



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

***“DESARROLLO DE MATERIALES TiO_2 MODIFICADOS
CON ESTAÑO PARA DEGRADACIÓN DE FÁRMACOS Y
SU EFECTO TOXICOLÓGICO EN ESPECIES
ACUÁTICAS”***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRO EN CIENCIA DE MATERIALES

PRESENTA:

I.Q. ADRIAN ALCANTARA COBOS

DIRIGIDA POR:

DRA. DORA ALICIA SOLÍS CASADOS
DR. LEOBARDO MANUEL GÓMEZ OLIVÁN
DRA. RUBÍ ROMERO ROMERO



TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO

ABRIL 2016

INDICE

Dedicatorias	v
Agradecimientos	vi
Abreviaturas y acrónimos	vii
Resumen	viii
Abstract	ix
CAPITULO 1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Introducción	2
1.2 Justificación	3
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos específicos	4
1.4 Hipótesis.....	4
CAPITULO 2 MARCO TEÓRICO	5
2.1 Antecedentes	6
2.1.1 Generalidades del agua	6
2.1.2 Contaminación de las aguas por agentes químicos	7
2.1.3 Contaminación del agua por la industria farmacéutica	9
2.2 Tecnologías avanzadas de oxidación	10
2.3 Semiconductores	11
2.3.1 Estructura electrónica de los sólidos	11
2.3.2 Semiconductores intrínsecos	13
2.3.3 Semiconductores extrínsecos	13
2.4 Óxido de titanio	14
2.5 Fotocatálisis heterogénea	18
2.6 Método de síntesis del fotocatalizador	21
2.7 Factores que influyen en la actividad fotocatalítica	22
2.7.1 Energía de banda prohibida, energía de la banda de conducción y energía de la banda de valencia	22
2.7.2 Características superficiales y morfológicas de las partículas e impurezas	23
2.7.3 Concentración de fotocatalizador	24
2.7.4 Temperatura y pH	25

2.8 Contaminantes emergentes	25
2.8.1 Antiinflamatorios no esteroideos	26
2.9 Características fisicoquímicas de los fármacos.....	27
2.9.1 Paracetamol	27
2.9.2 Ibuprofeno	29
2.9.3 Diclofenaco.....	30
2.9.4 Naproxeno	31
2.10 Evaluación de la toxicidad	32
2.10.1 Organismo bioindicador	33
2.10.2 <i>Hyaella azteca</i>	33
2.11 Estrés oxidativo	34
2.11.1 Daño producido por estrés oxidativo	35
2.11.2 Mecanismo de defensa antioxidante.....	38
CAPITULO: 3 CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL FOTOCATALITICO	40
3.1 Microscopia electrónica de barrido (MEB).....	41
3.2 Espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (EDS)	42
3.3 Espectroscopia Raman	42
3.4 Espectroscopia infrarroja	44
3.5 Espectroscopía ultravioleta-visible (Uv-vis).....	46
3.6 Determinación del ancho de banda prohibida (E_g)	47
3.7 Reflectancia	49
3.7.1 Método de Reflectancia difusa (Kubelka Munk).....	49
3.8 Difracción de Rayos X	50
3.8.1 Método Rietveld	54
CAPITULO: 4 DESARROLLO EXPERIMENTAL	56
4.1 Método de síntesis.....	57
4.1.1 Método sol-gel	57
4.1.2 Síntesis del fotocatalizador Ti-Sn(x).....	58
4.2 Caracterización de catalizadores Ti-Sn(x).....	60
4.2.1 Microscopia Electrónica de Barrido	60
4.2.2 Espectroscopia Raman	61
4.2.3 Difracción de rayos X	61
4.2.4 Espectroscopia Uv-Vis.....	62

4.2.5 La espectroscopia de infrarrojo.....	63
4.3 Muestreo de efluente industrial.....	63
4.3.1 Caracterización fisicoquímica de las aguas del efluente industrial.....	64
4.3.2 Cuantificación de AINE´s por cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas (LC-MS/MS).....	64
4.4 Evaluación de la actividad fotocatalítica	66
4.5 Evaluación toxicológica	67
4.5.1 Obtención, mantenimiento y reproducción de los organismos de prueba	67
4.5.2 Preparación del sedimento artificial.....	68
4.5.3 Sistemas de pruebas	68
4.5.4 Determinación de la toxicidad aguda (CL ₅₀).....	68
4.5.5 Determinación de la toxicidad sub-aguda	69
CAPITULO: 5 DISCUSIÓN DE RESULTADOS	74
5.1 Evaluación microestructural.....	75
5.1.2 Espectroscopia infrarroja.....	75
5.1.3 Difracción de rayos X	76
5.1.4 Microscopia electrónica de barrido	78
5.1.5 Espectroscopia Raman	79
5.2 Calculo de la energía de banda prohibida de catalizadores Ti-Sn(x).....	80
5.3 Caracterización fisico-quimica de las aguas residuales.....	82
5.4 Comportamiento fotocatalítico de las formulaciones Ti-Sn (x) en la degradación de productos farmacéuticos contenidos en las aguas residuales de una industria.....	84
5.5 Evaluación de la toxicidad.....	91
5.5.1 Determinación de la CL ₅₀	91
5.5.2 Evaluación de estrés oxidativo.....	92
5.5.3 Hidroperóxidos.....	92
5.5.4 Lipoperoxidación.....	93
5.5.5 Superóxido dismutasa	94
5.5.6 Catalasa.....	95
5.5.7 Glutatión peroxidasa.....	96
CAPÍTULO 6 CONCLUSIONES	97
6.1 Conclusiones	98

Bibliografía 99

Abreviaturas y acrónimos

Uv	Ultravioleta
Ti-Sn	Polvos de TiO ₂ con estaño
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
DRX	Difracción de rayos X
MEB	Microscopia electrónica de barrido
RAMAN	Espectroscopia Raman
IR	Espectroscopia de Infrarrojo
TAO	Tecnologías avanzadas de oxidación
FH	Fotocatálisis heterogénea
SC	Semiconductor
BV	Banda de valencia
BC	Banda de conducción
E _{BC}	Energía de la banda de conducción
E _{BV}	Energía de la banda de valencia
IR	Infrarrojo
TAO	Tecnologías avanzadas de oxidación
BV	Banda de valencia
BC	Banda de conducción
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
SOD	Superóxido dismutasa
NOM	Norma Oficial Mexicana
SEMARNAT	Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales
rpm	Revoluciones por minuto
CLAR	Cromatografía líquida de alta resolución
IES	Ionización por electrospray
COT	Carbono orgánico total
CL ₅₀	Concentración letal media
APA	Asociación de protección ambiental
NOAEL	Límite de la concentración donde se observan efectos nocivos en el organismo
CEM	Coefficiente de extinción molar
EDTA	Ácido Etildiaminotetraacético
EDS	Espectroscopia de dispersión de electrones
DQO	Demanda química de oxígeno

Resumen

En este trabajo se reporta la preparación por el método sol-gel de catalizadores de TiO_2 modificado con diferentes cantidades de Sn, $\text{Ti-Sn}(x)$ con relaciones molares $x = \text{SnO}_2 / [\text{SnO}_2 + \text{TiO}_2] = 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, \text{ y } 0.5$. Los resultados revelan que el método de síntesis favorece la formación de TiO_2 en la fase anatasa y que la incorporación de estaño en relaciones molares arriba de 0.3 promueve la formación de la fase cristalina como la rutilo, la relación anatasa:rutilo puede variar en función del contenido de estaño. Se evaluó el desempeño fotocatalítico de los catalizadores preparados en reacciones de degradación de AINEs presentes en aguas residuales provenientes de una industria farmacéutica, que contienen por separado paracetamol, diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno. Los resultados muestran un comportamiento selectivo en función del contenido de estaño en el catalizador para la degradación de un fármaco específico, las relaciones molares que presentaron mayor actividad catalítica son $x = 0.0, 0.1, 0.2 \text{ y } 0.3$.

La evaluación de la toxicidad en la mezcla de fármacos resulto ser muy prometedora con respecto al tratamiento ya que se observó un aumento en la CL_{50} , lo cual indica que el organismo es más resistente a las aguas tratadas por el proceso de fotocátalisis y por lo tanto los resultados sugieren un decremento en la toxicidad. Es importante resaltar que en las evaluaciones de los parámetros de estrés oxidativo no se muestra diferencia significativa entre los organismos testigos y los expuestos a la mezcla de fármacos esto nos hace pensar que el tratamiento puede ser usado en un efluente real sin peligro de generar toxicidad en la especies que en el habitan.

Abstract

This paper reports the preparation by the sol-gel TiO_2 catalysts modified with different amounts of Sn (Ti-Sn (x)) with molar ratios $x = \text{SnO}_2 / [\text{SnO}_2 + \text{TiO}_2]$ method = 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, and 0.5. The results show that the method of synthesis favors the formation of TiO_2 in the anatase phase and the addition of tin in molar ratios above 0.3 promotes the formation of crystalline phase as rutile, a percentage that may vary tin content. The photocatalytic performance of the catalysts prepared in degradation reactions of AINEs (from the Spanish Antiinflamatorios No Esteroideos) present in wastewater from a pharmaceutical company, separately containing paracetamol, diclofenac, ibuprofen and naproxen were evaluated. The results show a selective behavior based on the content of tin in the catalyst for the degradation of a specific drug, the molar ratios showed higher catalytic activity are $x = 0.0, 0.1, 0.2$ and 0.3 .

Furthermore the evaluation of toxicity in drug mixture turned out to be very promising regarding treatment since an increase in LC_{50} was observed, indicating that the body is more resistant to treated by photocatalysis process waters and therefore there is a decrease in toxicity is important to note that evaluations of oxidative stress parameters shown no significant difference between the control bodies and exposed to the mixture of drugs that makes us think that the treatment can be used in a real effluent without danger of generating toxicity species that therein.

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción

En las industrias farmacéuticas se generan residuos, en su mayoría líquidos, los cuales son perjudiciales para la salud y el medio ambiente. Esta problemática motivó la realización del estudio del proceso de fotocátalisis con radiación Uv y TiO_2 modificado con estaño como alternativa para el tratamiento de los efluentes de estas industrias. La fotocátalisis heterogénea con este material constituye una de las alternativas de tratamiento para estos efluentes, ya que es capaz de mineralizar (Convertir el Carbono orgánico en CO_2) los compuestos o mezclas contaminantes.

Los tratamientos convencionales resultan, en algunos casos, inadecuados por el rango de concentraciones que estos manejan o necesitan un tratamiento adicional para lograr el objetivo, además, no se logra la degradación completa de contaminantes de baja o nula biodegradabilidad, o solo se transfiere el contaminante de una fase a otra como en el caso de la adsorción física con carbón activado. Para lograr el cumplimiento de los objetivos, se delimitó el trabajo a las aguas de la industria farmacéutica que contenían los siguientes fármacos diclofenaco, naproxeno, ibuprofeno y paracetamol.

Los AINEs son altamente consumidos en todo el mundo debido a su eficacia como analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios por lo que hay diversos estudios sobre los efectos que causan en organismos vivos. El propósito de este estudio fue evaluar la toxicidad de las aguas en organismos centinela *Hyalella azteca*.

1.2 Justificación

Existen aproximadamente 12 mil kilómetros de agua contaminada en el planeta y 2.2 millones de personas mueren por enfermedades relacionadas a la falta de agua limpia según la Organización mundial de la Salud. Debido a esto en los últimos años los procesos de degradación de contaminantes orgánicos han despertado gran interés y la búsqueda de materiales que puedan ser utilizados para degradarlos como los fotocatalizadores, es importante que sean activos en la región visible del espectro electromagnético se ha incrementado, considerando que el espectro solar está constituido por 45% de radiación visible (400-700nm) se pretende desarrollar catalizadores que aprovechen una mayor componente del espectro solar.

El proceso de fotocatalisis se basa en la transferencia de carga a través de la interfaz entre el semiconductor y la solución acuosa contaminada. En la interfaz de estos dos componentes se da una redistribución. Uno de los aspectos más relevantes es la generación del par electrón-hueco que es el principio por el cual se fundamenta la fotocatalisis, ya que por este modelo se explica la absorción de los fotones y la distribución de diferentes estados electrónicos se puede dar la degradación de moléculas orgánicas, colorantes y metales. Debido al proceso de recombinación de los pares electrón-hueco que se producen en el TiO_2 y que actúan como agentes reductores u oxidantes ocurre en nano segundos es necesario dopar las partículas de TiO_2 con estaño de esta manera aumenta su eficiencia fotocatalítica y además se pueden obtener materiales fotoactivos con la luz solar.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Sintetizar un material fotocatalítico para la degradación de fármacos de la industria farmacéutica, sensible a la luz solar e inofensivo en especies acuáticas.

1.3.2 Objetivos específicos

-Introducir diferentes contenidos de Sn en la red cristalina del material fotocatalítico de TiO_2

- Caracterizar las propiedades estructurales, texturales, composición química y de morfología superficial del material obtenido por diferentes técnicas (DRX, MEB,IR y RAMAN).

- Evaluar la toxicidad de las aguas después del tratamiento sobre organismos acuáticos (*Hyalella azteca*).

1.4 Hipótesis

La incorporación de Sn a la red cristalina del TiO_2 permitirá obtener un material fotocatalíticamente activo y sensible a la luz visible.

La toxicidad de las aguas contaminadas con AINEs, disminuirá después del tratamiento fotocatalítico siendo este inofensivo sobre especies acuáticas.

CAPITULO 2 MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Generalidades del agua

El agua es uno de los recursos naturales fundamentales y junto con el aire, la tierra y la energía constituye los cuatro recursos básicos en que se apoya el desarrollo. La importancia de la calidad del agua ha tenido un lento desarrollo. Hasta finales del siglo XX no era reconocida como origen de numerosas enfermedades infecciosas. Hoy en día, la importancia tanto de la cantidad como de la calidad del agua está fuera de toda duda. Cabe resaltar, que sin este importante recurso no pueden vivir ni las plantas, ni los animales, ni el ser humano; es por esto que tiene gran importancia su conservación y preservación. El agua es uno de los compuestos más abundantes de la naturaleza y cubre aproximadamente las tres cuartas partes de la superficie de la Tierra. Sin embargo, en contra de lo que pudiera parecer, diversos factores limitan la disponibilidad de agua para el uso humano. Más del 97% de agua total del planeta se encuentra en los océanos y otras masas salinas, y no están disponibles para muchos usos. Del 3% restante, más del 2% se encuentra en estado sólido, resultando prácticamente inaccesible [1].

El uso de los recursos naturales provoca un efecto sobre los ecosistemas de donde se extraen y en los ecosistemas en donde se utilizan. El caso del agua es uno de los ejemplos más claros: un mayor suministro de agua significa una mayor carga de aguas residuales [2].

Hoy en día, se está en la búsqueda del desarrollo sostenible (entendiéndose este como aquel que permita compatibilizar el uso de los recursos con la conservación de los ecosistemas) [2], con el fin de satisfacer las necesidades actuales pero sin comprometer los recursos; en este caso uno de los más importantes y vitales como es el agua. Hay que considerar también que el hombre influye sobre el ciclo del agua de dos formas distintas, bien directamente mediante extracción de las mismas y posterior vertido de aguas contaminadas como se ha dicho, o directamente alterando la vegetación y la calidad de las aguas.

2.1.2 Contaminación de las aguas por agentes químicos

Son los efectos de la descarga de aguas residuales, que cambia la disponibilidad de nutrientes del agua, y por tanto, el balance de especies que pueden subsistir. El aumento de materia orgánica origina el crecimiento de especies heterótrofas en el ecosistema, que a su vez provoca cambios en las cadenas alimentarias. Generalmente, la mayor preocupación sobre la calidad del agua es ahora la presencia potencial de contaminantes químicos. Estos pueden incluir productos químicos orgánicos e inorgánicos y metales pesados, procedentes de fuentes industriales, agrícolas y de uso urbano, los cuales se agrupan en la (Tabla 2.1) [1].

Tabla 2.1 Grupos de contaminantes del agua.

Tipos de contaminante	Impacto
Elementos traza	Salud, biota acuática, toxicidad
Metales pesados	Salud, biota acuática, toxicidad
Metales enlazados químicamente	Transporte de metales
Radionúclidos	Toxicidad
Contaminantes inorgánicos	Salud, biota acuática
Nutrientes de Algas	Eutrofización
Sustancias que dan acidez, alcalinidad, salinidad (en exceso)	Calidad del agua, vida acuática
Contaminantes orgánicos traza	Calidad del agua, vida acuática, toxicidad
Bifenilos policlorados	efectos biológicos
Plaguicidas	Toxicidad, biota acuática, fauna
Residuos de petróleo	Efectos en la fauna, niveles de oxígeno
Alcantarillado, residuos humanos y de animales	Calidad del agua, niveles de oxígeno
Materia orgánica medida como demanda bioquímica de oxígeno	Calidad del agua, niveles de oxígeno
Patógenos	Efectos en la salud
Detergentes	Eutrofización, fauna, contaminación visual
Compuestos químicos carcinógenos	Incidencia de cáncer
Sedimentos	Calidad del agua, vida acuática, fauna
Sustancias que dan sabor, olor y color	Calidad del agua, vida acuática, contaminación visual

2.1.3 Contaminación del agua por la industria farmacéutica

La industria farmacéutica comprende la fabricación de medicamentos empleados para un uso terapéutico o profiláctico. Dentro de las materias primas de uso farmacéutico se encuentran los principios activos terapéuticos, los productos intermedios y los excipientes o sustancias auxiliares. El poder contaminante de esta industria química ésta la producción del principio activo es que consta de entre el 10 y el 20 % del total. En estos procesos se pueden diferenciar dos tipos de operaciones: las previas comprenderán etapas de molienda, mezcla, etc., y en general no resultan contaminantes. El segundo tipo engloba a aquellas etapas de producción específica de los principios activos farmacéuticos. Se trata de la parte más problemática respecto al medio ambiente. La producción de antibióticos conjuga los procedimientos químicos con los biológicos y microbiológicos [3].

El mayor impacto ambiental de la industria farmacéutica es el que se produce por el desecho de soluciones contaminantes en medio acuoso. La industria farmacéutica utiliza el agua para muchos fines distintos: medio de limpieza, como disolvente, para refrigerar, como producto de reacción y para uso general [3].

Después de estas operaciones el agua contaminada debe de tener un tratamiento por separación mecánica (precipitación, floculación, flotación o filtración) y la separación por adsorción química, adsorción biológica, destilación, extracción, neutralización, oxidación. A pesar del tratamiento los contaminantes no son removidos en su totalidad y esto se descarga en cuerpos de agua en donde causa gran daño al ecosistema [4].

2.2 Tecnologías avanzadas de oxidación

Bajo el término Tecnologías Avanzadas de Oxidación (TAOs) se engloba un conjunto de tecnologías de tratamiento de efluentes líquidos, gaseosos y sólidos capaces de transformar contaminantes en sustancias menos nocivas o mineralizarlos a compuestos inorgánicos simples y no tóxicos. Las TAOs se sustentan en una gran variedad de procesos fisicoquímicos cuyo denominador común es generar drásticos cambios químicos en moléculas, átomos e iones. Esta característica de las TAOs se debe a que en ellas se producen especies inestables altamente oxidantes, tales como el radical hidroxilo (HO^\bullet), el anión radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet -}$) y el radical hidropéroxilo (HO_2^\bullet). El concepto de TAOs fue definido como “procesos que involucran la generación y uso de especies transitorias poderosas, principalmente el radical hidroxilo”. Este radical, posee un poder oxidante muy elevado y es capaz de atacar a casi todas las sustancias orgánicas [4].

La TAO utilizada en el presente trabajo es la denominada fotocatalisis heterogénea (FH). La FH es definida por la IUPAC como “el cambio en la velocidad de una reacción química o su iniciación por acción de radiación ultravioleta, visible o infrarroja en presencia de una sustancia (el fotocatalizador, habitualmente un semiconductor (SC) que absorbe luz en forma directa o indirecta a través de un sensibilizador y está involucrado en la transformación química de los demás participantes de la reacción”. Por su parte, el estado excitado del fotocatalizador interactúa repetidamente con los participantes de la reacción, formando intermediarios reactivos y regenerándose luego de cada ciclo de interacciones. Dado el papel central que tienen los sólidos semiconductores en dicha tecnología, antes de analizarla en detalle, se hará un resumen de la estructura y las propiedades de dichos sólidos [5].

2.3 Semiconductores

Los semiconductores constituyen una gran variedad de materiales cuya conductividad eléctrica es marcadamente menor que la de los metales y aumenta con la temperatura. En este capítulo, se presentará solamente un resumen de los aspectos más generales, particularmente los más importantes desde el punto de vista fotocatalítico [6].

2.3.1 Estructura electrónica de los sólidos

Las propiedades electrónicas de los sólidos se describen normalmente mediante el denominado “modelo de bandas”, en el cual un electrón es considerado moviéndose en el campo generado por los núcleos y por el resto de electrones. Cuando los átomos aislados se ensamblan para formar moléculas, sus orbitales atómicos dan lugar a la formación de orbitales moleculares. A medida que la atomicidad de la molécula aumenta, se incrementa el número de orbitales moleculares y de energías permitidas para los electrones que se ubican en ellos. La formación de una red cristalina tridimensional puede interpretarse como un caso límite de esta situación, en el cual el número de átomos que componen la “molécula” tiende a infinito. De esta forma, se origina una configuración electrónica con un gran número de estados deslocalizados con energías permitidas muy parecidas. Este alto grado de superposición de niveles energéticos da lugar a la formación de bandas continuas (Figura 2.1).

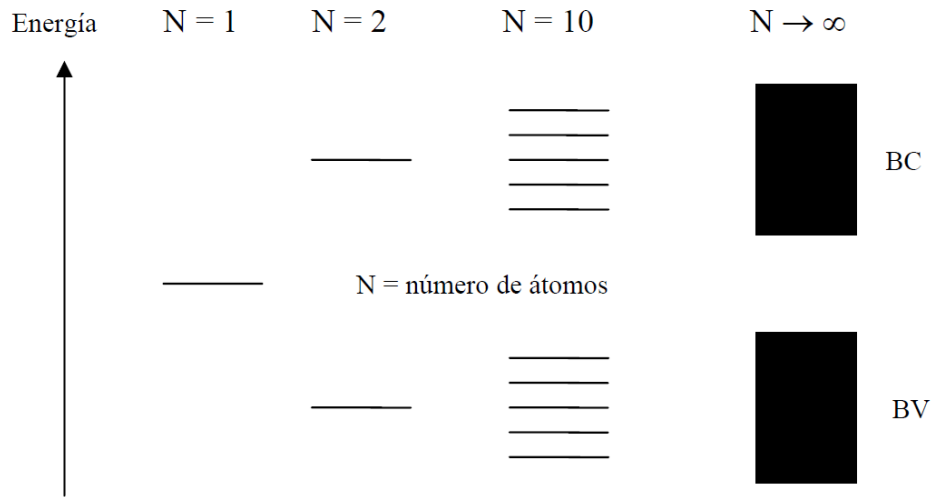


Figura 2.1 Representación esquemática del origen de la BC y la BV.

Los orbitales ligantes llenos forman la banda de valencia (BV), de menor energía, y los orbitales antiligantes vacíos dan origen a la banda de conducción (BC), de mayor energía. Estas bandas están separadas por una región de energías prohibidas o banda prohibida, cuyo ancho es la diferencia de energía (E_g) entre el mínimo de la BC (E_{BC}) y el máximo de la BV (E_{BV}). Este salto energético se denomina ancho interbanda o band gap Figura 2.2 [6].

$$E_g = E_{BC} - E_{BV}$$

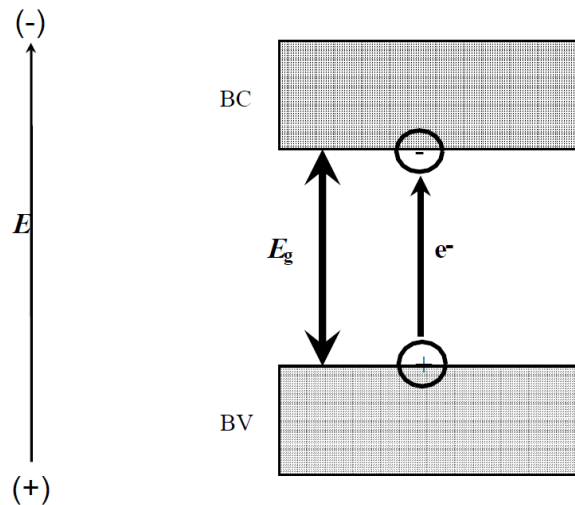


Figura 2.2 Representación esquemática del modelo de bandas de un SC.

2.3.2 Semiconductores intrínsecos

Para que haya conducción eléctrica debe haber electrones (e^-) en la BC y huecos (h^+ , ausencia de electrones) en la BV, siendo entonces el valor del band gap el que define el tipo de material.

Si $E_g = 0$, las bandas están superpuestas y aun en el cero absoluto habrá electrones en la BC (e^-_{BC}) y huecos en la BV (h^+_{BV}). Tal es el caso de los conductores.

Si $E_g > 0$, el material en el cero absoluto es un aislante, pero su conductividad aumentará con la temperatura a medida que su BC se vaya poblando de electrones. Por ejemplo, si $E_g \ll k_B T$, el material será un buen conductor aun a temperaturas relativamente bajas, pues los electrones podrán pasar de una banda a la otra con intercambio de muy poca energía. Si, por el contrario, el valor de E_g es grande, el material se comportará como un aislante a temperaturas relativamente altas. Los valores intermedios de E_g dan origen a los denominados semiconductores. El Si ($E_g = 1.14$ eV) y el Ge ($E_g = 0,67$ eV) son dos ejemplos de semiconductores. También existen óxidos y calcogenuros que se comportan como semiconductores [6].

2.3.3 Semiconductores extrínsecos

Otra forma de introducir electrones y huecos en un SC es agregándole pequeñas cantidades de donadores o aceptores de electrones, es decir átomos con exceso o defecto de electrones respecto de los que constituyen la red del SC. La sustitución de algunos átomos del sólido por estas impurezas (con una relación atómica del orden de 1/109) genera niveles localizados cuya energía cae en la región de banda prohibida. Los semiconductores de este tipo se denominan extrínsecos o degenerados [6].

Cuando se introduce un átomo donador, sus electrones en exceso se ubican en estados localizados con energía, levemente menor a la correspondiente al borde inferior de la banda de conducción. Estos átomos pueden oxidarse, inyectando electrones en la banda de conducción. Los semiconductores de esta clase se denominan de tipo n y sus portadores de carga son mayoritariamente electrones. En forma análoga, cuando se introduce una impureza aceptora, se generan niveles localizados vacíos de energía, ligeramente mayor a la correspondiente al límite superior de la BV. Estos átomos pueden reducirse tomando electrones de la BV y aumentando la densidad de huecos de la misma. En esta clase de semiconductores, los portadores de carga mayoritarios son los huecos y se denominan semiconductores de tipo p [6].

2.4 Óxido de titanio

El TiO_2 es por diversas razones el semiconductor más utilizado en aplicaciones ambientales, en primer lugar es porque muchos compuestos orgánicos tienen un potencial de oxidación por encima de la banda de valencia del óxido de titanio, y por este motivo pueden ser oxidados fotocatalíticamente por este material. En segundo lugar, el potencial redox del par $\text{H}_2\text{O}/\bullet\text{OH}$ se encuentran dentro del dominio del salto de banda del material. Además de la elevada resistencia del TiO_2 a la corrosión fotoinducida unida a su bajo costo e inocuidad hacen que este material sea el más idóneo para su aplicación en procesos de oxidación avanzada basados en fotocatalisis heterogénea [6].

El efecto fotocatalítico de dióxido de titanio se conoce desde 1972 cuando se observó que expuesto al sol, el TiO_2 podría producir disociación fotocatalítica del agua. Este comportamiento se debe a la pequeña fracción de radiación ultravioleta contenida en el espectro electromagnético solar (4%) para provocar una reacción de oxidación. La banda de energía prohibida de este material es de 3.2 eV, que corresponde a una radiación de longitud de onda inferior a 387 nm

(región ultravioleta), por lo que la estimulación energética a la que dan lugar los fotones UV es suficiente para generar el par e^-/h^+ y desencadenar la reacción redox [7].

El dióxido de titanio es un semiconductor de tipo n debido a que su estequiometría real es TiO_{2-x} y esto implica que existen cationes Ti^{3+} que actúan como agentes reductores cediendo electrones a la banda de conducción. De las tres fases cristalinas del dióxido de titanio existentes en la naturaleza: anatasa, rutilo y brookita, solo las dos primeras presentan actividad fotocatalítica, aunque la fase anatasa conduce por lo general a rendimientos mayores. Las diferencias en su red cristalina dan lugar a distintas densidades y estructuras de las bandas electrónicas, siendo responsables de su respectiva energía de banda prohibida de 3.2 eV para la anatasa y 3.0 eV para el rutilo de esta forma, el umbral de absorción de las fases anatasa y rutilo para muestras con elevada cristalinidad corresponden a longitudes de onda de 384 y 410 nm, respectivamente [8]. El origen de la mayor eficiencia de la anatasa es bastante controvertido, si bien ha sido atribuido a que la fase anatasa presenta un nivel de Fermi ligeramente más alto que el rutilo, capacidad más baja para absorber oxígeno y un grado de hidroxilación (número de grupos hidroxilos en la superficie) más alto [9]. Sin embargo, también existen algunos estudios en los que se indica que una mezcla de ambas fases anatasa/rutilo (70/30 o 75/25 %) es más activa que la anatasa. La discrepancia entre estos resultados podría deberse a que el tamaño del cristal tenga incluso más influencia en la fotoactividad del catalizador que la fase cristalina en la que se encuentra el óxido [10].

El primer paso del mecanismo fotocatalítico en la superficie del óxido de titanio consiste en la excitación de las partículas de TiO_2 por transferencia de carga con la formación de los pares e^-/h^+ , y la posterior reacción de los grupos hidroxilos coordinados con los átomos de Ti^{4+} presentes en la superficie de TiO_2 , con los huecos y electrones fotogenerados (en un tiempo de 100 ps en el caso de los electrones y 10 ns en el caso de los huecos). Los electrones capturados permanecen como centros Ti^{III} o $\text{Ti}^{\text{III}}\text{-OH}$, mientras que los huecos permanecen como centros Ti^{IV} ($\bullet\text{OH}$). Tanto los huecos como los electrones capturados pueden recombinarse con los e^- y los h^+ libres respectivamente, en un tiempo comprendido entre 10 y 100 ns, generando de nuevo la especie $\text{Ti}^{\text{IV}}\text{-OH}$. Asimismo esta especie también puede formarse por la oxidación y/o reducción de un sustrato sobre los grupos Ti^{IV} ($\bullet\text{OH}$), en un tiempo de 100 ns. Existen otras rutas, de carácter competitivo por las que los electrones y los huecos se recombinan y retornan a su estado fundamental. La recombinación del par de cargas viene acompañada de una liberación de energía en forma de calor o de radiación con longitud de onda igual o inferior a la original incidente. Este fenómeno supone un descenso de la eficiencia del fotocatalizador pudiendo ocurrir tanto dentro del volumen de semiconductor como en su superficie. Las reacciones que tienen lugar tras la activación de las partículas del TiO_2 por irradiación de un haz de luz con energía igual o superior a su energía de banda prohibida se recogen en la (Tabla 2.2).

Tabla 2.2 Reacciones en la superficie del TiO₂ irradiado.

$\text{TiO}_2 + h\nu \rightarrow e^-_{(\text{BC})} + h^+_{(\text{BV})}$	
<i>En la superficie</i>	$h^+_{(\text{BV})} + \text{Ti}^{\text{IV}}\text{-OH} \rightarrow \text{Ti}^{\text{IV}}(\bullet\text{OH})$ $e^-_{(\text{BC})} + \text{Ti}^{\text{IV}}\text{-OH} \rightarrow \text{Ti}^{\text{III}}\text{-OH}$
<i>En el interior del catalizador</i>	$e^-_{(\text{BC})} + \text{Ti}^{\text{IV}} \rightarrow \text{Ti}^{\text{III}}$
<i>Recombinación superficial</i>	$e^-_{(\text{BC})} + \text{Ti}^{\text{IV}}(\bullet\text{OH}) \rightarrow \text{Ti}^{\text{IV}}\text{-OH}$ $h^+_{(\text{BV})} + \text{Ti}^{\text{III}}\text{-OH} \rightarrow \text{Ti}^{\text{IV}}\text{-OH}$ $e^-_{(\text{BC})} + h^+_{(\text{BV})} \rightarrow \text{calor}$
<i>Transferencia de carga en la interfase</i>	$\text{Ti}^{\text{IV}}(\bullet\text{OH}) + \text{Red} \rightarrow \text{Ti}^{\text{IV}}\text{-OH} + \text{Red}\bullet^+$ $\text{Ti}^{\text{IV}}(\bullet\text{OH}) + \text{Ox} \rightarrow \text{Ti}^{\text{IV}}\text{-OH} + \text{Ox}\bullet^-$

Todos estos procesos actúan como desencadenantes de otra serie de reacciones dando lugar a la formación de especies altamente reactivas como radicales hidroxilo y/o aniones superóxido. Estas especies son capaces de reaccionar con la materia orgánica a través de reacciones redox que finalmente conducen a degradación. Así mismo cabe mencionar, que los huecos fotogenerados en la banda de valencia del TiO₂ pueden reaccionar directamente con las moléculas de contaminante absorbidas en la superficie del mismo, puesto que dicha reacción esta favorecida termodinámicamente. Sin embargo, y debido a la lenta cinética de la reacción anterior, el mecanismo principal de fotodegradación de compuestos orgánicos en fase acuosa en presencia de un semiconductor se produce a través del ataque de radicales como se muestra en la (Figura 2.3) [11].

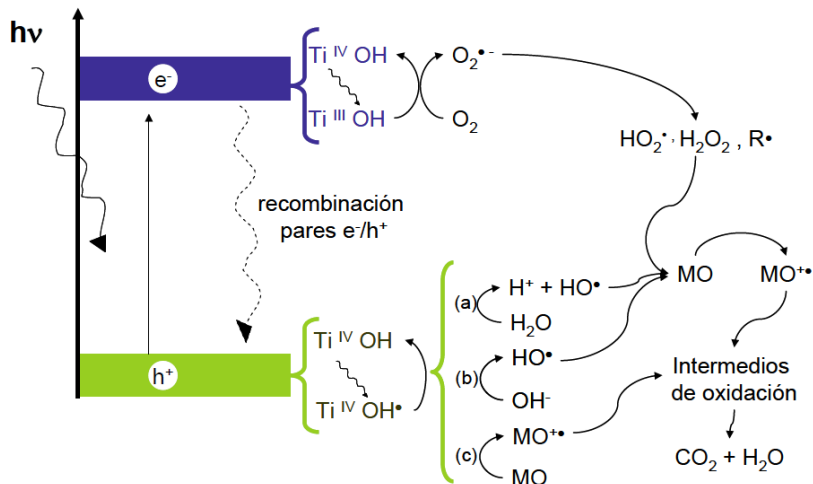


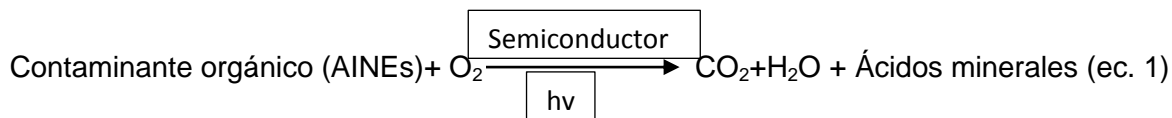
Figura 2.3 Mecanismo de fotodegradación de moléculas orgánicas en las partículas de TiO_2 .

2.5 Fotocatálisis heterogénea

La catálisis consiste en la alteración de la velocidad de una reacción química producida por la presencia de una sustancia adicional llamada catalizador, que no resulta químicamente alterada en el transcurso de la reacción. Mediante el uso de los catalizadores, se da lugar a reacciones más eficientes y selectiva que permiten eliminar subproductos y otros elementos de desecho de las reacciones convencionales, los catalizadores pueden ser recuperados del medio de reacción para ser reutilizados, disminuyendo el consumo energético del proceso donde se apliquen [12].

La fotocatálisis hace referencia a una reacción catalítica que involucra la absorción de luz por parte de un catalizador o sustrato. Una de las aplicaciones se encuentra en la resolución de problemas ambientales como podría ser la depuración de agua o de aire utilizando un semiconductor (TiO_2 , ZnO , SnO_2 , Fe_2O_3) sensible a la luz como catalizador. Por lo regular las fotorreacciones ocurren en la superficie del catalizador (interface líquido-sólido o

gas-sólido) respectivamente, de acuerdo a la reacción global de fotocatalisis heterogénea. (ec. 1).



El proceso se basa en la excitación de un sólido fotocatalizador (semiconductor de energía de banda prohibida considerable) sumergido en una solución, que mediante la absorción de energía radiante (visible o UV) origina reacciones simultáneas de oxidación y reducción en diferentes zonas de la región existente [12].

La etapa inicial del proceso consiste en la generación de pares electrón-hueco en las partículas del semiconductor (ec. 2) cuando un fotón con una energía $h\nu$ que iguala o supera la energía del salto de banda del semiconductor, E_g , incide sobre éste, se promueve un electrón, e^- de la banda de valencia (BV) hacia la banda de conducción (BC) generándose un hueco, h^+ , en la banda de valencia [12] :



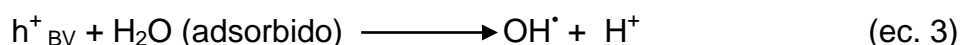
Los electrones que llegan a la banda de conducción pueden desplazarse dentro de la red del semiconductor. Así mismo, también se desplazan los lugares vacíos (los huecos) que han quedado en la banda de valencia. Entonces de forma continua absorbe un haz de luz suficientemente energético, se crean pares hueco-electrón (h^+ , e^-). De acuerdo a la (Figura 2.3), estos últimos deben migrar hacia la superficie y reaccionar con las especies hay adsorbidas siguiendo diferentes caminos, en el transcurso de su corto tiempo de vida media (inestable). Después los pares que no logren reaccionar, seguirán un proceso de recombinación acompañado de una disipación de energía en forma de calor, esto puede ocurrir en la superficie como en el seno de la partícula la fuerza impulsora del proceso de transferencia electrónica en el interfaz, es la diferencia de energía

entre los niveles del semiconductor y el potencial redox de las especies adsorbidas [12].

Es importante señalar que la recombinación es perjudicial para la eficiencia del proceso de fotocatalisis, porque reduce el número de electrones y huecos que pueden ser transferidos a las especies adsorbidas en la superficie del semiconductor, la captura de un electrón por parte de una especie A genera un anión radical A^- , mientras que la captura de un hueco por parte de una especie D genera un catión radical D^+ .

Estos iones radicales son muy reactivos y pueden reaccionar entre ellos o con otros adsorbidos, e incluso pueden difundirse desde la superficie del semiconductor hacia el interior de la solución y participar en la reacción química en el seno de la fase acuosa.

Aplicando la fotocatalisis en el tratamiento de aguas, los huecos fotogenerados pueden oxidar al contaminante por contacto con la superficie del catalizador, o pueden reaccionar primero con especies como el agua y el radical OH^\bullet , que posteriormente podrán oxidar al contaminante (ec. 3) y (ec. 4).



Al mismo tiempo los electrones generados reaccionan con algún agente oxidante (generalmente oxígeno), debido a que los procesos fotocatalíticos se llevan a cabo en ambientes aerobios aunque se pueden agregar otras especies como el peróxido para favorecer esta reacción, con esto la eficiencia global del proceso puede establecerse mediante las siguientes reacciones (ec. 5) y (ec. 6):



2.6 Método de síntesis del fotocatalizador

Los sólidos con tamaño de partícula muy pequeños no pueden ser separados o tratados por métodos convencionales debido a que los reactivos no están mezclados en escala atómica. El método sol gel resuelve este problema alcanzando una mezcla en escala atómica de los reactivos, en gas, en líquido incluso en su fase sólida. Este método permite que el producto final tenga características de partículas nanométricas: buena distribución de tamaño de partícula, alta área superficial, homogeneidad y pureza.

El método sol-gel es una alternativa muy viable para producir nanocristales, compósitos y polvos compuestos de una manera eficiente y económica. Los polvos nanocristalinos pueden ser obtenidos a mucho menos temperaturas que en otros métodos [13].

La química sol-gel se basa en reacciones de polimerización inorgánica durante el desarrollo de las cuales una solución de precursores moleculares orgánicos se transforma progresivamente en una red tridimensional. A través de su uso es posible la obtención de materiales con distintos estados de agregación tales como polvos, fibras, películas o monolitos. Dichos materiales poseen un amplísimo potencial de aplicaciones tecnológicas, destacando la fabricación de vidrios de especialidad, de cerámicos y de sólidos con aplicaciones en catálisis. Considerando que los disolventes utilizados son generalmente líquidos de baja viscosidad, es posible la obtención de un alto grado de homogeneidad a escala molecular en los óxidos finales. Por otro lado, la utilización de precursores sintéticos garantiza una muy alta pureza en las preparaciones ya que no existen las restricciones causadas por la posible presencia de contaminantes contenidos en las materias primas naturales. No obstante, durante la utilización de este método ocurren fenómenos cuyos efectos pueden ser o no benéficos, dependiendo de la aplicación particular que se desee dar al producto. Dentro de las principales desventajas de esta vía pueden citarse el encogimiento de la

estructura polimérica inorgánica, proceso relacionado con la gelación y secado del gel, la necesidad de remover remanentes orgánicos indeseados, tales como restos de disolvente, el alto costo de las materias primas y la duración del proceso completo de síntesis [14].

2.7 Factores que influyen en la actividad fotocatalítica

La actividad fotocatalítica de un semiconductor en suspensión acuosa depende de diversos factores que, en principio, pueden ser clasificados en dos grandes grupos: los que dependen del sólido y los que dependen de la solución en la que el mismo está suspendido, aunque es importante recordar que ambos tipos de factores no son totalmente independientes sino que muchos se modifican con la interacción sólido-solución. Entre los primeros, están el E_g , las energías de las BC y BV, las características superficiales y morfológicas de las partículas y las impurezas, mientras que el pH, la presencia de O_2 y demás gases o sustancias disueltas, son los más importantes de los segundos. Asimismo, también deben ser tomados en cuenta factores de carácter más general, como la temperatura, la intensidad de la radiación y la concentración del fotocatalizador [15].

2.7.1 Energía de banda prohibida, energía de la banda de conducción y energía de la banda de valencia

El E_g determina la longitud de onda máxima a partir de la cual el semiconductor puede absorber luz. Valores de E_g bajos tendrían la ventaja de que la fotoexcitación podría ser producida por luz visible, lo que implicaría un gran aprovechamiento de la luz solar, pero, como contrapartida, serían muy pocas las especies oxidables y/o reducibles. Por este motivo, es deseable un valor alto de E_g , ya que permite al fotocatalizador oxidar y reducir un gran número de especies. En este caso, se requiere luz Uv para la generación del par e^-/h^+ , con

lo cual, para la aplicación del proceso fotocatalítico, es necesario el uso de fuentes luminosas artificiales, que son relativamente económicas, y pueden emplear sistemas de fotorreactores muy sencillos [16].

Una vez que el fotocatalizador es activado, las reacciones que pueda sensibilizar dependerán, como ya se mencionó, de los potenciales redox de las mismas y de los niveles de energía de la BV y BC, es decir, de los niveles redox de h^+ y e^- respectivamente.

2.7.2 Características superficiales y morfológicas de las partículas e impurezas

La velocidad de recombinación de pares e^-/h^+ generados por la absorción de un fotón es un factor que puede limitar la fotorreactividad y, generalmente, es el que más la afecta [17]. Además, diferentes muestras de un mismo tipo de material semiconductor pueden variar en sus actividades fotocatalíticas. Estos cambios se atribuyen a las diversas morfologías y fases cristalinas presentes, área superficial específica, tamaño de agregados de partículas, densidad superficial de grupos hidroxilo (HO^-), propiedades ácido-base superficiales, porosidad, cantidad de radiación luminosa absorbida por la suspensión, grado de dispersión de fotones, etc., las que podrían surgir como resultado de los distintos procedimientos de síntesis y tratamientos posteriores a que hayan sido sometidas las muestras [17].

El tamaño de los agregados de partícula juega un papel muy importante en la actividad fotocatalítica. Por un lado, un mayor tamaño de partícula facilita su separación del medio. Es importante señalar que el tiempo de vida de un par e^-/h^+ en una partícula de semiconductor es generalmente de nanosegundos [18]. El proceso de recombinación en el volumen será un proceso competitivo en partículas con tamaño de micrómetros o mayores. Dado que la fotocatalisis es un proceso que ocurre en la superficie de las partículas, son deseables grandes

áreas para facilitar la adsorción del sustrato. Por otro lado, la ausencia de porosidad facilita la iluminación homogénea de las partículas [19].

El TiO_2 interviene en diferentes procesos que dependen en alto grado de sus propiedades morfológicas y superficiales, y, eventualmente, de sus impurezas, por lo tanto, dichos procesos se desarrollarán en distinto grado influyendo de diferente manera en la fotocatalisis [20]. Todos aquellos parámetros que afecten el estado de la superficie, tales como grado de hidratación/hidroxilación, cristalinidad, carga generada por exceso de especies catiónicas o aniónicas en la superficie o pretratamiento de las muestras, pueden influir en la actividad fotocatalítica del SC; también influyen aquéllos que causen perturbaciones en el volumen, como presencia de dopantes o impurezas [21]. Además, la carga del semiconductores con iones metálicos puede producir fotocatalizadores con una mejor relación entre velocidad de atrapamiento y de recombinación [22].

2.7.3 Concentración de fotocatalizador

Cuando se analiza la dependencia de la velocidad inicial de una reacción de fotocatalisis heterogenea con la concentración de catalizador se observan tres comportamientos bien diferenciados. En la región de bajas concentraciones hay una dependencia lineal directa de la velocidad con la concentración de fotocatalizador. Este comportamiento continúa hasta un valor límite de concentración, a partir del cual la velocidad se mantiene constante. Este límite depende del SC, de la reacción fotocatalizada, de la agitación y de la geometría del reactor. Estos últimos dos parámetros tienen gran influencia en el nivel de iluminación que reciben las partículas; por lo tanto, una geometría adecuada y un buen grado de agitación aumentarán la eficiencia del proceso. Finalmente, a concentraciones muy altas de fotocatalizador, las partículas producen un efecto pantalla que disminuye la eficiencia. Particularmente para TiO_2 , la concentración óptima está en el intervalo 0,1 a 5,0 g L⁻¹ [23].

2.7.4 Temperatura y pH

La variación de la temperatura no afecta significativamente la velocidad de las reacciones fotocatalíticas. Aparentemente el pH no afecta notablemente este tratamiento ya que se han obtenido buenos resultados empleando TiO_2 a diferentes rangos de pH, pero también se ha comprobado que éste afecta el tamaño de las partículas, la carga superficial y las posiciones de los máximos y mínimos de las bandas del TiO_2 debido a su carácter anfotérico. Debe trabajarse a un pH diferente al punto isoeléctrico para el TiO_2 (pH 7), donde la superficie del óxido no está cargada. [24].

2.8 Contaminantes emergentes

Estos se definen como contaminantes previamente desconocidos o no reconocidos como tales cuya presencia en el medio ambiente no es nueva, estos han sido poco investigados por lo que no están regulados. Dentro de este grupo se incluyen los surfactantes, productos farmacéuticos, productos para el cuidado personal, aditivos de las gasolinas, retardantes de fuego, antisépticos, aditivos industriales, esteroides y hormonas y subproductos de la desinfección del agua Tabla 2.3. Se caracterizan por su baja persistencia en el ambiente para causar efectos negativos, puesto que sus altas tasas de transformación/remoción se pueden compensar por su introducción continua en el ambiente [25].

Tabla 2.3. Clase de contaminantes emergentes

Contaminante emergente	Ejemplos
Surfactante	Dodecil sulfonato de sodio, dimetil éter del ácido tetradecil fosfónico, lauril mono etanol amida, octil fenol polietoxilado.
Productos farmacéuticos	Bufexamac, niflúmico, piroxicam, ketoprofeno, indometacina, flurbiprofeno, aceclofenaco, diclofenaco.
Retardantes de fuego	Trihidrato de aluminio, hidróxido de magnesio y compuestos con boro, borato de zinc, zinc y estaño.
Antisépticos	Yodo, polividona yodada, clorhexidina, etanol.
Esteroides y hormonas	Estradiol, estriol, estrona.

2.8.1 Antiinflamatorios no esteroideos

El consumo de antiinflamatorios no esteroideos alrededor del mundo se estima en torno a doscientos dieciséis millones de dosis al día, con una media de consumo de aproximadamente 100 comprimidos de aspirina por persona al año en los Estados Unidos de Norte América [26]. Las drogas analgésicas antiinflamatorias no esteroideas (AINEs) son un grupo de agentes de estructura química diferente que tienen como efecto primario inhibir la síntesis de prostaglandinas, a través de la inhibición de la enzima cicloxigenasa. Estas drogas comparten acciones farmacológicas y efectos indeseables semejantes. La aspirina es el prototipo del grupo y es la droga con la cual los distintos agentes son comparados. Debido a esto también son llamadas drogas "tipo aspirina"; otra denominación común para este grupo de agentes es el de AINEs o drogas "anticicloxigenasa" debido a que inhiben esta enzima, responsable de la síntesis de prostaglandinas, las cuales son mediadoras de la producción de fiebre, dolor e inflamación[26].

Las drogas tipo aspirina son los agentes más vendidos en el mundo, son comúnmente utilizadas por prescripción o automedicación. Se expenden

toneladas por año debido a que existe una alta prevalencia de enfermedades reumáticas en el mundo. Aproximadamente un 8% de la población tiene un síndrome reumático alguna vez. Sin embargo, se sabe poco sobre cuales AINEs son realmente necesarios para un óptimo tratamiento de estas afecciones. En un estudio reciente. Fue observado que ocho AINEs son utilizados en el 70% de las prescripciones y 14 son usados en el 90% de los pacientes. Se piensa que solo 10 o 15 AINEs son necesarios para proveer una elección razonable [26].

Se calcula que unos 30 millones de personas usan las drogas (AINEs) diariamente, además de que se pueden adquirir sin una receta médica. En este grupo de fármacos los más utilizados son el naproxeno, el paracetamol, el ibuprofeno, el diclofenaco y ácido acetilsalicílico [27].

Estas drogas se encuentran en efluentes industriales hospitalarios y de uso urbano, que llegan a descargas municipales, generando daños celulares y genéticos a los organismos acuáticos. Se ha observado que el uso excesivo de fármacos como naproxeno, ácido acetilsalicílico, diclofenaco e ibuprofeno, generan efectos en organismos acuáticos [28].

2.9 Características fisicoquímicas de los fármacos

2.9.1 Paracetamol

El paracetamol (Figura 2.4) también conocido como acetaminofén (acetaminofeno) es un fármaco con propiedades analgésicas, antipiréticas y sin propiedades antiinflamatorias clínicamente significativas (Tabla 2.4). Es un ingrediente frecuente de una serie de productos contra el resfriado común y la gripe. No provoca euforia ni altera el estado de humor [29].

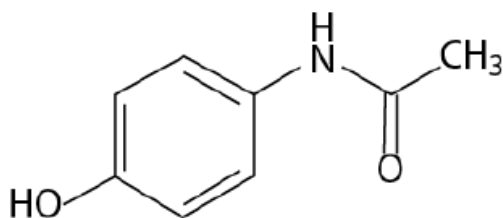


Figura 2.4 Estructura molecular del paracetamol

Tabla 2.4. Características del paracetamol

Identidad	Datos químicos	Datos físicos
Nombre sistemático: <i>N</i> -(4-idroxifenil)acetamida <i>N</i> - (4-hidroxifenil)etanamida	Formula: C ₈ H ₉ NO ₂	Identificación: Color blanco cristalino de estado sólido, inodoro
Número CAS: 103-90-2	Peso molecular: 151.17	Densidad: 1,263 g/cm ³
Código ATC: N02BE01	Sinónimos: Acetaminofeno	Punto de fusión: 169 °C
		Solubilidad en agua: 12,78 mg/mL (20 °C)

2.9.1.1 Efectos tóxicos

Ya que el paracetamol tiene un índice terapéutico muy ajustado. La dosis de 4 gramos al día en adultos ya es una dosis cercana a la sobredosis. Una dosis única de paracetamol de 10 g o dosis continuadas de 5 g/día en un no consumidor de alcohol con buena salud, o 4 g/día en un consumidor habitual de alcohol, puede dar como resultado un fallo hepático (insuficiencia hepática) seguido de la muerte inevitable. El paracetamol no debe tomarse tras consumir alcohol, debido a que el hígado, cuando está metabolizando el alcohol, no puede metabolizar simultáneamente el paracetamol, aumentando por tanto el riesgo de hepatotoxicidad [30].

2.9.2 Ibuprofeno

El ibuprofeno (Figura 2.5) entre sus distintas características (Tabla 2.5) es un potente antiinflamatorio además de analgésico y antipirético, su efecto analgésico es central y periférico y difiere del mecanismo antiinflamatorio. Es un potente inhibidor de la enzima ciclooxigenasa y por lo tanto, un potente reductor de la síntesis de prostaglandinas. Es similar en potencia al ácido acetilsalicílico, aunque menos potente que el naproxeno y la indometacina [31].

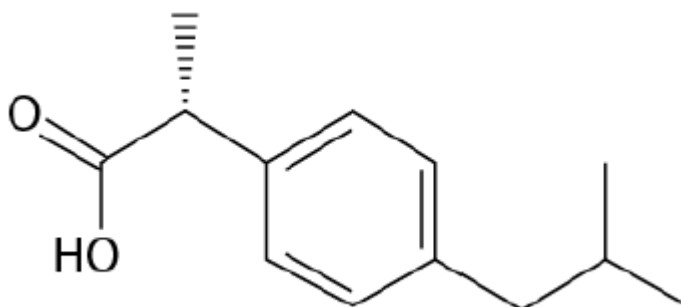


Figura 2.5 Estructura molecular del Ibuprofeno

Tabla 2.5. Características del ibuprofeno

Identidad	Datos químicos	Datos físicos
Nombre sistemático: ácido (RS)-2-(4- isobutilfenil)propiónico	Formula: C ₁₃ H ₁₈ O ₂	Identificación: Polvo cristalino blanco con olor característico
Número CAS: 15687-27-1	Peso molecular: 206.29	Solubilidad en agua: 0.01139 g/l
Código ATC: M01AE01		Punto de fusión: 76 °C

2.9.2.1 Efectos tóxicos

Los efectos tóxicos que se pueden presentar por el consumo de este antiinflamatorio se encuentra el estreñimiento, diarrea, gases o distensión abdominal, mareo, vómito, nerviosismo, zumbidos en los oídos, aumento de peso

inexplicable, fiebre, ampollas, sarpullido, comezón, urticaria, hinchazón, dificultad para respirar o tragar, ronquera, cansancio excesivo, náuseas, pérdida del apetito, síntomas parecidos a los de la gripe, palidez, latidos del corazón rápidos, orina turbia, dolor de espalda, sinagesia, dificultad o dolor al orinar, visión borrosa, cambios en el color de la visión u otros problemas de la visión, ojos enrojecidos o doloridos [32].

2.9.3 Diclofenaco

El diclofenaco (Figura 2.6) es un medicamento de la familia de los antiinflamatorios no esteroideos derivado fenilacético, entre sus características (Tabla 2.6) está la de ser un inhibidor relativamente no selectivo de la ciclooxigenasa por lo cual no es muy efectivo para inhibir la producción de las prostaglandinas, es utilizado para reducir inflamaciones leves y como un analgésico [33].

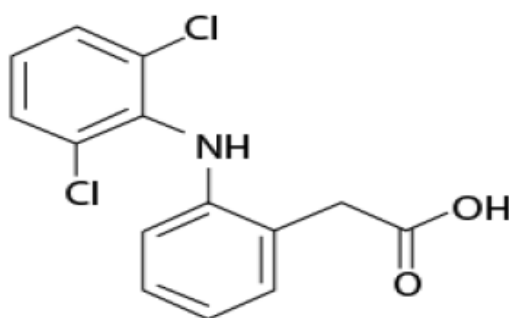


Figura 2.6 Estructura molecular del diclofenaco

Tabla 2.6. Características del diclofenaco

Identidad	Datos químicos	Datos físicos
Nombre sistemático: Ácido 2-{2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}acético	Fórmula: $C_{14}H_{11}NCl_2O_2$	Identificación: Polvo cristalino blanco
Número CAS: 15307-86-5	Peso molecular: 296.14	Solubilidad en agua: Parcial
Código ATC: M01AB05		Punto de fusión: 280 °C

2.9.3.1 Efectos tóxicos

El consumo de más de 150 mg/día puede causar diarrea, estreñimiento, gases o hinchazón abdominal, dolor de cabeza, mareos, zumbido en los oídos, aumento de peso inexplicable, cansancio excesivo, falta de energía, malestar estomacal, pérdida de apetito, comezón, coloración amarilla de la piel o los ojos, síntomas parecidos a los de la influenza, fiebre, ampollas, sarpullido, urticaria, hinchazón de ojos, cara, lengua, labios, garganta, brazos, manos, pies, tobillos o pantorrillas, dificultad para respirar o tragar, ronquera, palidez, orina turbia, pálida o sanguinolenta, dolor de espalda, dificultad o dolor al orinar [34].

2.9.4 Naproxeno

El naproxeno (Figura 2.7) pertenece al grupo de derivados del ácido propiónico, tiene distintas características (Tabla 2.7) entre ellas distingue que es un analgésico de uso general que requiere dosis superiores a otros AINEs, su dosis mínima efectiva es de aproximadamente 200 mg, empleado por su fácil unión con la albumina y tiene una vida media más larga en la sangre ideal para el tratamiento del dolor leve a moderado, la fiebre, la inflamación y la rigidez provocados por enfermedades como la osteoartritis, la artritis reumatoide, la espondilitis anquilosante, diversas lesiones, la tendinitis y la bursitis, y en el tratamiento de la dismenorrea primaria [34].

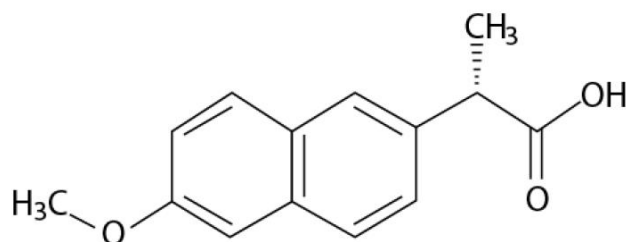


Figura 2.7 Estructura molecular del Naproxeno

Tabla 2.6. Características del naproxeno.

Identidad	Datos químicos	Datos físicos
Nombre sistemático (IUPAC): Ácido (S)-2-(6-metoxi-2-naftil) propiónico	Fórmula química: C ₁₄ H ₁₄ O ₃	Identificación: Sustancia blanca, inodora y cristalina
Número CAS: 22204-53-1	Peso molecular: 230.26 Sinónimos: d-2-(6-metoxi-2-naftil) propiónico ácido.	Punto de fusión: 153 °C Solubilidad en agua: Insoluble (pH<4), Soluble (pH>6)

2.9.4.1 Efectos tóxicos

El naproxeno puede provocar molestias gastrointestinales. Se toma junto con las comidas para ayudar a mitigar estos efectos. También puede inhibir la excreción del sodio y el litio. Por lo que las personas quienes deban cuidarse en la ingestión de sodio por hipertensión, o quienes tomen naproxeno junto a sales de litio, deberán tener en cuenta estas interacciones [35].

Los AINEs de la familia de los salicilatos pueden interferir reduciendo la efectividad de ambos. Si se combina con anticoagulantes se puede incrementar el riesgo de hemorragias. Con sulfonilureas aumenta el efecto hipoglucemiante [35].

Por el efecto inhibidor en la producción renal de prostaglandinas, puede provocar insuficiencia renal. Puede crear una importante retención de líquidos, que generan presión arterial alta o desestabilizarla, causa nefritis intersticial (infiltración por células inflamatorias del riñón) de diversa gravedad [35].

2.10 Evaluación de la toxicidad

Las pruebas de toxicidad aportan una conexión esencial entre la química ambiental (la presencia de sustancias donde no deben estar o en

concentraciones mayores a las basales, medidas a través de análisis químicos) y la ecotoxicología (la presencia de sustancias que causan efectos biológicos adversos, medidos en organismos individuales a través de pruebas de toxicidad y en poblaciones a través de análisis de estructura o función de las comunidades) [36].

2.10.1 Organismo bioindicador

Un organismo bioindicador se puede definir como un organismo vivo que se encuentra en contacto con un xenobiótico, éste sirve para medir las alteraciones inducidas por el xenobiótico sobre los componentes celulares o bioquímicos del organismo [36].

Un biomarcador ideal debe cumplir ciertos aspectos: a) fácil recolección y análisis de la muestra; b) ser específico; c) reflejar únicamente un cambio subclínico y reversible; d) permitir adoptar medidas preventivas; e) ser éticamente aceptable [37].

2.10.2 *Hyalella azteca*

La especie *Hyalella azteca* del orden amphipoda (Figura 2.8), se encuentra distribuida en una variedad de hábitats de agua dulce, como los depósitos permanentes, lagos, embalses y arroyos, se pueden encontrar aferrados a la vegetación, nadando en la columna de agua ó se les encuentra en el sedimento donde son importantes miembros de la fauna bentónica [37]. Son omnívoros ya que pueden ser detritívoros, carnívoros y herbívoros, además sirven de alimento para muchos otros organismos [38]. Por lo tanto, forman parte importante de la cadena trófica, transfiriendo energía a partir de las microalgas y otras macrofitas a niveles tróficos superiores [39].



Figura 2.8 La especie amphipoda *Hyalella azteca*.

2.11 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es inducido por los radicales libres, éstos son especies químicas que poseen un electrón desapareado en su última capa, lo que lo hace que sean muy inestables y reactivas, para conseguir la estabilidad modifica su alrededor provocando la aparición de nuevos radicales [40].

Estos radicales libres son capaces de causar daño a diferentes niveles de la célula: ataca a los lípidos y proteínas de la membrana celular lo cual la inhabilita para realizar sus funciones normales, pueden causar cáncer al atacar al ADN impidiendo que haya replicación celular lo cual facilita el envejecimiento celular, aterosclerosis por la peroxidación de lípidos en las partículas de lipoproteínas de baja densidad, cataratas por modificación irreversible en las proteínas y procesos inflamatorios crónicos por la activación de genes relacionados con la respuesta inflamatoria [41] .

Entre estos radicales libres están las series reactivas de oxígeno (el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH^-) y las especies reactivas del nitrógeno (el óxido nítrico (NO), dióxido de nitrógeno (NO_2), trióxido de nitrógeno (N_2O_3),

tetraóxido de dinitrógeno (N_2O_4) y a el radical peroxinitrito ($ONOO^\bullet$) formado por el óxido nítrico (NO) y el superóxido (O_2^-) [42].

El estrés oxidativo es el desequilibrio entre las especies reactivas de oxígeno y los sistemas de defensa antioxidante. Esto se puede generar por dos razones: la disminución de antioxidantes por mal nutrición o por la producción excesiva de series reactivas de oxígeno por la exposición a contaminantes que generen la activación excesiva de radicales [43].

2.11.1 Daño producido por estrés oxidativo

El estrés oxidativo es capaz de generar mucho daño en distintos tipos de moléculas, en los lípidos se produce el mayor daño por la peroxidación lipídica, este proceso afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, lo que altera la permeabilidad de la membrana celular produciendo edema y muerte celular. La peroxidación lipídica puede ser desencadenada por las series reactivas del oxígeno [44].

La lipoperoxidación también conocida como peroxidación lipídica es la degradación oxidativa de los lípidos con lo que los radicales libres capturan los electrones de las membranas celulares. Este proceso en la mayoría de los casos afecta a los ácidos grasos poliinsaturados, debido a que contienen múltiples enlaces dobles entre los cuales se encuentran los grupos metileno ($-CH_2-$) que poseen hidrógenos particularmente reactivos. Existen factores que influyen en la magnitud de la peroxidación lipídica [36]:

- a) La naturaleza cualitativa y cuantitativa del agente inicializador.
- b) Los contenidos de la membrana en ácidos grasos poliinsaturados y su accesibilidad.
- c) La tensión de oxígeno.

- d) La presencia de hierro.
- e) El contenido celular de antioxidantes (betacarotenos, alfatocoferoles, glutatión).
- f) La activación de enzimas que pueden hacer terminar la cadena de reacción como es el caso de la glutatión peroxidasa.

Cuando este proceso inicia se forma una cascada con la producción de radicales libres lo cual favorece la formación de peróxidos orgánicos que son los responsables de los efectos citotóxicos [36].

En el caso de las proteínas se produce la oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y dando formación de grupos carbonilos [36].

En el ácido desoxirribonucleico ocurren mutaciones que a su vez generan carcinogénesis, pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes [44].

2.11.1.1 Lipoperoxidación

La reacción de lipoperoxidación consta de tres pasos fundamentales: la iniciación, propagación y terminación. En la iniciación de la peroxidación lipídica, el radical libre ataca a un carbono de la cadena alifática de un ácido graso, ocurre la abstracción de hidrógeno del grupo metileno (-CH₂-) unido a un carbono con dobles enlaces de un ácido graso poliinsaturado, con la formación de una especie radical (radical alquílico: L^{*}). Los radicales que se forman se estabilizan por la resonancia [45].

Fase de propagación, en esta etapa ocurre una reacción en cadena con la extensión del daño y la formación de más especies radicáticas. La especie radicática formada en la primera fase reacciona con el oxígeno y forma un radical peroxilo (LOO^{\cdot}) que puede reaccionar con otros ácidos grasos poliinsaturados adyacentes y originar un hidroperóxido o lipoperóxido (LOOH) y un radical alquílico; así se produce una reacción en cadena y el daño a un número creciente de ácidos grasos.

Por último la fase de terminación o descomposición, en la que hidroperóxidos formados se descomponen en etano, pentano, aldehídos reactivos y cetonas. Los aldehídos formados, como el malonildialdehído y el 4-hidroxinonenal, pueden reaccionar con proteínas y ácidos nucleicos, lo que explica los efectos citotóxicos, genotóxicos y mutagénicos, así como un papel patogénico en varias enfermedades.

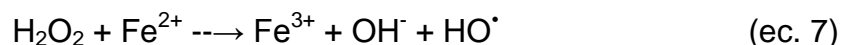
2.11.1.2 Proteínas carboniladas

Después de diversas reacciones oxidativas en las proteínas hay formación de grupos carbonilo como los grupos cetona o grupos aldehídos, estas proteínas tienen una tendencia a ser más hidrófobas y resistentes a la proteólisis. Esta reacción puede ser catalizada por metales [46].

A una mayor cantidad de proteínas carboniladas existen diversas complicaciones que se presentan en el cuerpo humano como es la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, aterosclerosis, diabetes, anemia de células falciformes, obesidad, enfermedad cardiovascular y asma [47].

2.11.1.3 Hidroperóxidos

La reacción de iniciación (ec. 7) consiste en la formación de un radical libre a partir de un ácido graso, radical a causa de un radical hidroxilo el cual se obtiene de la reacción de Fenton, esto pondrá en marcha la reacción de propagación, el uso de un metal es un catalizador de la reacción (ec. 8) [36].

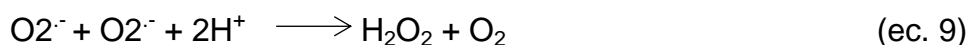


2.11.2 Mecanismo de defensa antioxidante

Las reacciones de oxidación son esenciales en los procesos metabólicos celulares. Dichas reacciones involucran la transferencia de electrones que producen radicales libres las defensas que neutralizan los radicales libres se les llama antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que en concentraciones normales posea una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interactuar con un radical libre [37].

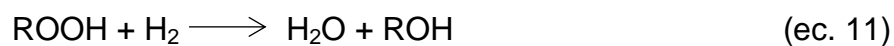
2.11.2.1 Superóxido dismutasa

La enzima superóxido dismutasa (SOD) es la primera línea de defensa antioxidante ya que cataliza la conversión del anión superóxido a peróxido de hidrógeno (ec. 9), esta enzima es una metaloenzima ya que tiene un metal de sitio activo para tener un mecanismo redox y de esa manera poder participar en las reacciones de dismutación [36].



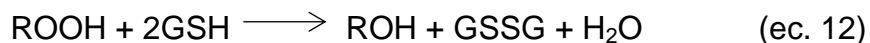
2.11.2.2 Catalasa

En la reacción de la catalasa (ec. 10) la enzima se encuentra en los peroxisomas pero también está en abundancia en todos los tejidos, su función es catalizar la inactivación de la molécula peróxido de hidrógeno convirtiéndola en agua y oxígeno, su sitio activo es el grupo hemo (Fe^{+3}) protoporfirina [47].



2.11.2.3 Glutación peroxidasa

La reacción de la glutatión peroxidasa (ec. 12) cataliza la reducción de peróxidos, hidroperóxidos y peróxidos lipídicos, mediante el sustrato glutatión reducido y este a su vez es transformado en glutatión oxidado, en su sitio activo contiene selenio [47].



CAPITULO 3
CARACTERIZACIÓN
DEL MATERIAL
FOTOCATALITICO

3.1 Microscopia electrónica de barrido (MEB)

El microscopio electrónico de barrido es un instrumento versátil para el análisis microestructural de materiales sólidos. La principal razón de la aplicación del MEB radica en la resolución tan grande que llega a obtenerse. Otra característica importante del MEB es la apariencia tridimensional de las imágenes que se pueden obtener. Este aspecto tridimensional se logra, gracias a una extensa profundidad de análisis. El MEB utiliza todas las señales que emergen de la superficie de la muestra cuando el haz electrónico impacta e interacciona con ella, siempre y cuando cuente con detectores indicados para cada señal [48]. En el esquema de la (Figura 3.1) se muestra la interacción del haz electrónico con la muestra así como las señales que se originan.

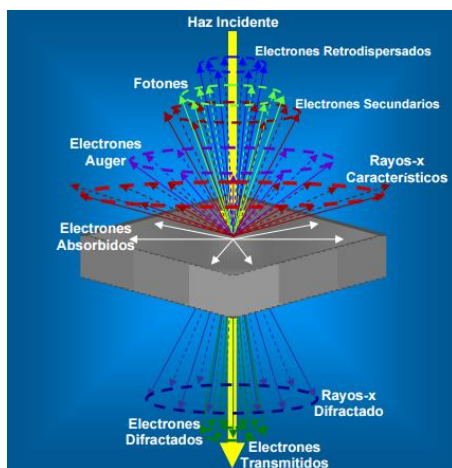


Figura 3.1. Señales que se originan debido al impacto con alta energía cinética del haz electrónico sobre la superficie de la muestra

Estas señales se producen cuando un haz electrónico es enfocado sobre un área muy pequeña de la muestra por medio de lentes condensadoras y por medio de un sistema de “bobinas de barrido” se genera un movimiento del haz sobre toda la superficie de estudio. Una de las señales de gran importancia para el MEB son los electrones secundarios. Esta señal proporciona información morfológica y

topográfica de buena calidad, gracias a la profundidad de campo (40 μm) del microscopio [49].

3.2 Espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (EDS)

La composición química de la muestra se puede obtener por medio de la técnica de rayos X característicos de cada elemento. Se puede llegar a determinar la cantidad y el tipo de elemento que se encuentra presente en la muestra, ya que cada átomo emite una radiación X con cantidades únicas (Figura 3.2) durante el proceso de traslación de los electrones de un orbital exterior a un interior.

Este tipo de análisis se obtiene mediante un detector el cual puedes ser para Espectroscopia por Dispersión de Energía o bien para Espectroscopia por Dispersión de Longitud de Onda. El cual es acoplado al microscopio electrónico de barrido [50].

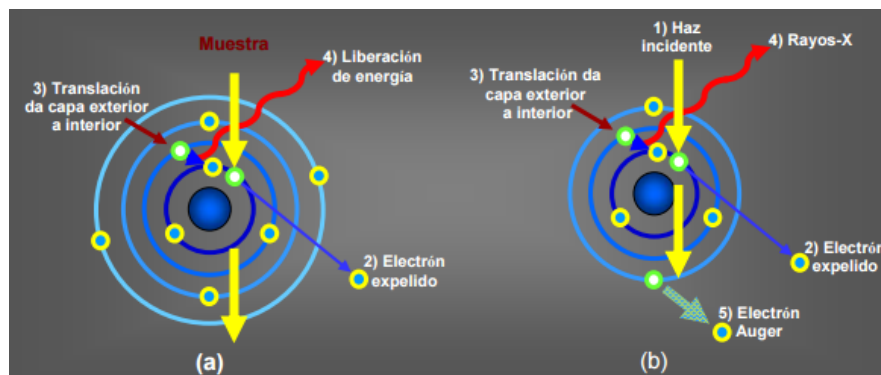


Figura 3.2. Excitación de un átomo por medio de un haz electrónico para generar; (a) rayos X característicos, (b) electrones tipo Auger

3.3 Espectroscopia Raman

El efecto Raman descubierto en 1928 por el físico C.V. Raman [51]. Tiene lugar cuando una fuente de luz ilumina una molécula esta interacciona con la nube

electrónica de sus enlaces, el fotón incidente excita uno de los electrones hasta un estado excitado virtual. La transición posterior del electrón hasta un nivel electrónico fundamental da lugar a la emisión de un fotón (dispersión). Dicha dispersión puede ser elástica o inelástica según el nivel vibracional de partida y de llegada en el nivel fundamental.

a) Dispersión elástica (Rayleigh). Tiene lugar cuando los fotones incidentes y emitidos tienen la misma energía. La dispersión elástica implica que el nivel vibracional de partida y de llegada es el mismo.

b) Dispersión inelástica (Raman). Tiene lugar cuando los fotones emitidos tienen diferente energía que los fotones incidentes, por ser diferentes los niveles vibracionales inicial y final. La diferencia de energía corresponde a una transición entre dos estados vibracionales de la molécula. La dispersión Raman puede ser de dos tipos:

I) Raman Stokes, cuando la energía del fotón dispersado es inferior al incidente.

II) Raman Anti Stokes cuando es superior.

La primera se produce cuando el nivel vibracional de partida es el fundamental, mientras que la segunda se produce en moléculas que se encuentran en estados vibracionales excitados, que vuelven al estado vibracional fundamental una vez emitido el fotón Raman. La fracción de los fotones Raman dispersados con estas características es del orden de 1 por cada 10^{11} fotones incidentes. Por lo tanto la sección eficaz de la emisión Raman es muy baja. Asimismo, la emisión Raman Anti-Stokes es mucho más débil que la Stokes a temperatura ambiente, ya que la proporción de moléculas en estados vibracionales excitados, que sigue la distribución de Boltzman, es mucho menor que las moléculas en el estado vibracional fundamental.

La relación de intensidades Stokes/Anti-Stokes disminuye al aumentar la temperatura. La intensidad de la radiación Raman está directamente ligada con la magnitud del momento dipolar inducido sobre una molécula cuando ésta se encuentra bajo la influencia de un campo electromagnético externo. El momento dipolar inducido, a su vez, depende directamente de la polarizabilidad, parámetro que mide la deformación de la nube electrónica, con respecto a las coordenadas vibracionales de la molécula. La espectroscopía Raman es una técnica ampliamente utilizada en el análisis de materiales debido fundamentalmente a su gran especificidad y a la sencillez en su aplicación. Sin embargo, presenta dos grandes desventajas; la baja sección eficaz y la competencia de dicho efecto con la emisión luminiscente, mucho más intensa que la señal Raman. La intensidad de la dispersión Raman aumenta significativamente cuando la energía del campo electromagnético externo aplicado se hace coincidir o es cercana a la de una transición electrónica permitida de una molécula. En estas condiciones se produce un aumento de la polarizabilidad molecular en un proceso conocido como Raman Resonante [52]. Dicho proceso puede aumentar la sección eficaz del efecto Raman.

3.4 Espectroscopia infrarroja

Las transiciones vibracionales pueden ser observadas tanto por espectroscopia IR como Raman. Sin embargo los orígenes físicos de ambas técnicas son básicamente diferentes, al depender la absorción IR del momento bipolar, mientras que en el caso de la espectroscopía Raman depende de la polarizabilidad molecular. Ambas técnicas se emplean rutinariamente en la actualidad como técnicas de caracterización de materiales de diferente naturaleza, siendo complementarias. El principio básico de la espectroscopia IR radica en la absorción de la energía infrarroja por una molécula lo que provoca transiciones entre los niveles vibracionales dentro del nivel electrónico fundamental. Evidentemente, estas transiciones llevan asociadas transiciones

entre los estados rotacionales. Las transiciones de rotación-vibración son características de cada molécula y permiten así su caracterización estructural. La espectroscopia Raman está fundamentada en un fenómeno de dispersión inelástica de los fotones incidentes sobre una muestra y también está asociada a transiciones roto-vibracionales de la molécula. Cuando un haz de radiación IR con diferentes longitudes de onda, incide sobre una muestra, las moléculas presentes consideradas como dipolos oscilantes interactúan con dicha radiación absorbiendo energía a una frecuencia determinada que corresponde con a la transición entre dos estados vibracionales (Figura 3.3) [53]. Para que una transición electrónica sea posible y se produzca una absorción de energía en la región IR es necesario que el modo vibracional implicado asociado a un movimiento vibracional o rotacional modifique el momento dipolar de la molécula. El cálculo de estos modos vibracionales “permitidos” está relacionado con la simetría de la molécula y se conoce como “reglas de selección”.

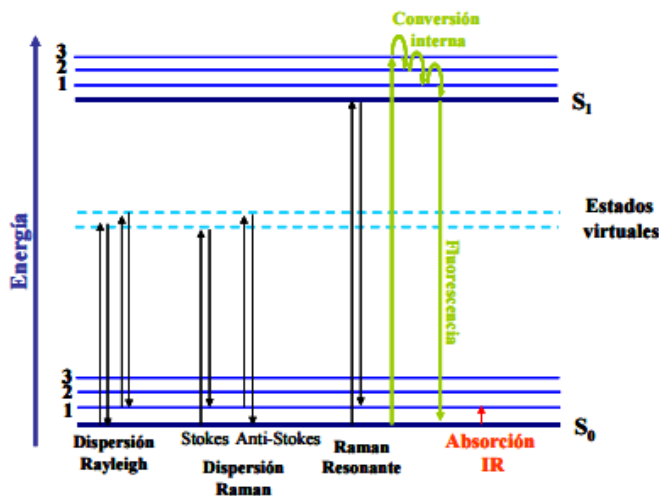


Figura 3.3. Ilustración esquemática de emisión fluorescente, absorción IR y dispersión de luz: dispersión Rayleigh (sin efecto Raman), dispersión Stokes (la molécula absorbe energía) y Anti-Stokes (la molécula pierde energía).

3.5 Espectroscopía ultravioleta-visible (Uv-vis)

La espectroscopia Uv-Vis fue uno de los primeros métodos físicos que se aplicaron al análisis cuantitativo y a la determinación de estructuras moleculares. La técnica de espectroscopia Uv-Vis es muy utilizada en el análisis cuantitativo, aunque en análisis cualitativo, en la determinación de estructuras, es superada por otras técnicas, como espectroscopia infrarroja y resonancia magnética nuclear. La región espectral correspondiente al ultravioleta y visible va desde el Uv lejano con longitud de onda entre 10 y 200 nm (también denominada Uv de vacío porque el O₂ absorbe en esta región justo por debajo de 200 nm), Uv cercano entre 200 y 400 nm, y visible entre 400 y 800 nm, (Figura 3.4) del espectro electromagnético. La radiación ultravioleta y visible se caracteriza por ser absorbida por electrones de valencia de moléculas y átomos, los cuales son excitados a niveles de energía superiores. La absorción de la radiación electromagnética por los electrones de valencia se encuentra, generalmente, dentro de la región ultravioleta del espectro; esto significa que, comúnmente, la materia es opaca a la radiación en alguna parte de esta región. En el caso de los electrones que participan en enlaces dobles, las frecuencias de absorción características pueden extenderse en la región visible, originando el color en bastantes sustancias orgánicas, y en casos especiales en el infrarrojo cercano [54]. La complejidad del espectro electrónico de las moléculas se debe, en parte, a que aunado a las transiciones electrónicas ocurren simultáneamente transiciones vibracionales y rotacionales. Una transición electrónica cambia la distribución de los electrones y el núcleo vibra como respuesta al nuevo campo de fuerza [55].

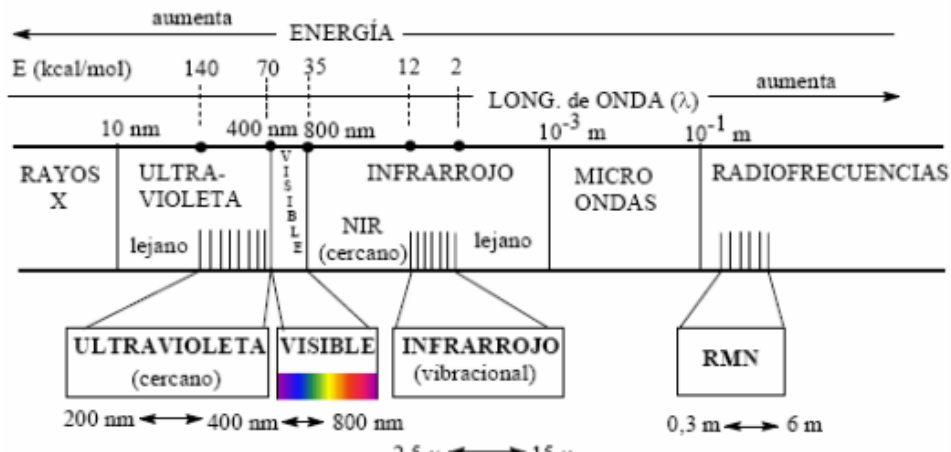


Figura 3.4. Espectro electromagnético

3.6 Determinación del ancho de banda prohibida (E_g)

Considerando la región, denominada borde de absorción óptico, que corresponde a las energías del fotón que generan transferencias electrónicas, es factible determinar el ancho de banda prohibida (E_g) a partir de diferentes modelos empíricos. Existen varios modelos para el cálculo de la energía de banda prohibida en materiales amorfos como son Tauc, Cody y Sokolov [56].

Estos modelos tienen como fundamento teórico, que para semiconductores pueden ocurrir dos tipos de transiciones electrónicas en la banda prohibida, las del tipo directo e indirecto, en ambas transiciones, un fotón es absorbido por un electrón en la banda de valencia atravesando la banda prohibida, para pasar a la banda de conducción. En las transiciones indirectas además de la absorción de un fotón, se produce el intercambio de un fonón de la red cambiando el vector de onda del electrón (Figura 3.5).

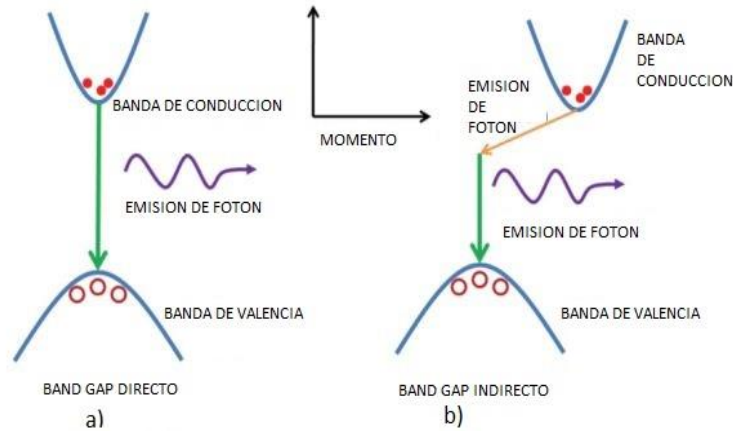


Figura 3.5. Tipos de transiciones electrónicas que ocurren en los semiconductores. a) Transición indirecta o band gap indirecto, b) transición directa o band gap directo.

Si se desprecia la formación de un excitón (interacción electrón-hueco), la forma del coeficiente de absorción (α) en función de la energía de los fotones ($h\nu$) es función de la dependencia con la energía de la densidad de estados en las bandas que contienen los estados inicial y final. Para bandas parabólicas simples y transiciones indirectas (ec. 13).

$$\alpha n_0 h\nu \propto (h\nu - E_0)^n \quad (13)$$

Donde $n = 1/2$ ó $3/2$ dependiendo si la transición es permitida o prohibida. E_0 es el gap óptico, n_0 es el índice de refracción, ν es la frecuencia y h la constante de Planck. En un semiconductor cristalino pueden ocurrir ambas transiciones, sin embargo, el valor más pequeño para el ancho de banda prohibida corresponde a transiciones del tipo directo. Por lo tanto la determinación del ancho de banda directo de un material proporciona una estimación del valor del E_g en un semiconductor cristalino, permitiendo emplear los modelos empíricos basados en transiciones directas, realizando las consideraciones de cada uno de los modelos empíricos existentes.

3.7 Reflectancia

La superficie de los materiales tiene una gran importancia en el comportamiento óptico. Cuando un rayo de luz pasa entre dos medios con diferente índice de refracción, una parte de la luz se devuelve al primer medio (rayo reflejado), y el resto del haz pasa al segundo medio con un cambio en su dirección de propagación (rayo transmitido o refractado) (Figura 3.6).

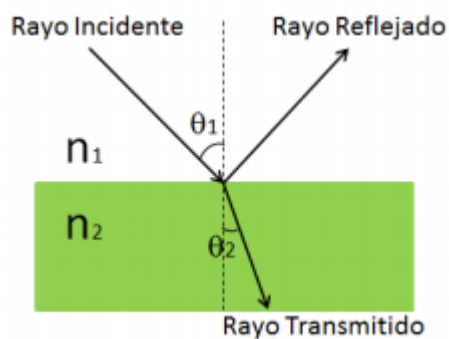


Figura 3.6. Reflexión y transmisión de rayos de luz cuando $n_2 > n_1$.

Un espectrofotómetro en modo de reflectancia mide la proporción de luz reflejada por una superficie como función de las longitudes de onda para producir un espectro de reflectancia.

3.7.1 Método de Reflectancia difusa (Kubelka Munk)

A partir de las medidas de reflectancia es posible determinar la energía de banda prohibida de un material utilizando diferentes modelos, entre los cuales se encuentra el de Kubelka-Munk. El modelo de Kubelka-Munk considera un sistema Beer-Lambert (en el cual la absorbancia está directamente relacionada con la longitud de la trayectoria del haz incidente al atravesar la muestra y con las propiedades intrínsecas del material) [57]. Con el cambio de que el sistema

absorbe luz y se considera únicamente el flujo de luz perpendicular a la superficie, por lo tanto hay reflexión de la radiación. Similar al modelo de Tauc, el modelo de Kubelka-Munk utiliza el coeficiente de Kubelka para determinar el gap de un material opaco utilizando la siguiente ecuación:

$$(F(R^\infty)h\nu)^2 = (h\nu - E_g) \quad (14)$$

Donde (R^∞) está elevado al cuadrado, debido a que el material es de gap indirecto. Al realizar la gráfica (R^∞) en función de la energía del fotón $(h\nu)$, se puede determinar el ancho de banda prohibida del material encontrando el punto de intersección de la línea recta con el eje de energías del fotón incidente.

3.8 Difracción de Rayos X

Los rayos X se producen cuando una partícula eléctricamente cargada sufre una [58]. Un haz de electrones es acelerado a altas velocidades e incide sobre un blanco metálico, este choque desprende dejando un hueco que es ocupado por un electrón de una capa superior. Esta diferencia de energía se libera por la expulsión de un fotón de alta energía (radiación X). Los electrones de un átomo, por lo tanto, absorben y reemiten rayos X, esto se llama dispersión de radiación X (Figura 3.7).

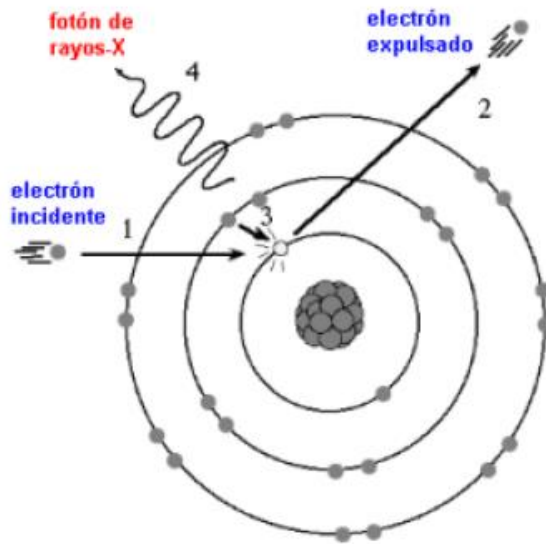


Figura 3.7. Esquema producción de rayos X

Cuando un frente de onda de rayos X incide en un conjunto de átomos, cada átomo dispersa rayos X. Si los átomos están centrados en puntos de un plano, por ejemplo, un plano de una red correspondiente al plano cristalográfico (h, k, l), dos direcciones de dispersión tienen propiedades especiales, como se muestra en la (Figura 3.8).

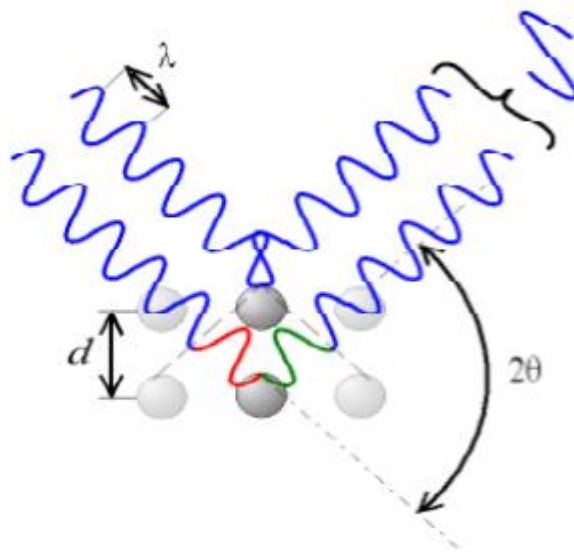


Figura 3.8. Diagrama esquemático de la interacción de la luz con los planos de una red cristalina

Las direcciones transmitidas y reflejadas indicadas en la (Figura 3.8) corresponden, a una continuación del haz en la dirección original y una reflexión del haz por el plano en el que los átomos se encuentran, respectivamente.

Teniendo en cuenta que cualquier estructura cristalina puede considerarse como varios conjuntos de redes mutuamente desplazadas, cada arreglo de red puede difractar rayos X como si se reflejara desde un plano (h, k, l), siempre que el ángulo de incidencia se ajuste de modo que sea una de las soluciones discretas de la siguiente expresión (ec. 15):

$$\theta = \text{sen}^{-1} \left(\frac{\lambda}{2} \frac{n}{d_{hkl}} \right) \quad (\text{ec. 15})$$

Donde λ es la longitud de onda, n es un número entero y d_{hkl} es la distancia entre planos.

La posición donde se registra una reflexión de rayos X es dependiente únicamente de θ , para un λ determinado. Esto significa que el conjunto de posiciones de todas las reflexiones de rayos X de un cristal depende sólo de las características dimensionales de su red y no depende de la disposición de sus átomos [59]. Esto implica que la difracción de rayos X es característica de cada material, lo que permite identificarlo y caracterizarlo.

Para realizar medidas de difracción de rayos X es necesario un difractómetro, el cual es un equipo que consta de un generador que alimenta el tubo de rayos X, que está compuesto por la fuente de electrones (cátodo) y la fuente de rayos X (anticátodo que puede ser de cobre (Cu), hierro (Fe) o cobalto (Co)), un goniómetro de tipo vertical con un porta muestras, un monocromador, un detector (contador de centelleo) y un sistema de enfriamiento para el tubo de rayos X. En

la Figura 3.9 se presenta un diagrama del tubo de rayos catódicos y su correspondiente configuración con la muestra y el detector [60].

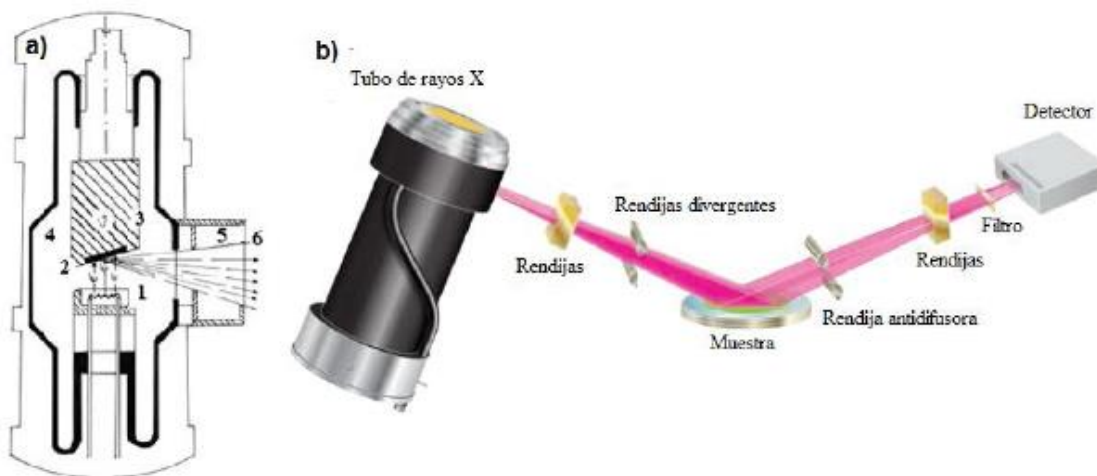


Figura 3.9. **a)** Diagrama de un tubo de rayos catódicos. 1) Cátodo, 2) Foco, 3) Ánodo, 4) Vacío, 5) Diafragma, 6) Haz de Rayos X, **b)** Diagrama del tubo de rayos X, la muestra y el detector.

Los rayos X pasan a través de una ranura (colimador) que orienta el haz hacia la muestra que al incidir sobre un plano de la red cristalina del material produce difracción de rayos X. Los rayos difractados son filtrados por el monocromador (rejillas de difracción) y posteriormente son detectados por el contador que permite ampliar la radiación que incide sobre él para ser registrada y así obtener el patrón de difracción [60].

Para determinar la radiación disponible con un blanco determinado, se trabaja con el espectro de radiación característica. Esto se obtiene cuando el voltaje del tubo alcanza un potencial crítico, representado por una curva del espectro continuo y a la cual se le superponen una serie de picos muy agudos; estos picos agudos se denominan radiación característica porque la longitud de onda depende explícitamente del elemento del ánodo y se denotan como serie K, serie L, serie M en un orden creciente de longitud de onda [61].

Las medidas de difracción permiten obtener información de las propiedades estructurales del material como lo son la identificación de los planos cristalinos, la presencia de fases, el tamaño del cristal, entre otros.

3.8.1 Método Rietveld

El método Rietveld es un procedimiento para refinar estructuras cristalinas usando datos de difracción de rayos X. Este método requiere del conocimiento previo aproximado de la estructura cristalina de todas las fases de interés que aparezca en el patrón de difracción [62]. Básicamente se ajusta los parámetros estructurales o parámetros de red teóricos, deslizamientos atómicos, anisotropía, tensiones de la red, entre otros, así como los experimentales, que dependen de las condiciones de experimentación, al perfil completo del difractograma, suponiendo que el difractograma es la suma de un número de reflexiones de Bragg centradas en sus posiciones angulares respectivas. Luego los parámetros escogidos van siendo ajustados en un proceso iterativo hasta que se alcanza una condición de convergencia con los valores de las intensidades experimentales y el modelo teórico [63]. El refinamiento se lleva a cabo minimizando, por mínimos cuadrados, la función convencional residual R dada a través de la expresión (ec. 16).

$$R = \sum_J W_J |I_{J(o)} - I_{J(c)}|^2 \quad (\text{ec. 16})$$

donde $I_{J(o)}$ e $I_{J(c)}$ son respectivamente las intensidades observadas y calculadas en el paso j-ésimo en 2θ y $W^{-1} = \sigma^2 = \sigma_{jp}^2 + \sigma_{jb}^2$ es el peso o valor de ponderación para cada intensidad tanto observada como calculada con σ_{jp} la desviación estándar asociada con el pico (basado en estadística de conteo) y σ_{jb} la intensidad de la señal de fondo, y R se realiza minimizando la diferencia entre el patrón observado y el calculado por el modelado instrumental, espectral y las características de la muestra; parámetros de la celda, etc. Este método es mucho

más exacto y preciso en el análisis cuantitativo de los diagramas de difracción que cualquier otro basado en el análisis de la intensidad de los picos [63].

CAPITULO 4
DESARROLLO
EXPERIMENTAL

4.1 Método de síntesis

El conocimiento de la composición química de un catalizador suele no ser suficiente para entender su actividad catalítica. Un catalizador está definido por la descripción detallada de su forma de preparación [64]. Es decir las propiedades físicas y químicas de un catalizador serán determinadas en su mayoría por el método que se haya seguido para su elaboración. Los procedimientos de elaboración requieren de condiciones de síntesis muy particulares y a veces muy complejas. A continuación se explica el método de preparación y las técnicas para caracterización usadas en esta tesis.

4.1.1 Método sol-gel

El método sol gel consiste en preparar una solución a partir de alcóxidos metálicos y algunas sales metálicas en medio alcohólico o acuoso. Posteriormente existe una hidrólisis controlada para generar el gel sin llegar a la precipitación el gel se seca por evaporación del líquido a presión atmosférica para formar un xerogel o bien a las condiciones críticas del solvente, generalmente bajo vacío para formar un aerogel. El paso más importante en el método sol-gel es la hidrólisis la cual puede ser representada por una serie de reacciones de adición o sustitución nucleofílica, las cuales son catalizadas por ácidos o bases.

1.- Hidrolisis de alcóxidos metálicos.



M=metal

R= alquilo

2.- Condensación con la formación de puentes hidroxilo



X= H ó R

3.- Condensación con la formación de enlaces de oxígeno



4.- Este proceso forma un polímero metaestable con una estructura abierta en la cual las unidades primarias interactúan mediante enlaces químicos, enlaces de hidrógeno, fuerzas dipolo e interacciones de van der Waals. El solvente es sostenido dentro de esta estructura para formar el gel [65].

4.1.2 Síntesis del fotocatalizador Ti-Sn(x)

La síntesis química se llevó a cabo usando el método sol-gel, se diluyeron los alcóxidos precursores 50 ml de alcohol iso-propílico ($\text{CH}_3\text{CHOHCH}_3$, Fermont, 99.8% de pureza) e isopropóxido de titanio ($\text{Ti}\{\text{OCH}(\text{CH}_3)_2\}_4$, Aldrich, 98% de pureza) con las cantidades mostradas en la (Tabla 4.1) . La solución obtenida se mantuvo bajo agitación vigorosa de 7 (rpm) a presión atmosférica y temperatura ambiente durante 1 hora (secado por toda una noche en estufa a 383°K), con la finalidad de evitar la presencia de humedad atmosférica toda vez que los compuestos utilizados son altamente reactivos a la hidrólisis) [66]. Posteriormente se incorporó cloruro estañoso pentahidratado ($\text{SnCl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Aldrich, 98% de pureza), se agito a 7 (rpm) durante 2 horas hasta homogeneizar, después se colocaron 10 ml de agua en la solución para propiciar la hidrólisis observándose la evolución desde una suspensión blanquecina a la conformación de una estructura amarillenta gelatinosa (Figura 4.1).

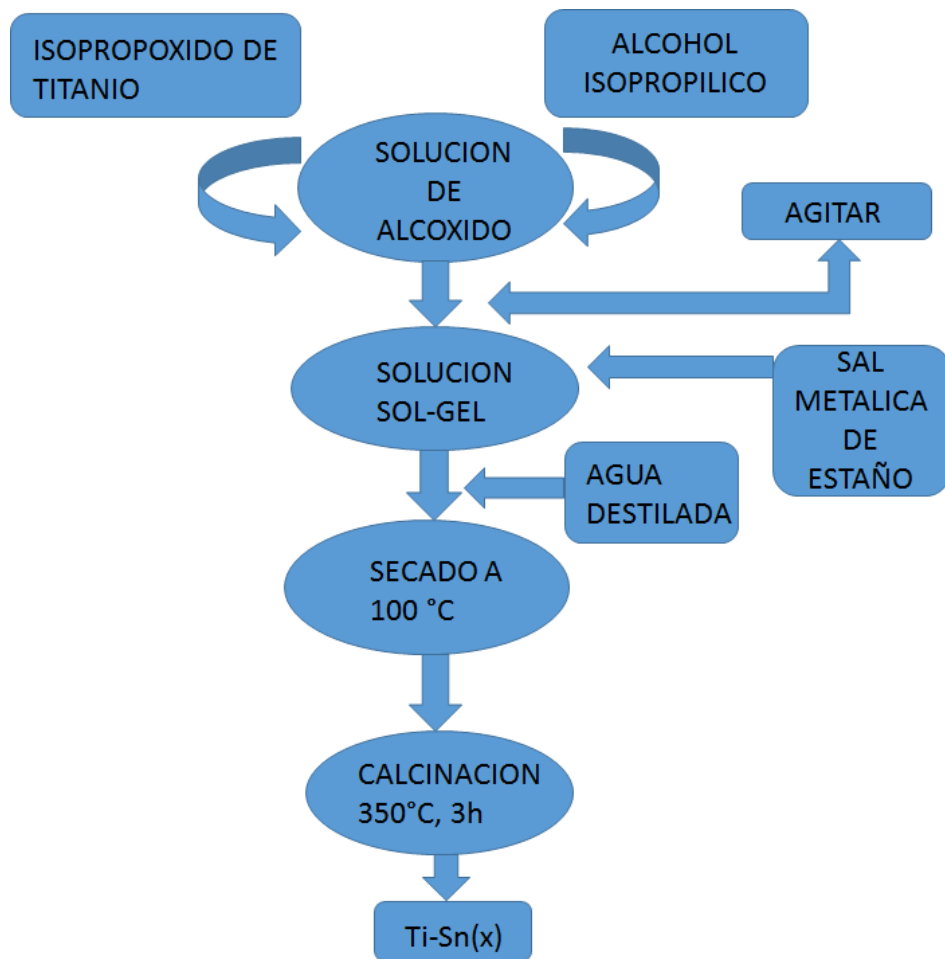


Figura 4.1. Método de síntesis de polvos Ti-Sn(x) por sol-gel.

Tabla 4.1 Cantidad de los precursores usados en la síntesis de Ti-Sn (x).

TiO ₂ -SnO ₂	Isop-Ti(ml)	SnCl ₂ ·2H ₂ O (g)	IproOH (ml)	H ₂ O (ml)
0	7.4115	0	50	10
0.1	6.6703	0.299	50	10
0.2	5.9292	0.599	50	10
0.3	5.188	0.898	50	10
0.4	4.447	1.197	50	10
0.5	3.705	1.497	50	10

Terminada la adición de agua, se detuvo la agitación mecánica y se dejó reposar durante 24 horas a condiciones ambientales, este proceso es importante para la eliminación del exceso de disolvente y formación del gel [67]. Los geles obtenidos se calcinaron a 350 °C bajo atmosfera de aire. Los materiales se llevaron desde temperatura ambiente hasta la de calcinación, con una velocidad de calentamiento de 3° K min⁻¹. Luego de alcanzadas las condiciones requeridas, Éstas fueron mantenidas por 4 h en la estufa de calcinación con el propósito de eliminar el disolvente y obtener un material cristalino.

4.2 Caracterización de catalizadores Ti-Sn(x)

4.2.1 Microscopia Electrónica de Barrido

La morfología superficial de cada muestra se observó usando un Microscopio Electrónico de Barrido, JEOL JSM 6510 LV (Figura 4.2), el cual tiene acoplada una sonda para realizar mediciones de espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (EDS, Energy-Dispersive X-Ray Spectroscopy), con la cual se determinó la composición elemental de las muestras preparadas usando un voltaje de aceleración de 15 kV.



Figura 4.2 Microscopio Electrónico de Barrido JEOL JSM 6510 LV.

4.2.2 Espectroscopia Raman

Se utilizó para estudiar la microestructura de los polvos; los espectros Raman fueron adquiridos mediante un equipo labRAM 800 equipado con un microscopio confocal Olympus BX40. Un láser Nd: YAG (532 nm) se centró por un objetivo 50 X sobre la superficie de la muestra (1 μm de diámetro de spot) (Figura 4.3).

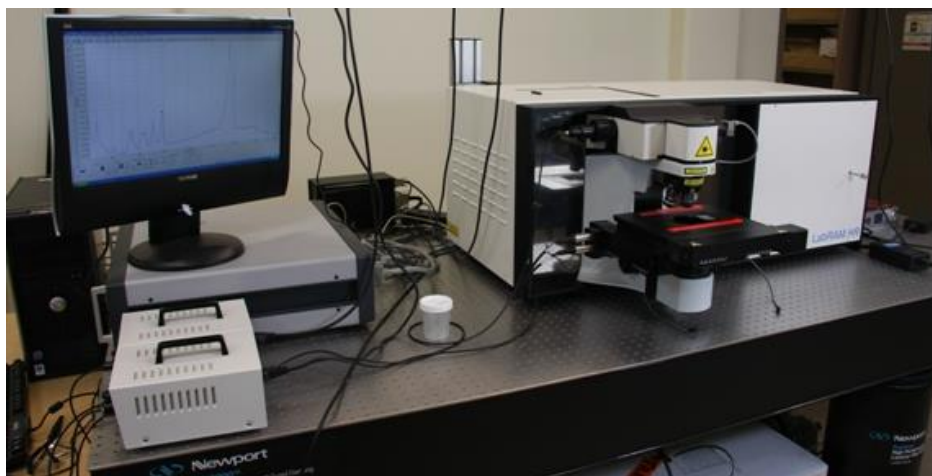


Figura 4.3. Equipo labRAM 800

4.2.3 Difracción de rayos X

Por medio de análisis DRX, en este trabajo se obtuvo la determinación de las fases cristalinas de todos los polvos preparados utilizando un difractómetro Bruker D8 Avance con una fuente de radiación Cu K α ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) (Figura 4.4). Los patrones de difracción se registraron haciendo un barrido de 20° a 90° en 2θ , bajo las siguientes condiciones: 35 kV, 25 mA, 0.02 incremento de paso y 265 s por paso lo cual permitió obtener espectros con una estadística suficiente para realizar el refinamiento de las estructuras determinando con precisión el porcentaje de las fases cristalinas presentes en los materiales sintetizados.



Figura 4.4. Difractometro bruker D8 Avance

4.2.4 Espectroscopia Uv-Vis.

Se utilizó espectroscopia ultravioleta visible, en el modo de reflectancia difusa usando un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 35 acoplado a una esfera de integración (Figura 4.5). Los espectros de reflectancia difusa permitieron se determinar el ancho de banda prohibida utilizando el modelo de Kubelka Munk, donde el coeficiente de absorción óptica es una función de la reflectancia, para el cálculo del ancho de banda se construyeron los gráficos correspondientes a la energía del fotón ($h\nu$) vs $(\alpha h\nu)^x$, donde x es característico del modelo Kubelka Munk.

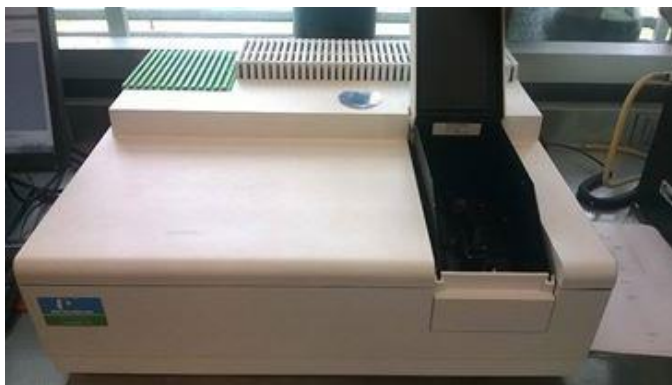


Figura 4.5. Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 35.

4.2.5 La espectroscopia de infrarrojo

Es una técnica que se basa en las distintas absorciones de radiación infrarroja que presentan los distintos grupos funcionales en este caso para determinar los enlaces de los óxidos presentes en el material sintetizado, los espectros de IR se adquirieron con un equipo tensor Bruker modelo TENSOR 27 equipado con un accesorio de reflexión total atenuada (ATR, Attenuated Total Reflection), en un intervalo de $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ con una resolución de 3 cm^{-1} y 300 barridos (Figura 4.6).



Figura 4.6. Equipo tensor Bruker modelo TENSOR 27

4.3 Muestreo de efluente industrial

Las pruebas de degradación en este trabajo se aplicaron a las aguas que emanan de una planta de fabricación de AINE´s en Toluca (Estado de México) se muestreó mediante el procedimiento estipulado en la norma oficial mexicana para la toma de muestras de aguas residuales (NMX-AA-003-1980). Las muestras se tomaron a la salida de la zona de producción que se conecta directamente con la salida de aguas de la industria. Las muestras se recogieron en recipientes de polietileno de 20 L, previamente lavados con ácido nítrico (Sigma-Aldrich) 30% y después con agua desionizada, las muestras se taparon, identificaron y protegieron de la luz, se trasladaron al laboratorio y se almacenaron a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Es importante indicar que los desechos no tienen ningún

tipo de tratamiento previo y van directamente al efluente municipal de la ciudad de Toluca, México. Después del muestreo, se realizó la caracterización físico-química de los efluentes.

4.3.1 Caracterización físicoquímica de las aguas del efluente industrial

Las características físico-químicas de las muestras de efluentes como temperatura, oxígeno disuelto, conductividad, pH, cloruros, fluoruros, dureza, amoníaco, sólidos suspendidos totales, fósforo total, nitrógeno total, la demanda bioquímica de oxígeno, y el hipoclorito de sodio (NaClO) se determinaron como se estipula en las normas oficiales mexicanas NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-073-ECOL-1994 [30,31]. Las normas oficiales mexicanas establecen los niveles máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales que se plantean en las industrias farmacéutica y farmacoquímicas y entran, respectivamente, aguas internas y los recursos, y la recepción de los cuerpos de agua.

4.3.2 Cuantificación de AINE´s por cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas (LC-MS/MS)

Las soluciones estándar se prepararon en una mezcla 60:40 de acetonitrilo y formiato de amonio a pH 6 (el pH se reguló usando HCl 1M). Estándares de 10 mg mL⁻¹ de diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno y paracetamol se prepararon y almacenaron en la oscuridad a -8 ° C. La solución de 1000 µg mL⁻¹ se utiliza para calibrar el espectrómetro de masa (MS), 200 µg mL⁻¹ de solución para estudios de recuperación, y soluciones que contienen 1, 2, 10, 50, y 250 µg mL⁻¹ de los AINE anteriores para la calibración del instrumento.

4.3.2.1 Equipo de Cuantificación de AINE´s por cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas (LC-MS/MS)

La cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) utilizada fue un Agilent 1290 unidad Infinito CLAR (Santa Clara, CA). La columna de cromatografía fue RRHD Eclipse Plus C18 (2,1 x 50 mm, 1,8- μ m) y se mantuvo a 40°C. La fase móvil que se usó fue una mezcla 60:40 de acetonitrilo y formiato de amonio (10 mM). La tasa de flujo fue de 0,3 ml min⁻¹, el tiempo de ejecución 1,8 min, y el volumen de inyección de 2 mL. Las muestras de diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno y paracetamol se cuantificaron en un Agilent 6430 de triple cuadrupolo MS equipado con ionización por electrospray (IES). El modo positivo IES se utilizó en todo. La tensión electropulverización funciona a 4000 V la EM recolectó datos en el modo de ion negativo. La optimización de EM se realizó por infusión directa de una solución estándar de 10 mg mL⁻¹ de diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno y paracetamol; A continuación, se selecciona el modo de modo de ionización y el ion precursor. Estos fármacos fueron seleccionados porque son uno de los remedios medicinales más utilizados en México.

4.3.2.2 Muestras de agua de los sistemas de prueba

Las muestras de agua (5 ml) tomadas directamente de los tres recipientes 60 L para cada tiempo de exposición se recogieron en viales de vidrio y fueron refrigeradas a 4 °C para su posterior determinación de concentraciones de ensayo. Las muestras se filtraron al vacío a través de filtros de microfibra de 1-0 micras de cristal, seguido de filtros de membrana de nylon 0,45- micras (Whatman, Cambridge, UK). A la extracción líquido-líquido con 5 ml (1: 1, v / v) de hexano acetato de etilo se lleva a cabo para extraer diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno y paracetamol a partir de muestras de agua 1 ml. Estas muestras se centrifugaron a 1800 rpm durante 10 min y la capa orgánica superior se extrajo de nuevo. La extracción se repitió y las capas orgánicas se combinaron y se

evaporaron a sequedad. El procedimiento se llevó a cabo por quintuplicado. Los resultados se expresan como concentraciones medias ponderadas en el tiempo de diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno y paracetamol.

4.4 Evaluación de la actividad fotocatalítica

La actividad fotocatalítica de las muestras sintetizadas en este trabajo se evaluó en la degradación de cuatro muestras de aguas residuales obtenidas directamente de una industria farmacéutica, con diferentes concentraciones de paracetamol, diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno. El sistema de reacción empleado fue un reactor de Fotoquímica Q-200 (Figura 4.7), marca Prendo, donde se pusieron en contacto 200 ml de solución conteniendo cada uno de los AINEs (paracetamol, diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno), de manera separada, con 1g de catalizador en polvo, la mezcla reaccionante se irradió con luz ultravioleta de 254 nm de longitud de onda. Se le dio seguimiento a la disminución de la banda característica de Uv-vis para cada fármaco a través del tiempo, usando una curva de calibración previamente generada para cada fármaco.

El procedimiento anterior se realizó usando una mezcla de las cuatro muestras de fármacos en volúmenes equivalentes para determinar la actividad fotocatalítica, considerando que en la gran mayoría de las industrias que fabrican AINEs se desechan aguas residuales conteniendo de varios fármacos simultáneos. La determinación de la degradación de los fármacos se hizo cuantificando el contenido de carbono orgánico total (COT) antes y después del tratamiento.



Figura 4.7 Reactor de fotoquímica Q-200, marca Prendo.

4.5 Evaluación toxicológica

4.5.1 Obtención, mantenimiento y reproducción de los organismos de prueba

La *Hyaella azteca* se colectó de su hábitat natural en el lago de San Miguel Almaya, municipio de Chapultepec (Estado de México), y fue transportada al laboratorio en contenedores plásticos con aireación constante. Durante el cultivo, las muestras se mantuvieron en agua reconstituida ($\text{NaHCO}_3 = 174 \text{ mg /L}$, $\text{MgSO}_4 = 120 \text{ mg /L}$, $\text{KCl} = 8 \text{ mg /L}$, y $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 120 \text{ mg /L}$; todos los reactivos se obtuvieron de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), pH 7.5 a 8.5 y temperatura ambiente con oxígeno constante (6.4 a 6.6 mg /L, 7260 Environ Monit Evaluar (2014) 186: 7259-7271O2), con fotoperiodos 12-h / 12 h de luz /oscuridad y fueron alimentados a libitum con lechuga. Los organismos utilizados en los ensayos de toxicidad fueron neonatos de tercera generación obtenidos mediante reproducción sexual a partir de un cultivo de 4 meses de edad.

4.5.2 Preparación del sedimento artificial

El sedimento está conformado por arena 70% (0,2 mm), 20% caolinita (<0,002 mm), y 10% de materia orgánica (0,2 mm). La fuente de materia orgánica se obtiene de composta de cordero inactivado por calor seco a 55-60 ° C durante 3 días. El sedimento se esteriliza con tres ciclos de 15-min en la autoclave a 121 ° C y presión de 15 libras, separados por intervalos de 1 h [68].

4.5.3 Sistemas de pruebas

Los sistemas de pruebas se establecieron mediante la adición de agua reconstituida y sedimento artificial en una proporción de 3:1 en recipientes de polietileno de 150 ml equipados con oxigenación constante y mantenido bajo a 12 h fotoperíodo a temperatura ambiente. Se utilizaron sistemas estáticos, sin renovación de medio, y no se les proporcionó alimento a los especímenes durante la exposición.

4.5.4 Determinación de la toxicidad aguda (CL₅₀)

Los sistemas de pruebas se realizaron en recipientes de polietileno de 20 mL, conteniendo una relación de 3:1 de agua reconstituida y sedimento artificial bajo un fotoperíodo horas luz/oscuridad de 16 h: 08 h a temperatura ambiente. Los sistemas de intoxicación fueron estáticos sin renovación de medio, no se proporcionó alimento a los especímenes durante los períodos de exposición.

La concentración letal media (CL₅₀) de las aguas residuales en *Hyalella azteca* se determinó a través de cinco pruebas en sistemas con diferentes concentraciones de aguas residuales y un sistema de control libre de aguas residuales. Cada uno contenía diez especímenes. Los especímenes muertos se

contaron después de 72 horas. Se realizaron cinco repeticiones del ensayo. Se realizó un análisis Probit y la significancia fue evaluada por el grado de 95% de superposición LC_{50} (v1.5 Programa de Análisis de la APA). La prueba de ajuste χ^2 lineal no fue significativo en $p < 0,05$.

4.5.5 Determinación de la toxicidad sub-aguda

En el ensayo de toxicidad subletal se usaron sistemas de prueba a los que se les adiciono agua residual/ kg de sedimento (equivalente al valor del NOAEL). Se añadieron 150 mg de peso húmedo de *Hyaella azteca* (se usarán organismos enteros, adultos y que no estén en periodo de apareamiento).

Los tiempos de exposición fueron de 0, 12, 24, 48, y 72 h después de lo cual se extrajeron los organismos retirándoles el exceso de humedad, estos se homogenizaron en 1 ml de solución de tampón Tris (pH 7). La mezcla se mantuvo en un baño de hielo durante todo el procedimiento. El sobrenadante se centrifugo a 12.500 rpm y -4 ° C durante 15 min.

Se evaluaron los siguientes marcadores: hidroperóxidos, lipoperóxidos y proteínas carboniladas, además, la actividad de enzimas antioxidantes superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peróxidasa. El contenido total de proteína se utilizó para expresar los resultados de todos los biomarcadores empleados. Todas las pruebas se realizarán en el sobrenadante excepto para la determinación de liporeóxidos en que se utiliza el precipitado celular. Se Realizaron cinco repeticiones de cada prueba.

4.5.5.1 Determinación de proteínas totales

Para 25 µl de sobrenadante se añadieron 75 µl de agua desionizada y 2,5 ml de reactivo de Bradford (0.05 g de colorante azul de Coomassie, 25 ml de etanol al 96%, y 50 ml de H₃PO₄, en 500 ml de agua desionizada). Los tubos se agitaron y se dejó reposar durante 5 minutos antes a la lectura de la absorbancia a 595 nm y se realizó la interpolación en una curva de albúmina bovina [69].

4.5.5.2 Determinación de contenido de hidroperóxidos

La determinación de hidroperóxidos se hizo para 100 µl de sobrenadante (previamente desproteinizado con 10% de ácido tricloroacético) (Sigma-Aldrich, St. Louis) se añadieron 900 µl de la mezcla de reacción [0,25 mM FeSO₄ (Sigma-Aldrich, St. Louis), 25 mM H₂SO₄ (Sigma -Aldrich, St. Louis), 0,1 mM de naranja de xilenol (Sigma-Aldrich, St. Louis) y 4 mM hidroxitolueno de butilo (Sigma-Aldrich, St. Louis) en 90% (v / v) de metanol (Sigma-Aldrich, St . Louis)]. La mezcla se incubó durante 60 min a temperatura ambiente y la absorbancia se leyó a 560 nm frente a un blanco que contiene sólo mezcla de reacción. Los resultados se interpolan en la curva y se expresaron como nM CHP (hidroperóxido de cumeno) (Sigma-Aldrich, St. Louis) mg proteína⁻¹.

4.5.5.3 Determinación de la lipoperoxidación

La determinación de lipoperoxidos se realizó utilizando el método de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico [71]. A cien microlitros del sobrenadante se le adicionan solución tampón Tris-HCl de pH 4 (Sigma-Aldrich, St. Louis) para completar un volumen de 1 ml. Las muestras se incubaron a 37 ° C durante 30 min. Se añadieron 2 ml de reactivos TBA-TCA [ácido tiobarbitúrico 0,375%

(Fluka-Sigma-Aldrich, Toluca, México) en ácido tricloroacético 15% (Sigma-Aldrich, St. Louis)], y las muestras se agitaron en un vórtex. Posteriormente se llevó a ebullición durante 45 min y se dejó enfriar, después el precipitado se separó por centrifugación a 3000 rpm durante 10 min. Se determinó la absorbancia por Uv-Vis a 535 nm frente a un blanco de reacción. Se calculó el contenido de malonaldehído utilizando el coeficiente de extinción molar (CEM) de malondialdehído (MDA) ($1,56 \times 10^5 \text{ M} / \text{cm}$). Los resultados se expresaron como milimoles de MDA por miligramo de proteína⁻¹.

4.5.5.4 Determinación del contenido de proteínas carboniladas

La determinación del contenido de proteínas carboniladas se realizó por el método de Burcham [72]. Para 100 μl de sobrenadante se añaden 150 μl de 10 mM dinitrofenil hidrazina en HCl 2 M (Sigma) antes de la incubación a temperatura ambiente durante 1 h en la oscuridad. A continuación se añaden 500 μl de ácido tricloroacético al 20%, y la muestra se dejó reposar durante 15 min a 4 ° C, El precipitado se centrifugó a 11.000 \times g durante 5 min. El botón se lavó varias veces con 1: 1 de etanol / acetato de etilo, después se disolvió en 1 ml de guanidina 6 M (pH 2.3), y se incubó a 37 ° C durante 30 min. Los reactivos se obtuvieron de Sigma-Aldrich, St. Louis. La absorbancia se leyó a 366 nm. Los resultados se expresaron como nanomolares de carbonilos reactivos formados (C = O) por miligramo de proteína, utilizando el CEM de 21.000 $\text{M} / \text{cm}^{-1}$.

4.5.5.5 Determinación de la actividad de la superóxido dismutasa

La actividad de SOD se determinó por el método de Misra HP, & Fridovich [73]. Se añaden a una cubeta de 1 cm, 40 μL de sobrenadante, 250 μL de una solución tampón de carbonato (carbonato de sodio 50 mM y 0.1 mM EDTA), pH 10.2, y 200 μL de adrenalina (30 mM). Todos los reactivos fueron de Sigma-

Aldrich, St. Louis. La absorbancia se leyó a 480 nm después de 30 s y 5 min. La actividad enzimática se determinó utilizando el CEM de SOD (21 M / cm). Los resultados se expresaron como unidades internacionales de SOD por miligramo de proteína.

4.5.5.6 Determinación de la actividad de la catalasa

La actividad de la catalasa CAT se determinó de acuerdo con el método de Radi R, Turrens JF, Chang LY, Bush K M, Carpo JD, & Freeman BA [74]. Para 20 μ L de sobrenadante se añade 1 ml de una solución tampón de aislamiento [(0.3 M de sacarosa (VETEC-Sigma-Aldrich, St. Louis), 1mM EDTA (Sigma-Aldrich, St. Louis), 5 mM de HEPES (Sigma-Aldrich, St. Louis), y 5 mM de KH_2PO_4 (VetecSigma-Aldrich, St. Louis)] y 0.2 ml de peróxido de hidrógeno 20 mM (VETEC-Sigma-Aldrich, St. Louis)). La absorbancia se leyó a 240 nm después de 0 y 60 s. Los resultados se derivan mediante la sustitución del valor de absorbancia obtenido para cada uno de estos tiempos mediante la fórmula: concentración de CAT = $(A_0 - A_{60}) / \text{CEM}$, donde el CEM de H_2O_2 es 0,043 mM / cm y se expresó como micromoles de H_2O_2 por miligramo de proteína.

4.5.5.7 Determinación de la actividad de la glutatión peroxidasa

La actividad de la glutatión peroxidasa se determinó por el método de Gunzler y Flohe-Clairborne [75]. Para 100 μ l del sobrenadante, se añadió 10 μ l de glutatión reductasa (2 U glutatión reductasa, Sigma-Aldrich, St. Louis), mas 290 μ l de buffer de reaccion [50 mM MK_2HPO_4 (VETEC, St. Louis), 50 mM KH_2PO_4 50 (VETEC, St. Louis) pH 7,0, 3,5 mM de glutatión reducida (Sigma-Aldrich, St. Louis), 1 mM de azida de sodio (Sigma-Aldrich, St. Louis), 0.12mMNADPH (Sigma-Aldrich, St. Louis)] y 100 μ l H_2O_2 (0,8 mM, VETEC, St. Louis). Se leyó la absorbancia a 340 nm a los 0 y 60 s. La actividad enzimática se calculó

utilizando la ecuación: concentración GPx = (A0-A60) / CEM), donde el CEM de NADPH = 6,2 mM / cm. Los resultados se expresaron como milimoles de NADPH por miligramo de proteína.

4.5.5.8 Análisis estadístico

En los ensayos de toxicidad subletal, la evaluación estadística de los resultados se realizó con el análisis de una vía de la varianza (ANOVA), y las diferencias entre las medias se compararon usando la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer, con p conjunto a <0,05. Las determinaciones estadísticas se realizaron con el paquete de software SPSS v10 (SPSS, Chicago, IL).

CAPITULO 5

DISCUSIÓN DE

RESULTADOS

5.1 Evaluación microestructural

En el inicio de este proyecto y con la finalidad de determinar el contenido de estaño óptimo para este proceso de fotodegradación se llevó a cabo la caracterización de las propiedades físicas y químicas de los materiales usando diferentes técnicas tales como IR, DRX Y MEB para así poder contar con resultados que nos permitieran determinar el contenido atómico de estaño en la formulación catalítica, así como la proporción de fases cristalinas presentes y características muy específicas del material.

5.1.2 Espectroscopia infrarroja

La obtención de los materiales se realizó mediante el método sol-gel utilizando un alcóxido como precursor del material es conocido que algunos aditivos pueden reaccionar químicamente con los alcóxidos a nivel molecular, modificando el proceso de hidrolisis y condensación [76]. Por tal motivo se hizo el estudio de caracterización por espectroscopia infrarroja para determinar si los materiales contienen trazas de algún tipo de enlace que se halla formado durante el proceso de síntesis y pueda afectar el desempeño durante la degradación, además de corroborar resultados obtenidos por otra técnica complementaria con respecto a la formación de fases cristalinas del material.

El espectro de infrarrojo (Figura 5.1) se puede observar la banda atribuida a la elongación simétrica Ti-O-Ti en 436 cm^{-1} , la banda a 591 cm^{-1} también se puede asociar al modo vibracional de grupo Ti-O. Por otro lado la banda centrada en torno a 1640 cm^{-1} correspondiente a vibraciones de deformación de tipo tijera de protones de agua adsorbidos en la superficie [77]. Los picos a 2927 y 2854 cm^{-1} observadas en los espectros de los materiales sintetizados pueden ser asignados a tensiones C-H e indicar presencia de materia orgánica remanente en los sólidos. Es evidente que en los espectros de los materiales con contenido de estaño las señales entre 500 y 1000 cm^{-1} se vuelven más anchas y menos intensas al incrementarse el contenido de estaño, lo cual puede atribuirse al

traslape de las señales características de óxidos de estaño con el óxido de titanio [78].

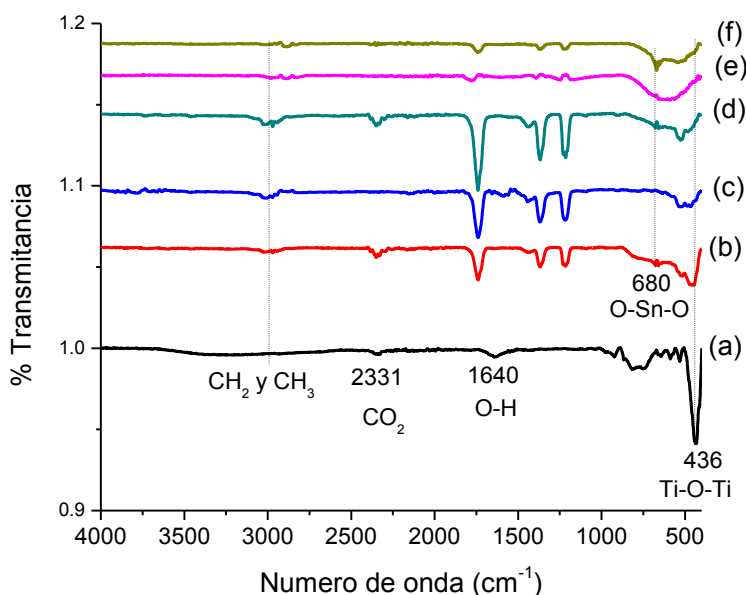


Figura 5.1. Espectro infrarrojo de polvos de Ti-Sn con relaciones molares de $\text{SnO}_2 / \text{SnO}_2 + \text{TiO}_2$ (a) 0, (b) 0.1, (c) 0.2, (d) 0.3, (e) 0.4, (f) 0.5.

5.1.3 Difracción de rayos X

La Figura 5.2 muestra los difractogramas obtenidos para las muestras con diferentes contenidos de estaño. El patrón correspondiente al polvo de TiO_2 sin estaño muestra picos en $2\theta = 25.3^\circ$, 36.1° , 48.1° , 54.4° y 56.5° , que son característicos del dióxido de titanio en su fase anatasa (JCPDS 73-1764). Se observa claramente que esta fase se mantiene para los contenidos de estaño de hasta 4 % at. en concordancia con los resultados de espectroscopía Raman. Adicionalmente, al incrementarse el contenido de estaño en las muestras, se observan picos a ángulos $2\theta = 27.4^\circ$, 35.9° , 41.1° y 54.2° , que se atribuyen a la fase rutilo (JCPDS 75-1753). A medida que aumenta el contenido de Sn, los

difractogramas revelan la coexistencia de una mezcla de fases cristalinas anatasa y rutilo la cual se incrementa con el contenido de Sn [79].

Ya que no se observó la presencia de la formación de la fase cristalina casiterita debida al SnO_2 en los difractogramas, se realizó un análisis de los difractogramas con el método de refinamiento Rietveld de estructuras cristalinas. Mediante este análisis se identificó principalmente la fase cristalina anatasa en los catalizadores $\text{TiO}_2\text{-Sn}(x)$ con relaciones molares $x= 0, 0.1$ y 0.2 ; un mayor incremento en el contenido de estaño promueve la aparición de las fases cristalinas rutilo y casiterita, las cuales cambian en proporción con el incremento en el contenido de estaño en la formulación catalítica, de acuerdo a lo mostrado en la tabla 5.1. El análisis de la geometría en los espacios real y recíproco de los difractogramas de los catalizadores analizados nos muestra un cambio en la geometría en las fases cristalinas, observándose que la fase anatasa en un inicio tenía una geometría elipsoidal y con la adición y el consecuente incremento en el contenido de estaño en la formulación adquiere una geometría más cercana a la esférica, ocurriendo cambios en la forma del cristal de las fases rutilo y casiterita, las cuales presentan un achatamiento de la forma esférica; adicionalmente, se determinaron los tamaños de cristal de cada una de estas fases cristalinas y los resultados se presentan también en la Tabla 5.1.

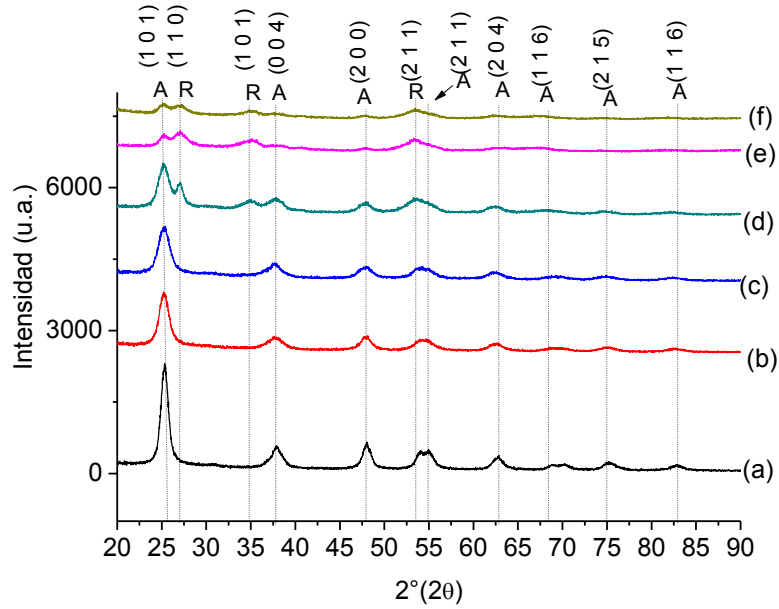


Figura 5.2 .DRX de polvos de TiO_2 modificado con diferentes relaciones molares de $\text{SnO}_2 / \text{SnO}_2 + \text{TiO}_2$ (a) 0.0, (b) 0.1, (c) 0.2, (d) 0.3, (e) 0.4, y (f) 0.5.

Tabla 5.1. Relación de fases cristalinas obtenidas del refinamiento Rietveld

Relación Molar	% at Sn	Tamaño de cristal, anatasa	% Anatasa	Tamaño de cristal, rutilo	% Rutilo	Tamaño de cristal, casiterita	% Casiterita
0	0	13.4	100	-	-	-	-
0.1	3	8.4	100	-	-	-	-
0.2	4	8.5	100	-	-	-	-
0.3	7	11.9	61	27.7	24.44	2.2	14.56
0.4	9	23.9	11.95	10.7	65.81	1.6	22.94
0.5	10	16.0	26.58	4.4	38.32	4.0	35.11

5.1.4 Microscopia electrónica de barrido

La morfología de los sólidos sintetizados se observó a través de las imágenes obtenidas con (MEB) las cuales son mostradas en la Figura 5.3. Se observan

cambios perceptibles respecto a la forma de las partículas que conforman el material, el cual parece adquirir una morfología más granulada con la adición de Sn. La composición química elemental superficial se determinó mediante EDS, observándose que el contenido de Sn se incrementó de 3 a 10 % at., cuando la relación molar x se incrementa desde 0.1 hasta 0.5, como se muestra en la (Tabla 5.1), lo cual es bastante razonable.

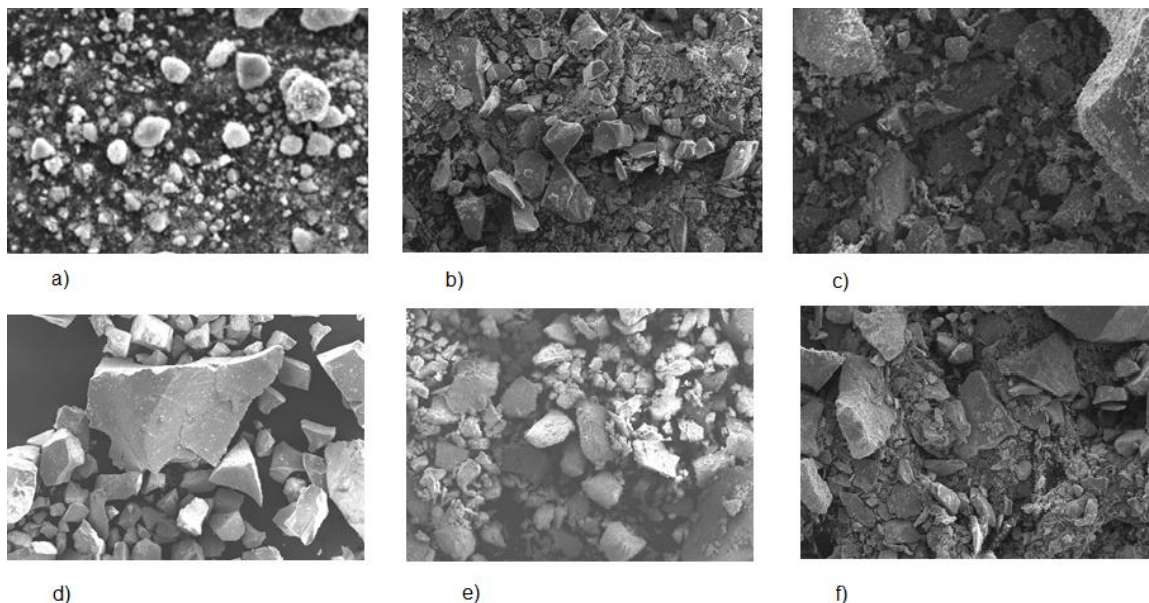


Figura 5.3. Micrografías MEB de polvos de Ti-Sn con relaciones molares de $\text{SnO}_2 / \text{SnO}_2 + \text{TiO}_2$ a) 0, b) 0.1, c) 0.2, d) 0.3, e) 0.4, f) 0.5.

5.1.5 Espectroscopia Raman

En la figura 2 se muestran los espectros Raman de los materiales sintetizados; en términos generales, para las muestras con hasta 0.4 de relación molar, se observa un espectro típico de la fase anatasa del TiO_2 con modos vibracionales en 144 (E_g), 197 (E_g), 399 (B_{1g}), 513 (A_{1g}), y 639 cm^{-1} (E_g) (figura 5.3.1 a, b, c, d). La adición e incremento en el contenido de Sn preserva las bandas mencionadas, observándose cambios importantes en la señal localizada en 144 cm^{-1} la cual se vuelve más ancha y menos intensa (figura 5.4); estos cambios

sugieren que los átomos de Sn están deformando la red Ti-O-Ti debido al mayor tamaño del átomo de Sn, lo que resulta en desorden estructural de la red. Para la muestra con el más alto contenido de estaño, se observa la aparición de bandas localizadas en 444 y 610 cm^{-1} (Figura 5.4), atribuidas a la fase rutilo del TiO_2 . Este resultado sugiere que la incorporación de Sn favorece la transición de fase, de anatasa a rutilo, a temperatura más baja congruente con lo reportado en otros trabajos cuando se adiciona un metal al TiO_2 [80].

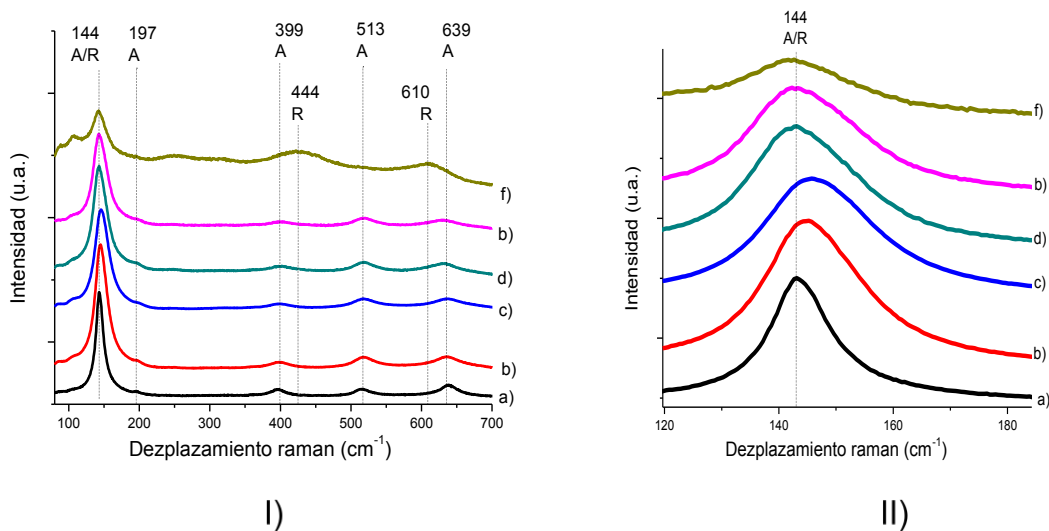


Figura 5.4 I) Espectros Raman de los catalizadores $\text{Ti-Sn}(x)$ con diferentes relaciones molares de Sn, $x =$ (a) 0.0, (b) 0.1, (c) 0.2, (d) 0.3, (e) 0.4 y (f) 0.5; Figura 5.4 II) Amplificación de la región de 120 a 180 cm^{-1} .

5.2 Calculo de la energía de banda prohibida de catalizadores $\text{Ti-Sn}(x)$

La Figura 5.5 muestra los espectros UV-Vis adquiridos en el modo de reflectancia difusa; como puede observarse, al incorporar Sn, el borde de absorción se desplaza a longitudes de onda mayor, indicativo de una reducción en el ancho de banda prohibida Figura 5.II. La energía de banda prohibida se determinó utilizando el método Kubelka-Munk. Para tal propósito se calculó la

función de Kubelka-Munk ($F(R)$) a partir de los espectros de reflectancia y se graficó $[F(R) \cdot h\nu]^{1/2}$ vs. $h\nu$ asumiéndose que el TiO_2 es un semiconductor con energía de banda prohibida indirecta [81].

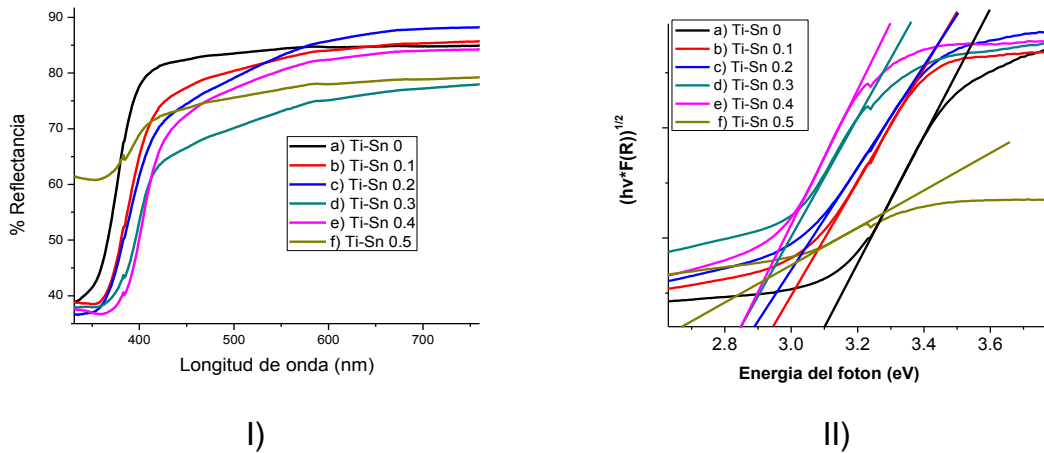


Figura 5.5 I) Espectros de reflectancia difusa de las formulaciones Ti-Sn(x) II) Determinación del band gap por el método Kubelka-Munk para diferentes muestras de polvos con relaciones molares de Ti-Sn (x).

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 5.2, donde se observa que la adicción de estaño favorece la disminución de la energía del ancho de banda prohibida.

Muestra	Energía de banda prohibida (eV)
Ti-Sn 0	3.10
Ti-Sn 0.1	2.94
Ti-Sn 0.2	2.89
Ti-Sn 0.3	2.85
Ti-Sn 0.4	2.85
Ti-Sn 0.5	2.67

Tabla 5.2. Efecto del contenido de estaño en la disminución de la energía de banda prohibida.

5.3 Caracterización físico-química de las aguas residuales

Los resultados de la caracterización fisicoquímica se muestran en la Tabla 5.3. Las características físico-químicas de los efluentes no excedan de los límites establecidos en las normas oficiales mexicanas (NOM-001-SEMARNAT-1996, NOM-073-ECOL-1994). El oxígeno disuelto fue de 12,2 mg L⁻¹, conductividad 143,2 microsiemens cm⁻¹, amoníaco 0,73 mg L⁻¹ y NaClO 1.0 mg L⁻¹; estos cuatro parámetros no se toman en cuenta en cualquiera de estas normas.

Tabla 5.3 Valores físico-químicos obtenidos del efluente industrial. ^{a,b} Normas oficiales mexicanas que establecen los límites o concentraciones permisibles en descargas de aguas residuales que surjan en las industrias farmacéuticas y farmacológicas, ^(a) en aguas y bienes nacionales, ^(b) cuerpos de agua receptores.

Características físicoquímicas	NOM-001-SEMARNAT-1996^a	NOM-073-ECOL-1994^b	Efluente industrial
Temperatura (°C)	40	40	15.6
Oxígeno disuelto (mg L ⁻¹)	NI	NI	12.2
Conductividad (µS cm ⁻¹)	NI	NI	143.2
pH	6.5-8.5	6-9	6.3
Cloruros (mg L ⁻¹)	Maximum 250	NI	101
Fluoruros (mg L ⁻¹)	0-15	NI	3.8
Dureza(mg L ⁻¹)	Maximum 500	NI	245.7
Amonio (mg L ⁻¹)	NI	NI	0.73
Sólidos suspendidos totales (mg L ⁻¹)	60	150	36
P Total (mg L ⁻¹)	10	10	7.3
N Total (mg L ⁻¹)	25	NI	18
Demanda Bioquímica de oxígeno (mg L ⁻¹)	60	100	33
NaClO (mg L ⁻¹)	NI	NI	1.0

5.4 Comportamiento fotocatalítico de las formulaciones Ti-Sn (x) en la degradación de productos farmacéuticos contenidos en las aguas residuales de una industria

El rendimiento de las formulaciones catalíticas se evaluó utilizando cuatro tipos de aguas residuales diferentes provenientes de la industria farmacéutica, con el propósito de probar los catalizadores en condiciones más cercanas a condiciones reales. Las aguas residuales se caracterizaron previamente a los experimentos de fotocatalisis, determinándose principalmente parámetros fisicoquímicos como carbono orgánico total (COT), Demanda química de oxígeno (DQO), bacterias presentes y turbidez. Adicionalmente, se determinó la concentración de cada fármaco en la solución correspondiente. Los datos se presentan en la Tabla 5.4. Se consideraron dichos parámetros como los que podrían afectar de manera importante la velocidad de degradación de los fármacos; el contenido de carbono orgánico total está relacionado directamente con la concentración inicial de cada fármaco; la demanda química de oxígeno, refleja la proporción de especies susceptibles de oxidarse químicamente y la turbidez se atribuye a la concentración de compuestos orgánicos, la presencia de bacterias, solidos suspendidos.

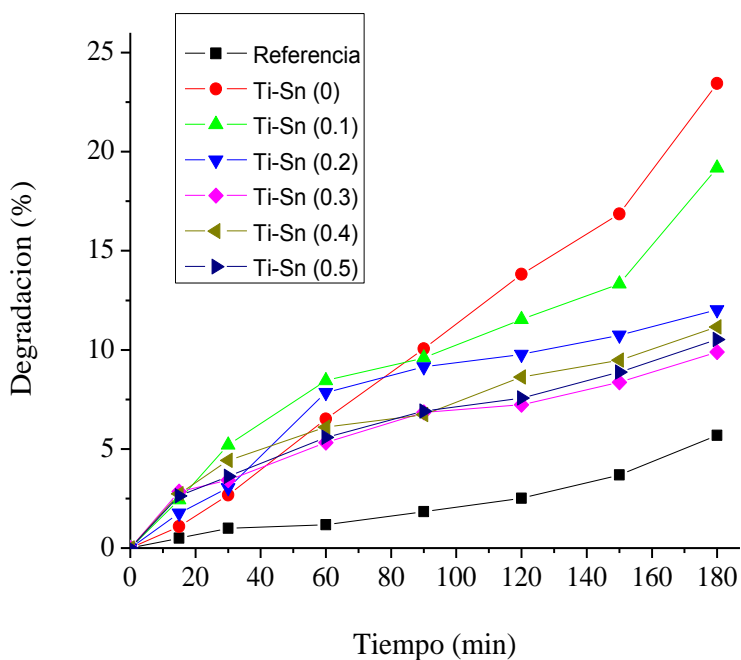
Tabla 5.4 Características de las diferentes aguas residuales farmaceuticas estudiadas

Parámetros	Paracetamol	Naproxeno	Diclofenaco	Ibuprofeno
Concentracion (mg/L)	194,51 ± 0,04	85,03 ± 0.03	3,57 ± 0,06	2,82 ± 0,07
COT (ppm)	10771	2194	1649	26998
DQO (mg/L)	18212	159	1943	26971
Bacterias, Coliformes fecales(NMP/100mL)	<2	<2	<2	<2
Turbidez	UNT	9.1	9.2	71.7

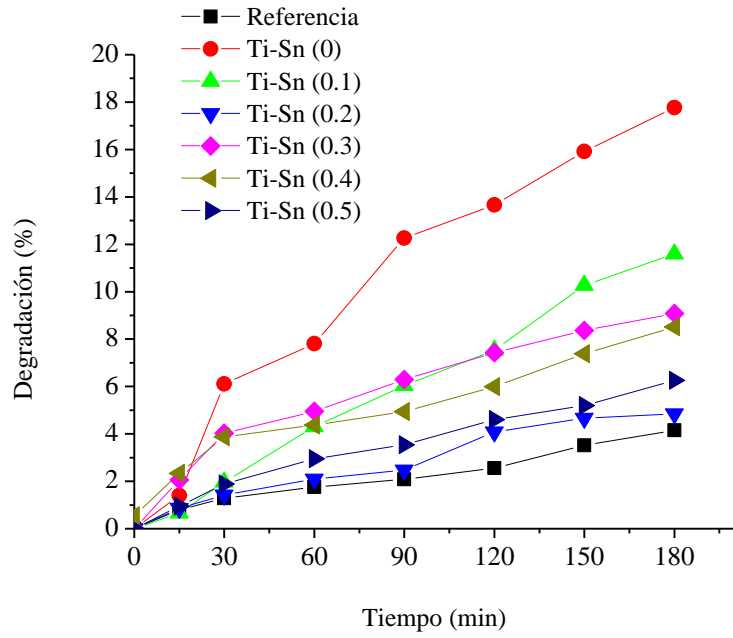
El grado de degradación en cada sistema de reacción se determinó siguiendo la variación de la concentración de cada fármaco en la solución reaccionante como función del tiempo al ser irradiado por una lámpara de luz Uv de 366 nm, para este propósito se establecieron curvas de calibración relacionando la

concentración con la intensidad de las bandas de absorción UV-Vis característico de cada fármaco, las cuales se encuentran situadas en 275 nm, para diclofenaco, 243 nm para el paracetamol, 222 nm para el ibuprofeno y 262 nm para el naproxeno, como función del tiempo de reacción, la cual se llevó hasta los 180 min. La Figura 5.6 (a) a muestra los resultados obtenidos para la degradación de diclofenaco, se observa claramente que se alcanza un grado máximo de degradación, después de 180 min, de aproximadamente 23%, utilizando el catalizador Ti-Sn (0); al incrementarse el contenido de Sn, el grado de degradación se reduce a valores de alrededor de 19 %, 12 %, 10 %, 10% y 5 % para las muestras que contienen relaciones molares $x = 0.1, 0.2, 0.3, 0.4$ y 0.5 respectivamente. Se tomó como referencia la reacción de fotólisis, que mostro la menor actividad catalítica que las reacciones catalizadas. Vale la pena señalar que para tiempos de irradiación menores a 60 minutos las muestras que contienen Sn parecen ser más fotoactivas que la muestra sin Sn. En los resultados correspondientes a paracetamol, Figura 5.6 b), podemos observar que la muestra que no contiene estaño exhibió una actividad catalítica mayor (18%) respecto a la actividad catalítica obtenida para los catalizadores modificados con estaño, que muestran grados de degradación de 11, 5, 9, 8 y 6 % respectivamente; en este caso, la muestra sin estaño siempre es mejor que el resto. La degradación fotocatalítica de ibuprofeno mostro un comportamiento diferente, después de 180 min de reacción, la formulación catalítica con una relación molar $x = 0.2$, fué la que logro el grado de conversión más alto, 26 %, mientras que a diferencia de los casos anteriores, la muestra sin estaño solo alcanzó el 18 %, como se muestra en la Figura 6 c. La degradación fotocatalítica de naproxeno fue las más baja de todas Figura 6 d, lo cual permite suponer una mayor resistencia de esta molécula a ser degradada además de que es el contaminante más concentrado de los cuatro; en este caso el fotocatalizador que logro el mayor grado de degradación (16 %) fue el de la relación molar $x = 0.2$, al igual que en la degradación de ibuprofeno. Es importante remarcar que aun cuando la conversión fotocatalítica máxima alcanzada para cada uno de estos fármacos es baja, de entre de 16 y 26%, los resultados parecen ser buenos,

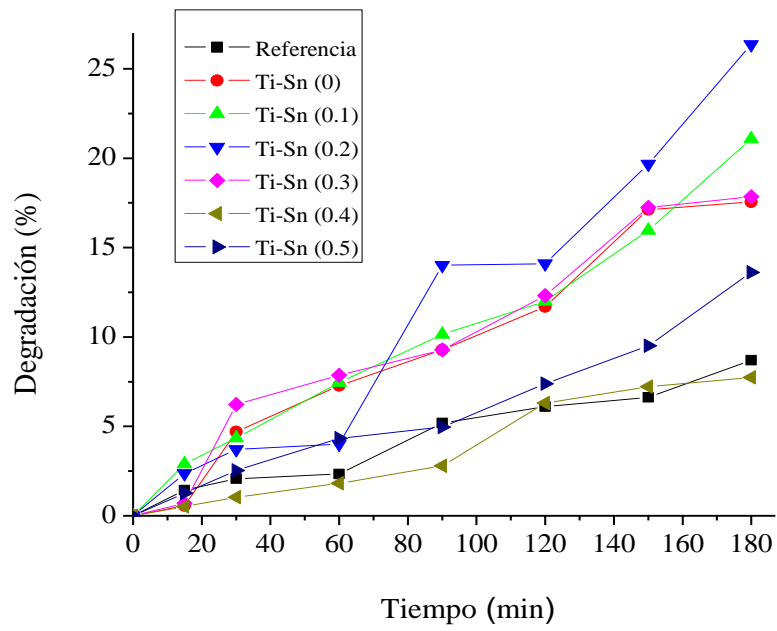
dato que en este caso las aguas tratadas contienen por un lado, altas concentraciones de fármacos, y por el otro, tienen un alto grado de turbidez debido a la gran cantidad de sólidos disueltos y demás componentes mostrados en la (Tabla 5.4). Los resultados obtenidos parecen indicar que estas formulaciones catalíticas son una buena opción para la degradación de fármacos como el paracetamol, diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno presentes en aguas residuales reales.



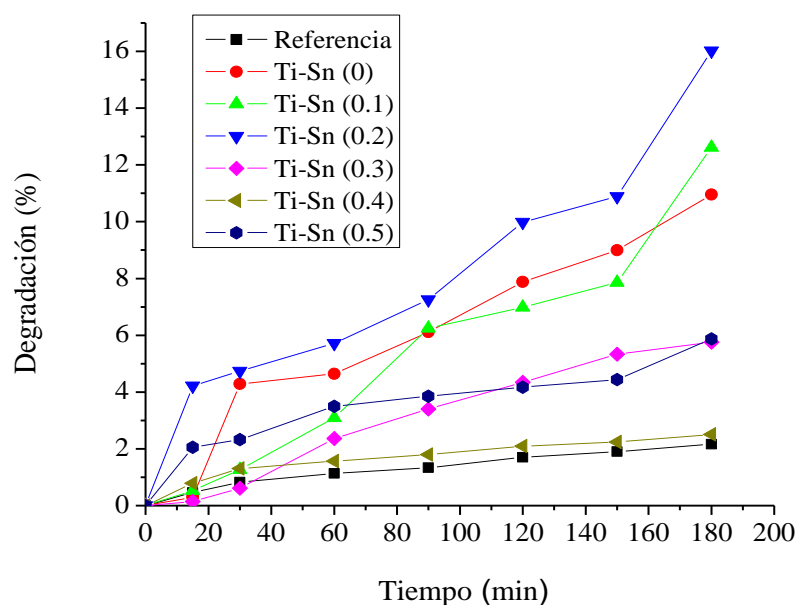
a)



b)



c)

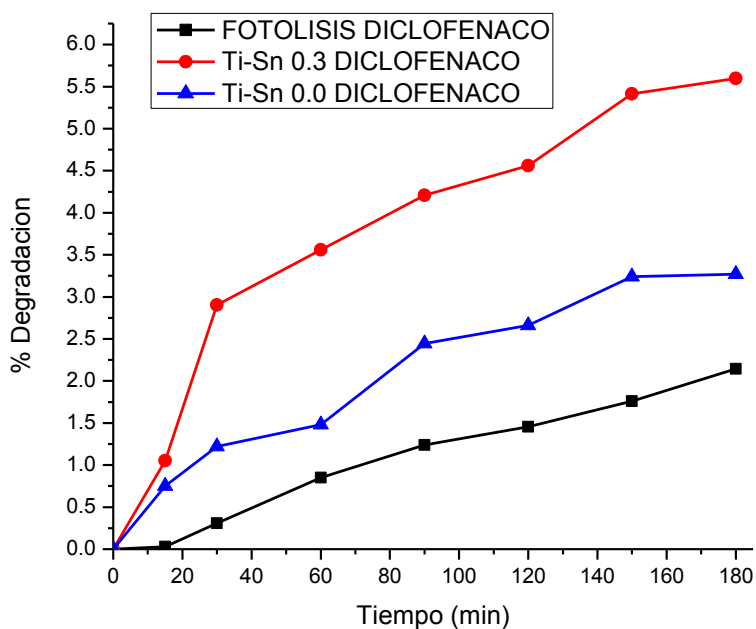


d)

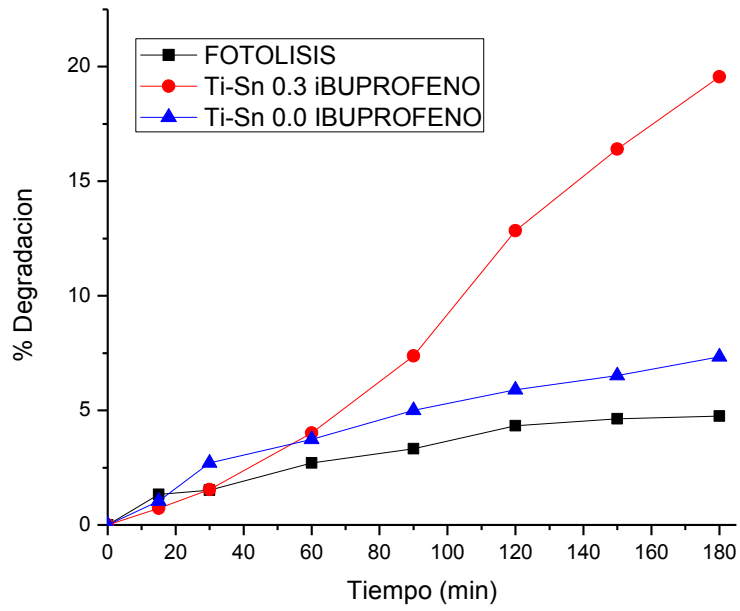
Figura 5.6. Fotodegradación de a) diclofenaco, b) paracetamol, c) ibuprofeno y d) naproxeno como función del tiempo de reacción, utilizando fotocatalizadores con diferentes relaciones molares $x = 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4$ y 0.5 .

También se determinó la degradación en cada sistema siguiendo la variación de la concentración de cada fármaco en la solución reaccionante en contacto con el catalizador como función del tiempo al ser irradiado por un simulador solar, para este propósito se establecieron curvas de calibración relacionando la concentración con la intensidad de las bandas de absorción UV-Vis característico de cada fármaco, las cuales se encuentran situadas en 275 nm, para diclofenaco, 243 nm para el paracetamol, 222 nm para el ibuprofeno y 262 nm para el naproxeno, como función del tiempo de reacción. La Figura 5.7 (a) muestra los resultados obtenidos para la degradación de diclofenaco, se observa claramente que se alcanza un grado máximo de degradación, después de 180 min, de aproximadamente 5.6%, utilizando el catalizador Ti-Sn (0.3); al comparar con el catalizador sin Sn se observa una reducción a valores de alrededor de 3

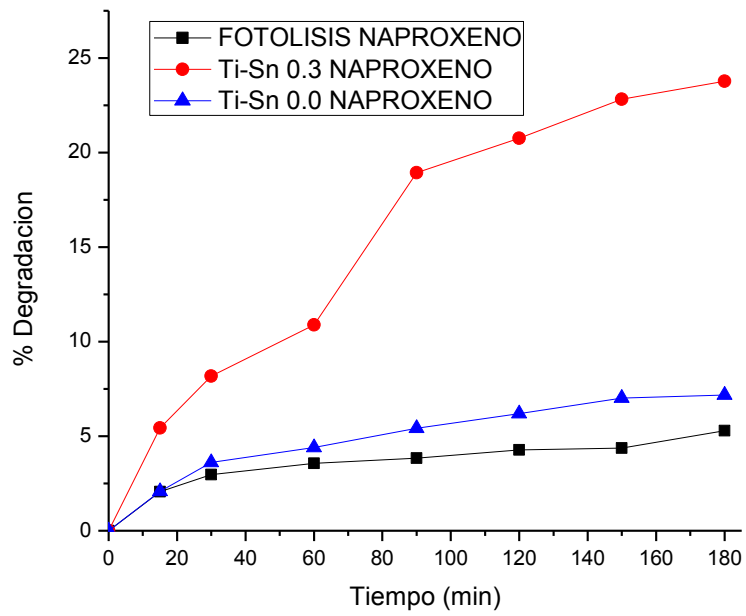
%, la Figura 5.7 (b) muestra la degradación de ibuprofeno presentando un comportamiento diferente ya que parece aumentar su actividad con relación al tiempo alcanzando un buen porcentaje de degradación considerando que se usó un simulador solar de aproximadamente 20% a los 180 min. En la Figura 5.7 (c) correspondiente a la degradación de naproxeno se observa que el mejor desempeño fotocatalítico lo presentó la muestra Ti-Sn (0.3) con un porcentaje de degradación de aproximadamente el 23% a los 180 minutos que comparado con la muestra sin Sn de apenas el 5% demuestra que la inserción de estaño favorece la actividad del catalizador al ser irradiado con luz visible del simulador solar. Con respecto a la degradación del paracetamol Figura 5.7 (d) no se muestra una diferencia significativa entre la degradación con el catalizador Ti-Sn (0.3) y Ti-Sn (0.0) lo cual nos permite suponer una mayor resistencia de esta molécula a ser degradada por los diferentes catalizadores.



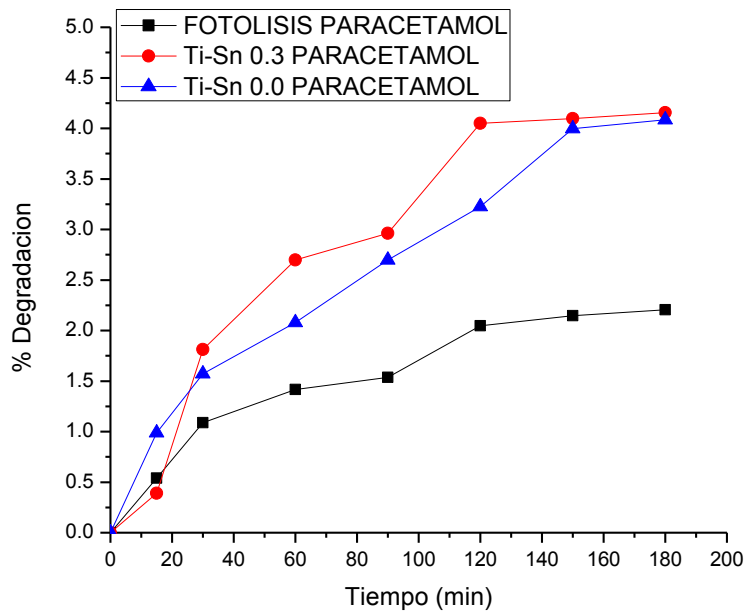
a)



b)



c)



d)

Figura 5.7. Fotodegradación de a) diclofenaco, b) ibuprofeno y c) naproxeno d) paracetamol al ser irradiado por un simulador solar como función del tiempo de reacción, utilizando fotocatalizadores con relaciones molares $x = 0, 0.3$.

5.5 Evaluación de la toxicidad

5.5.1 Determinación de la CL_{50}

La CL_{50} determinada en las aguas residuales en el ensayo de toxicidad aguda es 0.732 a 72 h de exposición, con un intervalo de confianza del 95 % [0,725-0,741]. La prueba de ajuste X^2 lineal no fue significativo en $p < 0,05$.

5.5.2 Evaluación de estrés oxidativo

La determinación de la toxicidad sub-aguda mediante la batería de estrés oxidativo, mostro los siguientes resultados:

5.5.3 Hidroperóxidos

Los cambios del contenido de hidroperóxidos inducidos por efluentes industriales se muestran en la Figura 5.8 Como se puede ver existe un aumento significativo en comparación con el grupo control ($p < 0,05$) en todos los tiempos de exposición. Estos aumentos fueron de 44.5, 77.8, 130.3 y 105.7% a los 12, 24, 48 y 72 h, respectivamente.

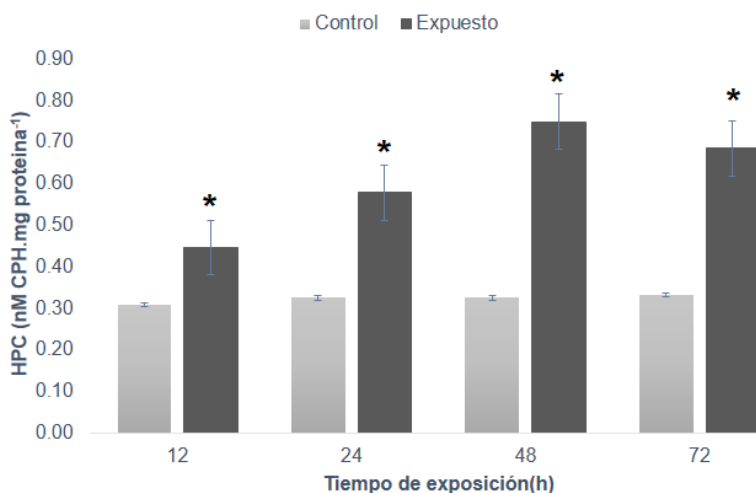


Figura 5.8. Contenido de hidroperóxidos en *Hyalella azteca* después de 12, 24, 48 y 72 horas de exposición a efluentes de una industria farmacéutica. Son valores promedio de tres repeticiones. * Existe diferencia significativa entre el grupo expuesto y el grupo testigo, ANOVA y Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

5.5.4 Lipoperoxidación

La cantidad de MDA inducido por efluentes industriales se muestra en la Figura 5.9. Como se puede observar existen aumentos tiempo dependientes significativos en comparación con el grupo control ($p < 0,05$). Estos aumentos fueron 270,2, 317,9, 419,7 y 531,9% en 12, 24, 48 y 72 h, respectivamente.

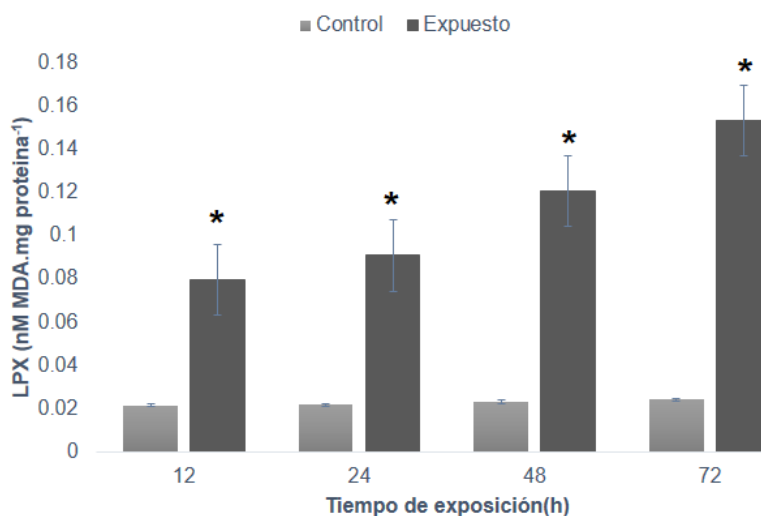


Figura 5.9. Lipoperoxidación en *H. azteca* después de 12, 24, 48 y 72 horas de exposición a efluentes de una industria farmacéutica. Son valores promedio de tres repeticiones. * Existe diferencia significativa entre el grupo expuesto y el grupo testigo, ANOVA y Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

Proteínas carboniladas: La oxidación de proteínas en las muestras expuestas a los efluentes industriales se presenta en la Figura 5.10. Se observa un incremento significativo de este biomarcador con respecto al control ($p < 0,05$) en todos los tiempos de exposición. Estos aumentos fueron del 80,1, 74,2, 71,2, 117,4% a los 12, 24, 48 y 72 h, respectivamente.

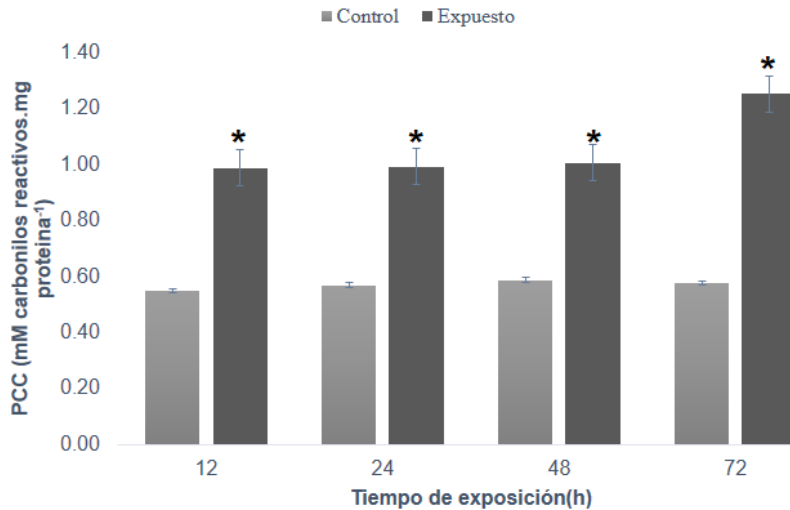


Figura 5.10. Contenido de proteínas carboniladas en *Hyalella azteca* después de 12, 24, 48 y 72 horas de exposición a efluentes de una industria farmacéutica. Son valores promedio de tres repeticiones.* Existe diferencia significativa entre el grupo expuesto y el grupo testigo, ANOVA y Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

5.5.5 Superóxido dismutasa

La Figura 5.11 muestra los resultados de la actividad SOD. El efluente industrial indujo aumentos significativos con respecto al grupo control ($p < 0,05$). Los aumentos observados fueron 82.0, 91.0, 155.1, 184.4% a los 12, 24, 48 y 72 h, respectivamente.

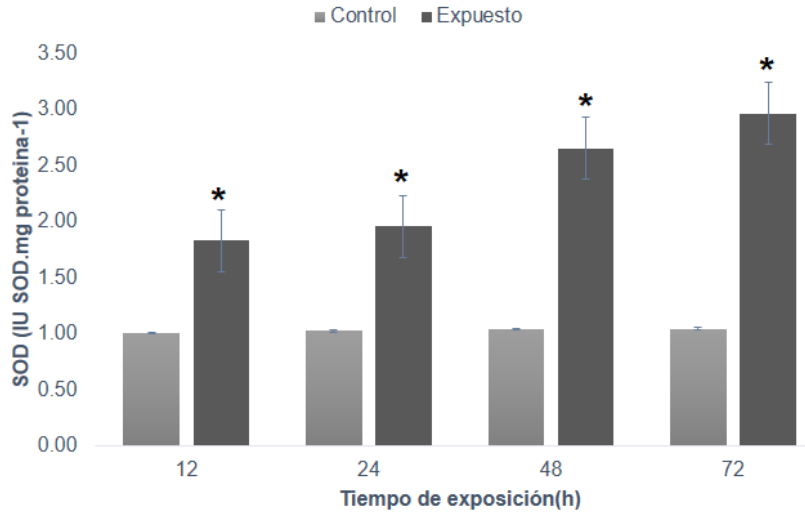


Figura 5.11. Actividad de la Superóxido dismutasa en *Hyalella azteca* después de 12, 24, 48 y 72 horas de exposición a efluentes de una industria farmacéutica. Son valores promedio de tres repeticiones. * Existe diferencia significativa entre el grupo expuesto y el grupo testigo, ANOVA y Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

5.5.6 Catalasa

La actividad de CAT, expresada como $\mu\text{M H}_2\text{O}_2 \cdot \text{mg de proteína}^{-1}$, se muestra en la Figura 5.12. El efluente industrial indujo un aumento significativo con respecto al grupo control ($p < 0,05$). Aumentos significativos ocurrieron a las 12, 24, 48 y 72 h fueron 70,4, 81,4, 129,8 y 178,8%, respectivamente.

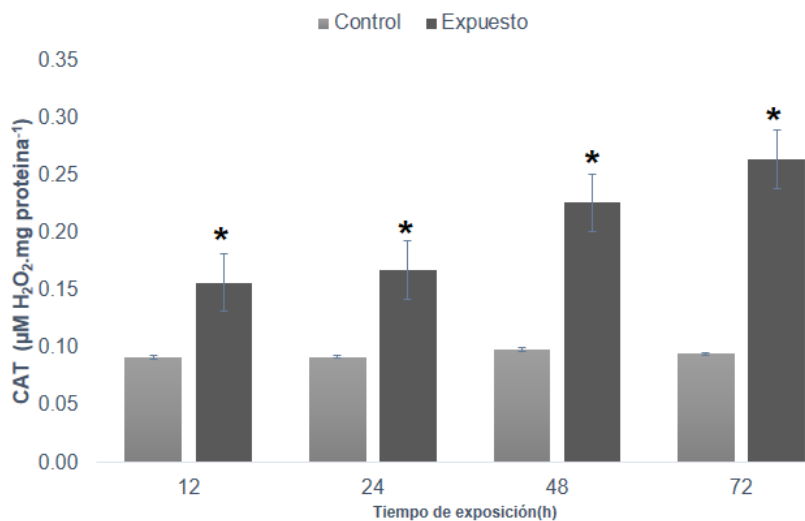


Figura 5.12. Actividad de la catalasa en *H. azteca* después de 12, 24, 48 y 72 horas de exposición a efluentes de una industria farmacéutica. Son valores promedio de tres repeticiones. * Existe diferencia significativa entre el grupo expuesto y el grupo testigo, ANOVA y Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

5.5.7 Glutación peroxidasa

La Figura 5.13 muestra los resultados de su actividad. El efluente industrial produjo un aumento significativo con respecto al grupo control ($p < 0,05$). Los aumentos significativos ocurrieron a las 12, 24, 48 y 72 h fueron 41,9, 50,6, 74,7 y 120,5%, respectivamente.

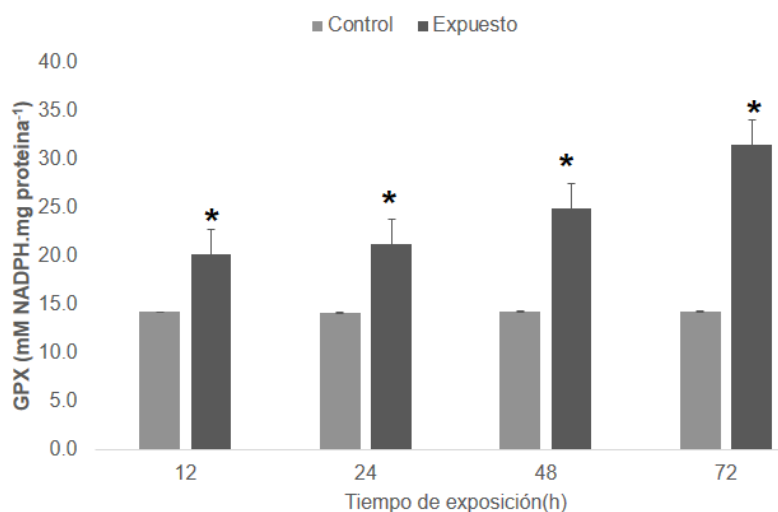


Figura 5.13. Actividad de la glutación peroxidasa en *Hyalella azteca* después de 12, 24, 48 y 72 horas de exposición a efluentes de una industria farmacéutica. Son valores promedio de tres repeticiones. * Existe diferencia significativa entre el grupo expuesto y el grupo testigo, ANOVA y Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES

6.1 Conclusiones

Se prepararon catalizadores de TiO_2 modificado con diferentes cantidades de estaño por el método de sol-gel. Se encontró que el procedimiento de síntesis empleado promueve la formación de la fase anatasa y que la incorporación del Sn favorece la aparición de la fase rutilo. Adicionalmente, la presencia de Sn tiene un efecto importante en las propiedades texturales y ópticas de los materiales preparados. Los resultados de fotocátalisis, muestran que el contenido atómico de estaño en la formulación catalítica parece promover la selectividad a la degradación de un fármaco específico, en este caso se observó un notable incremento en la conversión de naproxeno e ibuprofeno con el catalizador $\text{TiO}_2\text{-Sn}(0.3)$ que contiene 12 % at Sn. Cuando el sistema de reacción se irradia con luz visible se observa claramente que el porcentaje de degradación en los sistemas catalizados se incrementa con respecto a la fotólisis. Aun cuando la conversión fotocatalítica máxima alcanzada para cada uno de estos fármacos es baja, los resultados son prometedores si se considera que en este caso las aguas tratadas son aguas residuales reales, extraídas directamente de la industria farmacéutica y contienen, por un lado, altas concentraciones de fármacos, y por el otro, tienen una turbidez elevada debido a la gran cantidad de sólidos disueltos.

Después de la evaluación de la toxicidad se determinó que los fármacos contenidos en las aguas, resultan altamente tóxicos para los organismos acuáticos (*Hyalella Azteca*). Por otro lado la evaluación la toxicidad de las aguas posterior al tratamiento resultó ser menor por lo que el tratamiento resulta prometedor para ser aplicado en el tratamiento de aguas farmacéuticas industriales que contiene AINEs.

Bibliografía

- [1] Ali, M., Sreekrishnan, T. R. (2001) Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: A review. *Adv. Env. Res.*1:175-196
- [2] C.E. Zubieta, P.V. Messina, P.C. Schulz (2012) Photocatalytic degradation of acridine dyes using anatase and rutile TiO₂. *Journal of Environmental Management.* 101:1-6.
- [3] Boxall A, Breton R (2003) Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Regulatory drivers and research needs. *Combinat Science.* 22:212-221
- [4] Wei Zhang, Linda Zou, Lianzhou Wang (2009) Photocatalytic TiO₂/adsorbent nanocomposites prepared via wet chemical impregnation for wastewater treatment: A review *Applied Catalysis A: General. Journal of Environmental Management* 371:1-9.
- [5] Suresh C. Pilla, Urška Lavrencič Štangar, John A. Byrne, Alejandro Pérez-Larios, Dionysios D. Dionysiou (2014) Photocatalysis for disinfection and removal of contaminants of emerging concern. *Catalysis Today.* 246:133-142
- [6] Hashimoto, K, Irie, H, Fujishima, A (2005) TiO₂ a historical overview and future prospects. *Japanese Journal of Applied Physics.* 44:8269-8285
- [7] Fujishima, A., Honda, K (1972) "Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. *Nature.* 238:37-38,
- [8] T. Watanabea, A. Nakajimaa, R. Wanga, M. Minabea, S. Koizumia, A. Fujishimab, K. Hashimotoa (1999) Photocatalytic activity and photoinduced hydrophilicity of titanium dioxide coated glass. *Thin Solid Films.* 351:260-263
- [9] Tanaka, K., Capule, M.F.V., Hisanaga, T (1991) Effect of crystallinity of TiO₂ on its photocatalytic action. *Chemical Physics Letters.* 187:73-76

- [10] Inagaki, M., Nonaka, R., Tryba, B., Morawski, A. W (2006) Dependence of photocatalytic activity of anatase powders on their crystallinity. *Chemosphere*. 64: 437-445
- [11] Turchi, C. S., Ollis, D.F (1990) Photocatalytic degradation of organic water contaminants: mechanisms involving hydroxyl radical attack. *Journal of Catalysis*, 122:178-192
- [12] Michael A. Henderson (2011) A surface science perspective on TiO₂ photocatalysis. *Surface Science Reports*. 66:185-297
- [13] Gacitua W., A. Ballerini, J. Zhang (2005) Polymer nanocomposites synthetic and natural fillers a review. *Maderas ciencia y tecnología*. 3:159-178
- [14] Sumonrat Riyapana, Yuttanant Boonyongmaneerat, Okorn Mekasuwandumrongc, Piyasan Praserthdama, Joongjai Panpranot (2014) Effect of surface Ti³⁺ on the sol-gel derived TiO₂ in the selective acetylene hydrogenation on Pd/TiO₂ catalysts. *Catalysis Today*. 245:134–138
- [15] N. Serpone and E. Pelizzetti (1989) Photocatalysis Fundamentals and Applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 59:131-132
- [16] A.M. Senn, L. de la Fuente, N. Quici, S. Ferraro, M.I. Litter (2010) Evaluación de un reactor fotocatalítico a escala piloto aplicando la reacción de foto-Fenton, *Revista Ingeniería Sanitaria y Ambiental*. 20:37-40
- [17] Debabrata Chatterjee, Shimanti Dasgupta, Rita S. Dhodapkar, Nageswar N. Rao (2006) Simultaneous degradation of non-emissive and emissive dyes on visible light illuminated TiO₂ surface. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 260:264–268

[18] M.A. Grela, B. Loeb, G.M. Restrepo, M.G. Lagorio y E. San Román, Los mecanismos de destrucción de contaminantes orgánicos, en: Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea, Texto colectivo elaborado por la Red CYTED VIII-G, Usos de óxidos semiconductores y materiales relacionados para aplicaciones ambientales y ópticas.

[19] J.A. Navío, C. Cerrillos y G. Colón (1994) Photocatalytic degradation of the pesticides asulam and diazinon in TiO_2 aqueous suspensions. *Trends Photochemical. Photobiology.* 3:445-465

[20] M. Grätzel (1989) Heterogeneous photoelectrochemical electron transference. *Energy Resources through Photochemistry and Catalysis.* 263:184

[21] W. Spacek, R. Bauer, G. Heisler (1994) Heterogeneous and homogeneous wastewater treatment - comparison between photodegradation with TiO_2 and the photo-fenton reaction. *Chemosphere.* 30: 477-484

[22] O.M. Alfanoa, D. Bahnemannb,*, A.E. Cassanoa,b, R. Dillert c , R. Goslichb(2000) Photocatalysis in water environments using artificial and solar light. *Catalysis Today.* 58:199–230

[23] Roberto Comparelli, Davide Cozzoli, Giuseppe Mascolo, Angela Agostiano (2005) UV-induced photocatalytic degradation of azo dyes by organic-capped ZnO nanocrystals immobilized onto substrates. *Applied catalysis environmental.* 60:1–11

[24] J. M. Hermann, C. Guillard, P. Pichat (1994) Partial or complete heterogeneous photocatalytic oxidation of organic compounds in liquid organic or aqueous phases. *Catalysis Today.* 23: 313–333

[25] Barceló L D., López A. M. (2005) "Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes". Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC. Barcelona. España.

[26] Brooks P., Day R (1991) Non esteroideal antiinflammatory drugs, differences and similarities. *N Engl J Med.* 324:1717-1726

[27] Lanás A., Lorente S. (2001). "Gastropatía por antiinflamatorios no esteroideos". Programa de Actualización Nacional de Digestivo en Atención Primaria. 1ª ed. Madrid: LUZAN 5, S.A., 2.000.

[28] Paloma Carrillo Santiestevea , Ester Amado Guiradob, Josep Antoni de la Fuente Cadenasc , Enriqueta Pujol Riberaa , Cèlia Tajadad, Silvia Calvetd y Clara Pareja Rosselld (2008) Adecuación de la prescripción de antiinflamatorios no esteroideos y gastroprotección en atención primaria. *Aten Primaria.* 11:59-64

[29] Swierkosz TA, Jordan L, McBride M, McGough K, Devlin J, Botting RM. (2002) Actions of paracetamol on cyclooxygenases in tissue and cell homogenates of mouse and rabbit. *Medical Science Monitor.* 8:12

[30] Oliva S. D., Cánovas A., Mencías E (2001) Revisión de las intoxicaciones por paracetamol consultadas al Servicio de Información Toxicológica". Comunicación presentada en el XIV Congreso Español de Toxicología.

[31] Adams S.S. (1992) The propionic acids: a personal perspective. *Journal Clinical Pharmacology.* 32:317–323

[32] Baselt R. (2008) Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. *Biomedical Publications.* 8:758-761.

[33] Katzung, Bertram G (2007) Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, Disease-Modifying Antirheumatic Drugs, Nonopioid Analgesics, & Drugs Used in Gout. Basic & Clinical Pharmacology (9 edición). McGraw-Hill.

[34] Mosquera G. J.M. y Galdós A. P (2005) Farmacología clínica para enfermería, 4ª edición. Ed. Mc GrawHill- Interamericana. Madrid.

[35] Chaverri F. J (2004) Antiinflamatorios No Esteroidales Ciclooxygenasa Selectivos. Centro Nacional de Información de Medicamentos.

[36] Chapman, P.M., B. McDonald, P.E. Kickham y S. McKinnon (2006) Global geographic differences in marine metals toxicity. Marine Pollution Bulletin 52: 1081-1084.

[37] Grandjean P., Brown S.S., Reavey P., Young D.S. (1994) Biomarkers of chemical exposure: State of the art. Clinical Chemistry 40:1360-1362.

[37] Dutra, B. K., A. F. Fernandez, M. D. Failace, & T. G. Oliveira (2011) Effect of roundup® (glyphosate formulation) in the energy metabolism and reproductive trains of *Hyalella castroi* (Crustace Amphipoda, Dogielinotidae). Ecotoxicology. 20:255-263.

[38] Environment Canada. (1997) Biological test method: Test for survival and growth in sediment using the freshwater amphipod *Hyalella azteca*. Environmental Protection Service, 123:30-45.

[39] Alireza Javidmehr, Philip H. Kass, Linda A. Deanovic, Richard E. Connon, Inge Werner (2014) 10-Day survival of *Hyalella azteca* as a function of water quality parameters. Ecotoxicology and Environmental Safety. 115: 250–256

[40] Soledad A.J. (2007) Estrés oxidativo y su relación con el aporte de antioxidantes nutricionales en el paciente crítico”. Departamento de Fisiología. Universidad de Granada. 8-11.

[41] Esra Birben, Umit Murat Sahiner, Cansin Sackesen, Serpil Erzurum, Omer Kalayci (2012) Oxidative Stress and Antioxidant Defense. World Allergy Organization Journal. 5:9–19

[42] Luna L. A (2010) Mecanismos endógenos de generación de especies reactivas de oxígeno y respuesta celular antioxidante ante el estrés oxidativo. Instituto de geriatría. 1:107-108.

[43] Max Andresen H, Tomás Regueira H, Federico Leighton (2006) Oxidative stress in critically ill patients. 134: 649-656

[44] Jerlick A., Pitt A. R., Schaur R. J., Spickett C. M (2000) Pathway of phospholipid oxidation by HOC1 in human LDL, detected by LC-MS. Free Radical Biology Medicine. 28:673-82.

[45] Ela C. M., Castillo H. J. (2008) La peroxidación lipídica en el diagnostico del estrés oxidativo del paciente hipertenso. Facultad de Medicina "Calixto García" Ciudad de la Habana. Cuba.

[46] Méndez C. D. (2011) Proteómica redox de membrana de eritrocito humano en malaria y polimorfismos de grupos sanguíneos y G6PD. Universidad complutense de Madrid. Facultad de veterinaria. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Madrid.

[47] Teixeira H.D., Schumacher R.I., Meneghini R. (1993) Lower intracellular hydrogen peroxide levels in cells overexpressing CuZn-superoxide dismutase. Proceedings Natural Academy of Science USA; 90:7915-7922

[48] Norden, H., Tholen, A (1987) Electron Microscopy and Microanalysis. Chalmers University of Technology. Sweden

[49] Ludwig Reimer, P.W. Hawkes (1998) Scanning Electron Microscopy: Physics of Image Formation and Microanalysis. Springer Series in Optical Sciences Hardcover.

[50] Murr, Lawrence E., Marcel Dekker (1991) Electron and Ion Microscopy and Microanalysis : Principles and Applications. New York

[51] Raman, C.V. and K.S. Krishnan, (1928) A new type of secondary radiation. Nature. 121:501-502

[52] Long, D.A (2002) The Raman effect: A unified treatment of the theory of Raman scattering by molecules. John Wiley & Sons.

[53] Stuart, B.H., (2004) Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications, ed. D. Editions. John Wiley & Sons.

[54] Mohammadreza Khanmohammadi, Amir Bagheri Garmarudi, Nafiseh Khoddamui, Keyvan Shabani, Mohammadreza Khanlari (2010) A novel technique based on diffuse reflectance near-infrared spectrometry and back-propagation artificial neural network for estimation of particle size in TiO₂ nano particle samples. Microchemical Journal. 95:337–340

[55] P. W. Atkins y R. S. Friedman (1997) Molecular quantum mechanics, third edition, Oxford University Press. Inglaterra

[56] N. F. Mott and E.A. Davis (1971) Electronic processes in non-crystalline materials; Oxford: Clarendon Press; Inglaterra

[57] Lina María Franco Arias (2012) Efecto de la nitruración y el recocido en la actividad fotocatalítica de películas de TiO_2 crecidas por la técnica de pulverización catódica. Tesis de grado de Maestría. Universidad del Valle

[58] M. R. Gallego (1982) La Difracción de los Rayos X, Ed. Alambra, Madrid

[59] Leonid V. Azároff, Martin J. Buerger (1958) The Powder Method in X-Ray Crystallography, McGraw-Hill, New York.

[60] R. A. Young (1993) The Rietveld Method, International union of crystallography, Oxford Science Publication. Inglaterra.

[61] A. Albinati, B.T.M Willis (1982) The Rietveld Method in Neutron and X-Ray Powder Diffraction. Journal Applied. Crystallography. 15:361

[62] Vera Cuartero Yague (2012) Evolución de las Propiedades Multiferroicas del TbMnO_3 Mediante la Dilución de la Subred de Mn, Prensas Universitarias de Zaragoza, 5:26-27

[63] Weidler, P; J Luster; J Scheider; H Sticher & U Gehring (1998) The Rietveld method applied to quantitative mineralogical and chemical analysis of ferralitic soil. Europ. Journal of Soil Science 49: 95-105

[64] J-A. Dalmon, Ertl, Knözinger, Weitkamp (1997) Handbook of Heterogeneous Catalysis. Ed. VCH. Cap 9:3.1387

[65] J.A. Schwarz, C. Contescu, A. Contescu (1995) Methods of Preparation of Catalytic Materials. Chemical Reviews. 95:477-510

[66] Guzmán A. M., A. M. Fernández, Y. Franco, J. H. Bautista & J.E. Rodríguez Páez. Estudio de las reacciones de hidrólisis y condensación del titanio en presencia de acetilacetona. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias 31: 529-536

[67] P. R. Bueno, E. R. Leite, L. O. S. Bulhoes, E. Longo, C. O. Paiva – santos (2003) Sintering and mass transport features of (Sn, Ti)O₂ polycrystalline ceramics. Journal European Ceramic Society. 23:887-896

[68] Dennis Gloria Carolina Oviedo-Gómez, Marcela Galar-Martínez, Sandra García-Medina, Celene Razo-Estrada, Leobardo Manuel Gómez-Oliván (2010) Diclofenac-enriched artificial sediment induces oxidative stress in *Hyalella azteca*. Environmental Toxicology and Pharmacology. 29:39–43

[69] Bradford M (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microorganism quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry. 72:248–254

[70] Z.Y. Jiang, J.V. Hunt, S.P. Wolf (1992) Ferrous ion oxidation in the presence of xilenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. Analytical Biochemistry. 202; 384-389.

[71] Buege JA, & Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. Methods in Enzymology. 52:302–310

[72] Levine RL, Williams JA, Stadtman ER, & Shacter E (1994) Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 233:346–357.

[73] Misra HP, & Fridovich I (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry.* 247:3170–3175

[74] Radi R, Turrens JF, Chang LY, Bush K M, Carpo JD, & Freeman BA (1991) Detection of catalase in rat heart mitochondria. *Journal of Biological Chemistry.* 266:22028–22034

[75] Gunzler, W. and Flohe-Clairborne, A (1985) Glutathione peroxidase. In: Green-Wald. R.A. Ed. *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research.* CRC Press. 285-290

[76] J. Livage, Brinker, D.E. Clarck, D.R. Ulrich (1986) Better ceramics through. *Journal Material Research Society,* 73:717

[77] Pabón, Elizabeth; Retuert, Jaime; Quijada, Raul and Zárata, Antonio (2004) TiO₂–SiO₂ mixed oxides prepared by a combined sol–gel and polymer inclusion method. *Microporous and Mesoporous Materials.* 67:2-3

[78] A. Amlouk, L. El Mir, S. Kraiem, S. Alaya (2006) Elaboration and characterization of TiO₂ nanoparticles incorporated in SiO₂ host matrix. *Journal of Physics and Chemistry of Solids,* vol. 67:1464-1468.

[79] So, WW, Park, SB, Kim, KJ, Shin, CH, Moon, SJ (2001) *The crystalline phase stability of titania particles prepared at room temperature by the sol-gel method*. Journal Materials Science. 36:42-99

[80] E. Haro-Poniatowski, S. Vargas-Mufios, R. Arroyo-Murillo, R. Rodriguez-Talavera, Ruth Diamant (1995) Laser-induced crystallization of co(ii)-doped titania. Materials Research Bulletin. 31:329-334

[81] Biswajit Choudhury, Munmun Dey, Amarjyoti Choudhury (2013) Defect generation, d-d transition, and band gap reduction in Cu-doped TiO₂ nanoparticles. International Nano Letter. , 3:25