológicos de aguas residuales. Editorial Universitat Politècnica de València.
- Galindo, A., Toncel, E., & Rincón, N. (2016). Evaluación de un filtro biológico como unidad de post-tratamiento de aguas residuales utilizando conchas marinas como material de soporte. *Revista Ion*, *29*(2), 39-50.
- Gil, M. J., Soto, A. M., Usma, J. I., & Gutiérrez, O. D. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción+ limpia*, *7*(2), 52-73.
- González Gero, M. Y., & Muñoz Gavilán, A. (2004). Uso adecuado de fluoroquinolonas en Atención Primaria. *B Farmacoterapéutico de Castilla la Mancha*, *5*(1), 1-8.
- González-Pérez, E., Ortega-Escobar, H. M., Yáñez-Morales, M. J., & Rodríguez-Guillen, A. (2019). Diagnóstico de indicadores de calidad físico-química del agua en afluentes del río Atoyac. *Tecnología y ciencias del agua*, *10*(1), 30-51.
- Gothwal, R., & Shashidhar, T. (2015). Antibiotic pollution in the environment: a review. *Clean-Soil, Air, Water*, *43*(4), 479-489.
- Guerrero, E., Aburto, P., Terrés, E., Villegas, O., González, E., Zayas, T., ... & Torres, E. (2013). Improvement of catalytic efficiency of chloroperoxidase by its covalent immobilization on SBA-15 for azo dye oxidation. *Journal of Porous Materials*, *20*(2), 387-396.
- Gun'Ko, V. M., Mironyuk, I. F., Zarko, V. I., Voronin, E. F., Turov, V. V., Pakhlov, E. M., ... & Leboda, R. (2005). Morphology and surface properties of fumed silicas. *Journal of colloid and interface science*, *289*(2), 427-445.
- Gun'Ko, V. M., Turov, V. V., Zarko, V. I., Dudnik, V. V., Tischenko, V. A., Kazakova, O. A., ... & Chuiko, A. A. (1997). Aqueous suspensions of fumed silica and adsorption of proteins. *Journal of colloid and interface science*, *192*(1), 166-178.
- Gustafsson, H., Johansson, E. M., Barrabino, A., Odén, M., & Holmberg, K. (2012). Immobilization of lipase from *Mucor miehei* and *Rhizopus oryzae* into mesoporous silica—The effect of varied particle size and morphology. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *100*, 22-30.
- Gutiérrez, C. M., & Moreno, J. D. (2020). Criterios de diseño y escalado de biodiscos para el tratamiento de aguas residuales. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, *41*(2), 64-74.
- Halling-Sørensen, B. N. N. S., Nielsen, S. N., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Lützhøft, H. H., & Jørgensen, S. E. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-A review. *Chemosphere*, *36*(2), 357-393.
- Hamelmann, F., Heinzmann, U., Szekeres, A., Kirov, N., & Nikolova, T. (2005). Deposition of silicon oxide thin films in TEOS with addition of oxygen to the plasma ambient: IR spectra analysis. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, *7*(1), 389-392.
- Hartmann, M., & Kostrov, X. (2013). Immobilization of enzymes on porous silicas—benefits and challenges. *Chemical Society Reviews*, *42*(15), 6277-6289.
- Hench, L. L., & West, J. K. (1990). The sol-gel process. *Chemical reviews*, *90*(1), 33-72.
- Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, M. (2017). Metodología de la investigación. Sexta edición, ISBN: 978-607-15-0291-9. *Printed in México. Recuperado de <https://www.uca.ac.cr/wpcontent/uploads/2017/10/Investigacion.pdf>*
- Hollenberg, P. F., & Hager, L. P. (1973). The P-450 nature of the carbon monoxide complex of ferrous chloroperoxidase. *Journal of Biological Chemistry*, *248*(7), 2630-2633.
- Hooper, D. C. (1995). Quinolone mode of action. *Drugs*, *49*(2), 10-15.
- Hooper, D. C. (2001). Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerging infectious diseases*, *7*(2), 337-341.
- Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2015). Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Annals of the New York academy of sciences*, *1354*(1), 12-31.

- Hu, X., Zhou, Q., & Luo, Y. (2010). Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China. *Environmental Pollution*, 158(9), 2992-2998.
- Huang, X., Li, L., Liu, T., Hao, N., Liu, H., Chen, D., & Tang, F. (2011). The shape effect of mesoporous silica nanoparticles on biodistribution, clearance, and biocompatibility in vivo. *ACS nano*, 5(7), 5390-5399.
- Hudson, S., Cooney, J., & Magner, E. (2008). Proteins in mesoporous silicates. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(45), 8582-8594.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México). Cuenca hidrológica Alto Atoyac: humedales: informe técnico / Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México: INEGI, 2015.
- Jacob, F., Brenner, S., & Cuzin, F. (1963). On the regulation of DNA replication in bacteria. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* (Vol. 28, pp. 329-348). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Janssen, M. H., van Langen, L. M., Pereira, S. R., Rantwijk, F. V., & Sheldon, R. A. (2002). Evaluation of the performance of immobilized penicillin G acylase using active-site titration. *Biotechnology and bioengineering*, 78(4), 425-432.
- Jiao, S., Zheng, S., Yin, D., Wang, L., & Chen, L. (2008). Aqueous photolysis of tetracycline and toxicity of photolytic products to luminescent bacteria. *Chemosphere*, 73(3), 377-382.
- Jjemba, P. K. (2006). Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. *Ecotoxicology and environmental safety*, 63(1), 113-130.
- Juarez-Moreno, K., de León, J. N. D., Zepeda, T. A., Vazquez-Duhalt, R., & Fuentes, S. (2015). Oxidative transformation of dibenzothiophene by chloroperoxidase enzyme immobilized on (1D)- $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanorods. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 115, 90-95.
- Kemper, N. (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological indicators*, 8(1), 1-13.
- Kim, J., Kim, H. S., Lee, N., Kim, T., Kim, H., Yu, T., & Hyeon, T. (2008). Multifunctional uniform nanoparticles composed of a magnetite nanocrystal core and a mesoporous silica shell for magnetic resonance and fluorescence imaging and for drug delivery. *Angewandte Chemie*, 120(44), 8566-8569.
- Klabunde, K. J., Stark, J., Koper, O., Mohs, C., Park, D. G., Decker, S., ... & Zhang, D. (1996). Nanocrystals as stoichiometric reagents with unique surface chemistry. *The Journal of Physical Chemistry*, 100(30), 12142-12153.
- Krajewska, B. (2004). Application of chitin and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. *Enzyme and microbial technology*, 35(2-3), 126-139.
- Kulkarni, S. K., & Kulkarni, S. K. (2015). *Nanotechnology: principles and practices*. Springer.
- Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment—a review—part I. *Chemosphere*, 75(4), 417-434.
- Lante, A., Crapisi, A., Krastanov, A., & Spettoli, P. (2000). Biodegradation of phenols by laccase immobilised in a membrane reactor. *Process Biochemistry*, 36(1-2), 51-58.
- Lee, C. C., Jiang, L. Y., Kuo, Y. L., Chen, C. Y., Hsieh, C. Y., Hung, C. F., & Tien, C. J. (2015). Characteristics of nonylphenol and bisphenol A accumulation by fish and implications for ecological and human health. *Science of the Total Environment*, 502, 417-425.
- Li, W., Shi, Y., Gao, L., Liu, J., & Cai, Y. (2012). Occurrence of antibiotics in water, sediments, aquatic plants, and animals from Baiyangdian Lake in North China. *Chemosphere*, 89(11), 1307-1315.
- Li, X., He, Q., Li, H., Gao, X., Hu, M., Li, S., ... & Wang, X. (2017). Bioconversion of non-steroidal anti-inflammatory drugs diclofenac and naproxen by chloroperoxidase. *Biochemical Engineering Journal*, 120, 7-16.
- Libby, R. D., Rotberg, N. S., Emerson, J. T., White, T. C., Yen, G. M., Friedman, S. H., & Goldowski, R. (1989). The chloride-activated peroxidation of catechol as a mechanistic probe of chloroperoxidase reactions: Competitive activation as evidence for a catalytic chloride binding site on compound I. *Journal of Biological Chemistry*, 264(26), 15284-15292.
- Lima, C. D., & Mondragón, A. (1994). Mechanism of type II DNA topoisomerases: a tale of two gates. *Structure*, 2(6), 559-560.
- Lin, Y. S., Hurley, K. R., & Haynes, C. L. (2012). Critical considerations in the biomedical use of mesoporous silica nanoparticles. *The journal of physical chemistry letters*, 3(3), 364-374.
- Lippincott, E. R., Van Valkenburg, A., Weir, C. E., & Bunting, E. N. (1958). Infrared studies on polymorphs of silicon dioxide and germanium dioxide. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 61(1), 61-70.
- Liu, F., Ying, G. G., Tao, R., Zhao, J. L., Yang, J. F., & Zhao, L. F. (2009). Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities. *Environmental pollution*, 157(5), 1636-1642.
- Liu, H., & Mulholland, S. G. (2005). Appropriate antibiotic treatment of genitourinary infections in hospitalized patients. *The American journal of medicine*, 118(7), 14-20.

- Liu, Y., Zeng, Z., Zeng, G., Tang, L., Pang, Y., Li, Z., ... & Liu, Z. (2012). Immobilization of laccase on magnetic bimodal mesoporous carbon and the application in the removal of phenolic compounds. *Bioresource Technology*, *115*, 21-26.
- Majeau, J. A., Brar, S. K., & Tyagi, R. D. (2010). Laccases for removal of recalcitrant and emerging pollutants. *Bioresource technology*, *101*(7), 2331-2350.
- May, O., Nguyen, P. T., & Arnold, F. H. (2000). Inverting enantioselectivity and increasing total activity of a key enzyme in a multi-enzyme synthesis creates a viable process for production of L-methionine. *Nat. Biotechnol*, *18*, 317-320.
- McIntosh, I. M., Nichols, A. R., Tani, K., & Llewellyn, E. W. (2017). Accounting for the species-dependence of the 3500 cm<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O infrared molar absorptivity coefficient: Implications for hydrated volcanic glasses. *American Mineralogist: Journal of Earth and Planetary Materials*, *102*(8), 1677-1689.
- Meng, H., Xue, M., Xia, T., Ji, Z., Tarn, D. Y., Zink, J. I., & Nel, A. E. (2011). Use of size and a copolymer design feature to improve the biodistribution and the enhanced permeability and retention effect of doxorubicin-loaded mesoporous silica nanoparticles in a murine xenograft tumor model. *ACS nano*, *5*(5), 4131-4144.
- Minshull, J., & Stemmer, P. W. (1999). Protein evolution by molecular breeding. *Current opinion in chemical biology*, *3*(3), 284-290.
- Moeder, M., Martin, C., & Koeller, G. (2004). Degradation of hydroxylated compounds using laccase and horseradish peroxidase immobilized on microporous polypropylene hollow fiber membranes. *Journal of Membrane Science*, *245*(1-2), 183-190.
- Montiel, C., Terrés, E., Domínguez, J. M., & Aburto, J. (2007). Immobilization of chloroperoxidase on silica-based materials for 4, 6-dimethyl dibenzothiophene oxidation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, *48*(3-4), 90-98.
- Morales-Sanfrutos, J., Lopez-Jaramillo, J., Ortega-Muñoz, M., Megia-Fernandez, A., Perez-Balderas, F., Hernandez-Mateo, F., & Santoyo-Gonzalez, F. (2010). Vinyl sulfone: a versatile function for simple bioconjugation and immobilization. *Organic & biomolecular chemistry*, *8*(3), 667-675.
- Muñoz-Guerrero, F. A., Águila, S., Vazquez-Duhalt, R., & Alderete, J. B. (2015). Enhancement of operational stability of chloroperoxidase from *Caldariomyces fumago* by immobilization onto mesoporous supports and the use of co-solvents. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, *116*, 1-8.
- National Center for Biotechnology Information (2021a). PubChem Compound Summary for CID 11094963, 3-Fluoro-2-hydroxyquinoline. Retrieved January 28, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3-Fluoro-2-hydroxyquinoline>.
- National Center for Biotechnology Information (2021b). PubChem Compound Summary for CID 2764, Ciprofloxacin. Retrieved January 28, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ciprofloxacin>.
- National Center for Biotechnology Information (2021c). PubChem Compound Summary for CID 149096, Levofloxacin. Retrieved January 28, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Levofloxacin>.
- National Center for Biotechnology Information (2021d). PubChem Compound Summary for CID 152946, Moxifloxacin. Retrieved January 28, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Moxifloxacin>.
- Navarro, A. E., Herrera, J. A., & Morales, L. (2017). Los niveles de microcontaminantes orgánicos explican una muerte masiva de peces en el río atoyac, Puebla, México. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, *8*(4), 15-23.
- Niculescu, V. C. (2020). *Mesoporous silica nanoparticles for bio-applications*. Functional Materials for Bio-Applications.
- OECD (1998). Environmental Indicators. Towards Sustainable Development. France.
- OECD/WHO/FAO/OIE. Tackling antimicrobial resistance ensuring sustainable R&D. OECD/WHO/FAO/OIE; 2017. . . [Accessed 15 July 2022] <http://www.oecd.org/g20/summits/hamburg/Tackling-Antimicrobial-Resistance-Ensuring-Sustainable-RD.pdf>.
- Opriş, O., Copaciu, F., Soran, M. L., Ristoiu, D., Niinemets, Ü., & Copolovici, L. (2013). Influence of nine antibiotics on key secondary metabolites and physiological characteristics in *Triticum aestivum*: leaf volatiles as a promising new tool to assess toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *87*, 70-79.
- Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Antimicrobial resistance. <http://www.oecd.org/els/health-systems/antimicrobial-resistance.htm>. [Accessed 15 July 2022].
- PADHPOT. San Martín Texmelucan. Agosto 25, 2021, de Programa de apoyo al desarrollo hidráulico de los estados de Puebla, Oaxaca y Tlaxcala Sitio web: <http://www.agua.unam.mx/padhpot/smartin.html>
- Peighambardoust, N. S., Asl, S. K., & Maghsoudi, M. (2019). The effect of doping concentration of TiO<sub>2</sub> nanotubes on energy levels and its direct correlation with photocatalytic activity. *Thin Solid Films*, *690*, 137558.
- Peng, X., Tang, C., Tan, J., Huang, Q., & Wang, Z. (2008). Occurrence of steroid estrogens, endocrine-disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban riverine water of the Pearl River Delta, South China. *Science of the total environment*, *397*(1-3), 158-166.

- Peng, X., Tang, C., Yu, Y., Tan, J., Huang, Q., Wu, J., & Mai, B. (2009). Concentrations, transport, fate, and releases of polybrominated diphenyl ethers in sewage treatment plants in the Pearl River Delta, South China. *Environment international*, 35(2), 303-309.
- Peng, X., Zhang, K., Tang, C., Huang, Q., Yu, Y., & Cui, J. (2011). Distribution pattern, behavior, and fate of antibacterials in urban aquatic environments in South China. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(2), 446-454.
- Pershina, K. D., Khodykina, M. O., & Kazdubin, K. A. (2015). Analysis of the activity of immobilized enzyme preparations of black horseradish using electrochemical impedance spectroscopy. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*, 51(6), 572-580.
- Pham, T. D., Ziora, Z. M., & Blaskovich, M. A. (2019). Quinolone antibiotics. *Medchemcomm*, 10(10), 1719-1739.
- Powell, K. A., Ramer, S. W., Del Cardayre, S. B., Stemmer, W. P. C., Tobin, M. B., & Longchamp, P. F. (2001). Huisman. *Angew. Chem. Int. Ed*, 40, 3948.
- Raffin, M., Germain, E., & Judd, S. (2013). Wastewater polishing using membrane technology: a review of existing installations. *Environmental technology*, 34(5), 617-627.
- Rahman, I. A., & Padavettan, V. (2012). Synthesis of silica nanoparticles by sol-gel: size-dependent properties, surface modification, and applications in silica-polymer nanocomposites—a review. *Journal of Nanomaterials*, 2012.
- Rahmani, K., Faramarzi, M. A., Mahvi, A. H., Gholami, M., Esrafil, A., Forootanfar, H., & Farzadkia, M. (2015). Elimination and detoxification of sulfathiazole and sulfamethoxazole assisted by laccase immobilized on porous silica beads. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 97, 107-114.
- Ramsden, J. J. (1995). Puzzles and paradoxes in protein adsorption. *Chemical Society Reviews*, 24(1), 73-78.
- Redgrave, L. S., Sutton, S. B., Webber, M. A., & Piddock, L. J. (2014). Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends in microbiology*, 22(8), 438-445.
- Reetz, M. T., & Jaeger, K. E. (2000). Enantioselective enzymes for organic synthesis created by directed evolution. *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, 6(3), 407-412.
- Rimola, A., Costa, D., Sodupe, M., Lambert, J. F., & Ugliengo, P. (2013). Silica surface features and their role in the adsorption of biomolecules: computational modeling and experiments. *Chemical reviews*, 113(6), 4216-4313.
- Saksena, B. D. (1940, July). Analysis of the Raman and infra-red spectra of  $\alpha$ -quartz. In Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section A (Vol. 12, No. 1, p. 93). Springer India.
- Sassolas, A., Blum, L. J., & Leca-Bouvier, B. D. (2012). Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors. *Biotechnology advances*, 30(3), 489-511.
- Secretaría de salud. (2013). Boletines de Información Estadística, VOLUMEN II. DAÑOS A LA SALUD, Número33. enero 20, 2021, de Secretaría de salud Sitio web: [http://www.dgis.salud.gob.mx/contenidos/publicaciones/p\\_bie\\_gobmx.html](http://www.dgis.salud.gob.mx/contenidos/publicaciones/p_bie_gobmx.html)
- SEDESOL. (2014). Reglas de Operación del Programa para el Desarrollo de Zonas Prioritarias (PDZP), para el ejercicio fiscal 2014, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 28/12/2013. Disponible en: [http://www.microrregiones.gob.mx/documentos/2014/RO\\_PDZP2014\\_DOF.pdf](http://www.microrregiones.gob.mx/documentos/2014/RO_PDZP2014_DOF.pdf)
- Semarnat (2005). Comisión Nacional del Agua, Gerencia de Saneamiento y Calidad del Agua.
- Semarnat (2011). Comisión Nacional del Agua, Estadísticas del Agua en México, 1a edición, CNA, México.
- Semarnat (2011). Dirección General de Estadística e Información Ambiental.
- SEMARNAT. (s.f.). MARCOS CONCEPTUALES DE INDICADORES AMBIENTALES. Agosto 25, 2021, de Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales Sitio web: [https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/indicadores13\\_cd/conjuntob/00\\_conjunto/marco\\_conceptual2.html](https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/indicadores13_cd/conjuntob/00_conjunto/marco_conceptual2.html)
- Sheldon, R. A. (2007). Enzyme immobilization: the quest for optimum performance. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 349(8-9), 1289-1307.
- Shurbaji, S., Huong, P. T., & Altahtamouni, T. M. (2021). Review on the visible light photocatalysis for the decomposition of ciprofloxacin, norfloxacin, tetracyclines, and sulfonamides antibiotics in wastewater. *Catalysts*, 11(4), 437.
- Šimon, I., & McMahon, H. O. (1953). Study of the structure of quartz, cristobalite, and vitreous silica by reflection in infrared. *The Journal of Chemical Physics*, 21(1), 23-30.
- Songulashvili, G., Spindler, D., Jimenez-Tobon, G. A., Jaspers, C., Kerns, G., & Penninckx, M. J. (2015). Production of a high level of laccase by submerged fermentation at 120-L scale of *Cerrena unicolor* C-139 grown on wheat bran. *Comptes rendus biologiques*, 338(2), 121-125.
- Sosapatex. (2018a). Oficio número: 080/2018.DGS por el cual se responde a la solicitud de información SAI/021/2018. Servicios de Agua Potable y Alcantarillado del Municipio de San Martín Texmelucan, Puebla.

- Sosapatex. (2018b). Oficio número: HASMT-DDUEYMA/134/2018 por el cual se responde a la solicitud de información HASMT/PM/UTAI/055/2018. Servicios de Agua Potable y Alcantarillado del Municipio de San Martín Texmelucan, Puebla.
- Srere, P. A., & Uyeda, K. (1976). [2] Functional groups on enzymes suitable for binding to matrices. In *Methods in enzymology* (Vol. 44, pp. 11-19). Academic Press.
- Stewart, J. D. (2001). Dehydrogenases and transaminases in asymmetric synthesis. *Current opinion in chemical biology*, 5(2), 120-129.
- Stöber, W., Fink, A., & Bohn, E. (1968). Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *Journal of colloid and interface science*, 26(1), 62-69.
- Strahilevitz, J., Jacoby, G. A., Hooper, D. C., & Robicsek, A. (2009). Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clinical microbiology reviews*, 22(4), 664-689.
- Sturini, M., Speltini, A., Maraschi, F., Profumo, A., Pretali, L., Irastorza, E. A., & Albin, A. (2012). Photolytic and photocatalytic degradation of fluoroquinolones in untreated river water under natural sunlight. *Applied Catalysis B: Environmental*, 119, 32-39.
- Takahashi, H., Li, B., Sasaki, T., Miyazaki, C., Kajino, T., & Inagaki, S. (2001). Immobilized enzymes in ordered mesoporous silica materials and improvement of their stability and catalytic activity in an organic solvent. *Microporous and Mesoporous Materials*, 44, 755-762.
- Takahashi, H., Li, B., Sasaki, T., Miyazaki, C., Kajino, T., & Inagaki, S. (2000). Catalytic activity in organic solvents and stability of immobilized enzymes depend on the pore size and surface characteristics of mesoporous silica. *Chemistry of Materials*, 12(11), 3301-3305.
- Terrés, E., Montiel, M., Le Borgne, S., & Torres, E. (2008). Immobilization of chloroperoxidase on mesoporous materials for the oxidation of 4, 6-dimethyldibenzothiophene, a recalcitrant organic sulfur compound present in petroleum fractions. *Biotechnology letters*, 30(1), 173-179.
- TheWorldBank. Final report. Drug-resistant infections. A threat to our economic future. Washington, DC: The World Bank; 2017. . . [Accessed 15 July 2022] <http://documents.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/pdf/114679-REVISED-v2-Drug-Resistant-Infections-Final-Report.pdf>.
- Tischer, W., & Kasche, V. (1999). Immobilized enzymes: crystals or carriers? *Trends in biotechnology*, 17(8), 326-335.
- Tischer, W., & Wedekind, F. (1999). Immobilized enzymes: methods and applications. In *Biocatalysis-from discovery to application* (pp. 95-126). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Tran, D. N., & Balkus Jr, K. J. (2011). Perspective of recent progress in immobilization of enzymes. *ACS Catalysis*, 1(8), 956-968.
- Ulagappan, N., & Frei, H. (2000). Mechanistic study of CO<sub>2</sub> photoreduction in Ti silicalite molecular sieve by FT-IR spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry A*, 104(33), 7834-7839.
- US Environmental Protection Agency. (1999). Wastewater technology fact sheet: ozone disinfection.
- Valcárcel, Y., Alonso, S. G., Rodríguez-Gil, J. L., Gil, A., & Catalá, M. (2011). Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. *Chemosphere*, 84(10), 1336-1348.
- Wang, F., Guo, C., Yang, L. R., & Liu, C. Z. (2010). Magnetic mesoporous silica nanoparticles: fabrication and their laccase immobilization performance. *Bioresource Technology*, 101(23), 8931-8935.
- Wang, Q. J., Mo, C. H., Li, Y. W., Gao, P., Tai, Y. P., Zhang, Y., ... & Xu, J. W. (2010). Determination of four fluoroquinolone antibiotics in tap water in Guangzhou and Macao. *Environmental Pollution*, 158(7), 2350-2358.
- Wang, S., Ding, Y., Chen, R., Hu, M., Li, S., Zhai, Q., & Jiang, Y. (2018). Multilayer petal-like enzymatic-inorganic hybrid micro-spheres [CPO-(Cu/Co/Cd) 3 (PO<sub>4</sub>) 2] with high bio-catalytic activity. *Chemical Engineering Research and Design*, 134, 52-61.
- Wang, X. H., & Lin, A. Y. C. (2012). Phototransformation of cephalosporin antibiotics in an aqueous environment results in higher toxicity. *Environmental science & technology*, 46(22), 12417-12426.
- Wei, R., He, T., Zhang, S., Zhu, L., Shang, B., Li, Z., & Wang, R. (2019). Occurrence of seventeen veterinary antibiotics and resistant bacterias in manure-fertilized vegetable farm soil in four provinces of China. *Chemosphere*, 215, 234-240.
- WHO (2019, 29 abril). *New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis*. Recuperado 15 de julio de 2022, de <https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>
- WHO model list of essential medicines, 2017, 20th edn; <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/273826/EML-20-eng.pdf?ua=1> (visitado el 20 Octubre 2020).

- WHO, Critically important antimicrobials for human medicine, 2018, 6th revision; <http://www.who.int/foodsafety/publications/antimicrobials-sixth/en/> (visitado el 20 Octubre 2020).
- Xu, R., Zhou, Q., Li, F., & Zhang, B. (2013). Laccase immobilization on chitosan/poly (vinyl alcohol) composite nanofibrous membranes for 2, 4-dichlorophenol removal. *Chemical engineering journal*, 222, 321-329.
- Yi, K., Wang, D., Li, X., Chen, H., Sun, J., An, H., ... & Zeng, G. (2017). Effect of ciprofloxacin on biological nitrogen and phosphorus removal from wastewater. *Science of the Total Environment*, 605, 368-375.
- Zhang, X., Li, X., Jiang, Y., Hu, M., Li, S., & Zhai, Q. (2016). Combination of enzymatic degradation by chloroperoxidase with activated sludge treatment to remove sulfamethoxazole: performance, and eco-toxicity assessment. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 91(11), 2802-2809.
- Zhou, Z., & Hartmann, M. (2012). Recent progress in biocatalysis with enzymes immobilized on mesoporous hosts. *Topics in Catalysis*, 55(16), 1081-1100.
- Zucca, P., & Sanjust, E. (2014). Inorganic materials as supports for covalent enzyme immobilization: methods and mechanisms. *Molecules*, 19(9), 14139-14194.

## XI. ANEXOS



El Instituto Tecnológico de Boca del Río y la Red Temática: Gestión de la calidad y disponibilidad del agua, extiende la presente

# CONSTANCIA

A: **Fernando Pacheco Torres, Gabriela Pérez Osorio, Eduardo Torres Ramírez**

Por su ponencia titulada  
**Análisis de uso de catalizadores híbridos para la eliminación de antibióticos en agua.**

la cual fue presentada bajo la clave **AMB\_0002\_R**, en la Mesa.-  
**Ambiental, CONGRESO INTERNACIONAL DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INVESTIGACIÓN CYTI 2021**, celebrado los días 17, 18 y 19 de noviembre en el World Trade Center Veracruz, Boca del Río, Veracruz, México.

Ing. Jaime de Jesús Cañas Ortega  
Director  
Instituto Tecnológico de Boca del Río

Dr. Amado Enrique Navarro Frómata  
Responsable Técnico  
Red Gestión de la Calidad  
y Disponibilidad del Agua

Dr. Rubén Darío Rodríguez Urreta  
Director  
Trainmar México

**2021**





6TH CONFERENCE  
IWA-MEXICO  
YOUNG WATER  
PROFESSIONALS  
**2022**

LA UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE CULIACÁN  
Y EL COMITÉ ORGANIZADOR DEL  
6TH CONFERENCE IWA-YWP MEXICO 2022,  
LE EXTIENDE EL PRESENTE

# RECONOCIMIENTO

A:

**Fernando Pacheco Torres**

**Gabriela Pérez Osorio**

**Eduardo Torres Ramírez**

por su participación con la PONENCIA ORAL titulada  
“DISEÑO Y EVALUACIÓN DE UN CATALIZADOR HÍBRIDO QUÍMICO  
BIOCATALÍTICO, EN EL TRATAMIENTO DE CIPROFLOXACINO EN AGUA”,  
en el marco del congreso que se llevó a cabo del 25 al 27 de mayo de 2022.

CULIACÁN, SINALOA  
MÉXICO  
MAYO DE 2022

Dra. Aurora Margarita Pat Espadas  
Presidenta YWP México  
Investigadores por México  
ERNO-Instituto de Geología UNAM

Dra. Adriana Roé Sosa  
Presidenta Comité organizador  
Profesora Tiempo Completo  
Universidad Tecnológica de Culiacán







6TH CONFERENCE  
IWA MEXICO  
2022



YOUNG WATER  
PROFESSIONALS  
MEXICO



Universidad Tecnológica de Culiacán  
**International Water Association  
Young Water Professional**

**MEMORIAS DEL 6<sup>TH</sup> CONFERENCE IWA-YWP MEXICO 2022**

**EDITORES GENERALES**

Dra. Adriana Roé Sosa  
Dr. Leonel Ernesto Amábilis Sosa  
M.C. Laura Yaneth Sicairos Medina

**COMITÉ EDITORIAL**

M. C. Edgar Ledezma Zavala  
Dra. Marely Figueroa Pérez  
M.C. Heidi Medina Montenegro  
M.C. Karina Janeth Iñiguez Torres  
Dr. Pedro Alberto Rojas Rojas

Culiacán de Rosales, Sinaloa, México.

La presentación y contenido de los trabajos presentados son responsabilidad de los autores/Presentation and contents of presented papers are the sole responsibility of authors.

Esta publicación utiliza el punto decimal/ This publication uses the decimal point

ISSN en trámite.  
JUNIO 2022



### 1.2.3 DISEÑO Y EVALUACIÓN DE UN CATALIZADOR HÍBRIDO QUÍMICO BIOCATALÍTICO EN EL TRATAMIENTO DE CIPROFLOXACINO EN AGUA

F. Pacheco-Torres<sup>1</sup>, G. Pérez-Osorio<sup>2</sup>, E. Torres<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias de la Universidad Autónoma de Puebla, (ICUAP), Ciudad Universitaria, Colonia Jardines de San Manuel, C.P. 72570. Puebla, México. (fernando.pachecotorres@viep.com.mx)

<sup>2</sup>Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, Colonia Jardines de San Mamel, C.P. 72570. Puebla, México. (gabriela.perezosorio@viep.com.mx)

**Palabras clave:** Agua residual; antibióticos; degradación; enzima; inmovilización

#### RESUMEN

La presencia de contaminantes emergentes en cuerpos de agua ha sido un tema que ha pasado desapercibido por muchas décadas, entre estos se encuentran los antibióticos. Parte de los antibióticos administrados se excretan por el organismo de manera que llegan al sistema de drenaje municipal y finalmente a los cuerpos receptores. Se ha reportado la presencia y efectos de los antibióticos en la biota, como la afectación de las comunidades microbianas, desbalance dentro de cloroplastos, mitocondrias y conductancia estomálica, alterando el crecimiento. Recientemente se ha reportado la presencia de antibióticos en aguas residuales en San Martín Texmelucan, Puebla, por lo que se diseñó un catalizador híbrido químico-biocatalítico basado en óxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ) y la enzima cloroperoxidasa (CPO) de *Caldariomyces fumago*, el  $\text{SiO}_2$  fue sintetizado por el método Sol-Gel utilizando tetraetilortosilicato (TEOS) como precursor de silicio, el material se caracterizó por Difracción de rayos X (DRX), Microscopía electrónica de barrido (MEB), Espectroscopía dispersiva de energía (EDS) y Espectroscopía Infrarroja (FTIR), lo que permite asumir una síntesis exitosa al tratarse de un material amorfo, sin impurezas, y de acuerdo a la Ecuación de Echeverría tiene un tamaño de partícula de 13.01 nm. Mediante adsorción se logró inmovilizar 129.50 nmol de enzima por gramo de soporte, usando espectroscopía de fluorescencia se determina una degradación de 93.19% de ciprofloxacino (CIP) después de 5 minutos de reacción a pH 3 con una concentración de enzima inmovilizada de  $5 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ , adicionalmente la enzima inmovilizada degradó 93.19% en el primer ciclo de reacción, 51.52%, 23.56%, 18.22%, 16.41%, 11.62% y 6.93% en ciclos subsecuentes.

## INTRODUCCIÓN

La presencia de antibióticos en cuerpos de agua se ha descrito desde hace algunos años. Se ha detectado presencia de CIP en agua de grifo en Guangzhou y Macao, China (Wang *et al.*, 2010), agua superficial en Ríos: Pearl, Yellow, Hai y Liao, China (Peng *et al.*, 2011), Jarma, Manzanares, Guadarrama, Henares, Tago, España (Valcárcel *et al.*, 2011), agua subterránea en Delta del río Llobregat, España (Cabeza *et al.*, 2012). Dentro de los procesos de biodegradación se ha reportado el uso de enzimas de distintos organismos tanto libres como inmovilizadas para la degradación de distintas familias de antibióticos (Blánquez *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2021). En esta investigación se propone sintetizar un catalizador híbrido basado en la enzima cloroperoxidasa inmovilizada en SiO<sub>2</sub> para la eliminación de CIP en agua.

## METODOLOGÍA

Se sintetizó SiO<sub>2</sub> mediante el método sol-gel con una relación estequiométrica de 1:26:6 de TEOS: agua:etanol usando ácido fluorhídrico como agente gelificante. El producto final se caracteriza mediante DRX, MEB, EDS y FTIR. La inmovilización se realizó mediante adsorción (Terrés *et al.*, 2008). La CPO inmovilizada se recuperó por centrifugación, el rendimiento de inmovilización se determinó por diferencia, a 398 nm con un coeficiente de extinción molar de  $\epsilon = 85\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$  (Libby *et al.*, 1989).

Se determinaron V<sub>max</sub> y K<sub>m</sub> a distintas concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 3  $\mu\text{M}$  de CIP, 20 mM de KCl y  $2.3 \times 10^{-11}$  moles de CPO libre e inmovilizada, en buffer fosfato 60 mM pH 3 mediante la disminución de la emisión del CIP vs tiempo a 277 nm de excitación y 450 nm de emisión. Se realizaron ciclos de reacción con CPO inmovilizada, 3  $\mu\text{M}$  de CIP, 0.375 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y 20 mM de KCl en buffer fosfato 60 mM pH 3 con cinco minutos de reacción. Los resultados se reportan como el porcentaje de degradación de CIP.

## DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Se sintetizó 5.76 g de SiO<sub>2</sub>. Mediante DRX se determinó que es un sólido amorfo con tamaño de partícula promedio de 13.01 nm. Mediante EDS se determina una composición química elemental de 43% silicio y 56.69% oxígeno p/p, sin impurezas. Mediante MEB con electrones secundarios a x1000, x3000 y x5000 se aprecian tamaños de partículas variados con geometría irregular. Mediante FTIR se obtienen dobles picos a 2361 y 2338 nm indicando la presencia de CO<sub>2</sub> atmosférico. Para el pico ubicado a 1077 nm se ha reportado Si-O *Stretching* y Si-O-Si *Rocking*, *Stretching* y *Antisymmetric Stretching*. Para los picos 985 y 933 nm se ha reportado Si-OH *Stretching*. Para el pico 804 nm se ha reportado Si *Stretching* y Si-O *Bending* (Ulagappan *et al.*, 2000; Hamelmann *et al.*, 2005; Baruch *et al.*, 2015; McIntosh *et al.*, 2017).

**Tabla 1.** Ajuste de Michaelis-Menten de velocidad enzimática vs distintas concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> con enzima libre y enzima inmovilizada.

	V <sub>max</sub> (mol-CIP mol-CPO <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	K <sub>m</sub> (mM)
Enzima libre	411.581	0.037
Enzima inmovilizada	145.020	0.013

Se logró inmovilizar 128.05 nmol de enzima por gramo de soporte, cantidad similar a ensayos reportados (Terrés *et al.*, 2008). Se obtuvo una V<sub>max</sub> de 411.581 y 145.020 mol-CIP mol-CPO<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup> y una K<sub>m</sub> de 0.037 y 0.013 mM para la CPO libre y CPO inmovilizada respectivamente (Tabla 1). Se aprecia que tanto la velocidad como la K<sub>m</sub>



disminuyeron, algo que era esperado ya que al inmovilizar enzimas regularmente se pierde actividad catalítica, sin embargo, se gana estabilidad y reusabilidad (Cao, 2006). En la evaluación de la reusabilidad se obtuvo 93.19% en el primer ciclo de reacción, 51.52%, 23.56%, 18.22%, 16.41%, 11.62% y 6.93% en ciclos subsiguientes.

### CONCLUSIONES

Se logró sintetizar correctamente el SiO<sub>2</sub> y posteriormente inmovilizar la CPO en el material, la CPO inmovilizada perdió actividad catalítica, sin embargo, es posible reutilizarla ya que al estar inmovilizada puede recuperarse. Bajo las condiciones ensayadas se logró un alto porcentaje de degradación, de 93.19 % con una baja cantidad de CPO inmovilizada, 2.3x10<sup>-11</sup> moles, y en un corto tiempo de cinco minutos de reacción, con esto se logra lo buscado al inicio de la investigación, obteniendo una alta degradación con pocos recursos y tiempo.

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece al CONACYT por la beca otorgada (CVU 1050808) para estudios de Maestría en Ciencias Ambientales en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

### REFERENCIAS

- Baruch, M. F., Pander III, J. E., White, J. L., & Bocarsly, A. B. (2015). Mechanistic insights into the reduction of CO<sub>2</sub> on tin electrodes using in situ ATR-IR spectroscopy. *ACS Catalysis*, 5(5), 3148-3156.
- Blázquez, A., Guillén, F., Rodríguez, J., Arias, M. E., & Hernández, M. (2016). The degradation of two fluoroquinolone-based antimicrobials by SIA, an alkaline laccase from *Streptomyces ipomoeae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(3), 52.
- Cabeza, Y., Candela, L., Ronsa, D., & Teijón, G. (2012). Monitoring the occurrence of emerging contaminants in treated wastewater and groundwater between 2008 and 2010. The Baix Llobregat (Barcelona, Spain). *Journal of hazardous materials*, 239, 32-39. doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.07.032.
- Cao, L. (2005). Introduction: Immobilized enzymes: Past, present and prospects. *Carrier-bound immobilized enzymes: principles, application, and design*, 1, 1-52.
- Hämelmann, F., Heinzmann, U., Szekeres, A., Kirov, N., & Nikolova, T. (2005). Deposition of silicon oxide thin films in TEOS with addition of oxygen to the plasma ambient: IR spectra analysis. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 7(1), 389-392.
- Li, R., Zhou, T., Khan, A., Ling, Z., Sharma, M., Feng, P., ... & Liu, P. (2021). Feed-additive of bioengineering strain with surface-displayed laccase degrades sulfadiazine in broiler manure and maintains intestinal flora structure. *Journal of Hazardous Materials*, 406, 124440.
- Libby, R. D., Rotberg, N. S., Emerson, J. T., White, T. C., Yen, G. M., Friedman, S. H., & Goldowski, R. (1989). The chloride-activated peroxidation of catechol as a mechanistic probe of chloroperoxidase reactions: Competitive activation as evidence for a catalytic chloride binding site on compound I. *Journal of Biological Chemistry*, 264(26), 15284-15292.
- Peng, X., Zhang, K., Tang, C., Huang, Q., Yu, Y., & Cui, J. (2011). Distribution pattern, behavior, and fate of antibacterials in urban aquatic environments in South China. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(2), 446-454.
- Terres, E., Montiel, M., Le Borgne, S., & Torres, E. (2008). Immobilization of chloroperoxidase on mesoporous materials for the oxidation of 4, 6-dimethylidibenzothiothiophene, a recalcitrant organic sulfur compound present in petroleum fractions. *Biotechnology Letters*, 30(1), 173-179.
- Ulagappan, N., & Frei, H. (2000). Mechanistic study of CO<sub>2</sub> photoreduction in Ti silicalite molecular sieve by FT-IR spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry A*, 104(33), 7834-7839.
- Valcarlos, Y., Alonso, S. G., Rodríguez-Gil, J. L., Gil, A., & Catalá, M. (2011). Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. *Chemosphere*, 84(10), 1336-1348. doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.05.014.
- Wang, Q. J., Mo, C. H., Li, Y. W., Gao, P., Tai, Y. P., Zhang, Y., ... & Xu, J. W. (2010). Determination of four fluoroquinolone antibiotics in tap water in Guangzhou and Macao. *Environmental Pollution*, 158(7), 2350-2358.