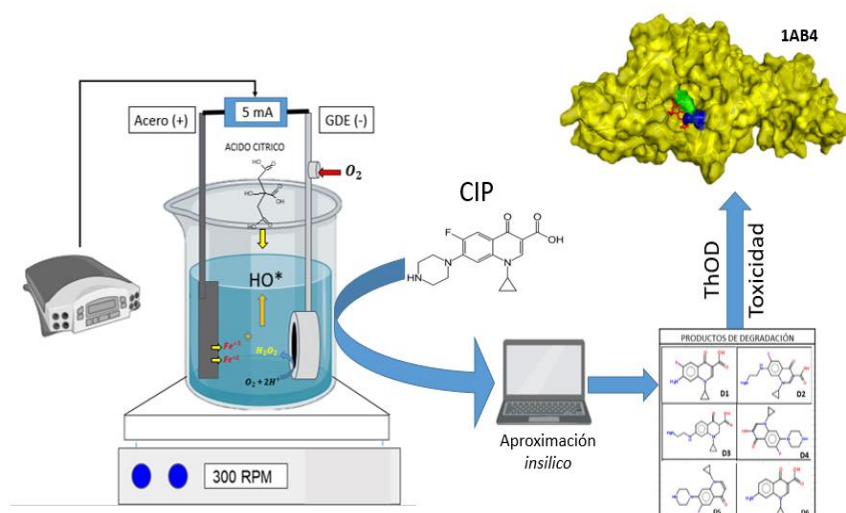


Aplicación de un Sistema Electro-Fenton con un Ánodo de Sacrificio de Acero y un Cátodo de Difusión de Gas como Alternativa para la Remoción de Contaminantes de Preocupación Emergente

Application of an Electro-Fenton System with a Steel-Stainless Sacrifice Anode and a Gas diffusion Cathode as an Alternative for the Removal of Contaminants of Emerging Concern



Sistema electro-Fenton propuesto y acercamiento *in silico* a la degradación de una molécula modelo y la pérdida de capacidad antibacteriana

Aplicación de un Sistema Electro-Fenton con un Ánodo de Sacrificio de Acero y un Cátodo de Difusión de Gas como Alternativa para la Remoción de Contaminantes de Preocupación Emergente

Application of an Electro-Fenton System with a Steel-Stainless Sacrifice Anode and a Gas diffusion Cathode as an Alternative for the Removal of Contaminants of Emerging Concern

Cristian Felipe Siabato Vargas *

** Programa de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad Antonio Nariño*

csiabato18@uan.edu.co

Dirigido por: Alejandro Moncayo Lasso, Dr. Sci.

Resumen

La aparición de compuestos farmacéuticos tanto en aguas hospitalarias como en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales y los grandes problemas potenciales que esto puede generar en el medioambiente y en la salud humana, ha llevado a la necesidad de plantear tratamientos complementarios, principalmente terciarios que sean capaces de remover eficientemente este tipo de micro-contaminantes. Dentro de esos tratamientos están los sistemas basados en la reacción Fenton, un tipo de proceso avanzado de oxidación, el cual ha demostrado ser eficiente en la remoción de una gran variedad de contaminantes. En este trabajo se planteó el uso de un sistema electro-Fenton en el que las especies de hierro y el peróxido de hidrógeno, reactivos necesarios en la reacción Fenton, son electro-generados, en el primer caso, a partir de un ánodo de sacrificio de acero inoxidable reciclado (tipo austenítico - AISI 420 - proveniente de un residuo

reciclable), y en el caso del peróxido de hidrógeno, empleando un cátodo de difusión de gas (con fibra de grafito). El sistema se utilizó sin modificación de pH, en presencia de ácido cítrico. Los resultados muestran que al aplicar una densidad de corriente de 0.31 mA/cm^2 sobre el ánodo, se generó una concentración de 0.07 mM después de 5 minutos de haber encendido el sistema y que aumenta progresivamente con el tiempo hasta un máximo de 0.18 mM después de 60 min. Resultados iniciales mostraron que el hierro electro-generado, en combinación con el peróxido de hidrógeno 0.40 mM , también electro-generado; conllevan a la degradación completa de la ciprofloxacina CPF (un compuesto modelo de contaminantes de preocupación emergente), por lo que se espera que disminuya también su actividad antimicrobiana. Teniendo en cuenta datos de degradación de la ciprofloxacina mediante sistemas electro-Fenton similares y productos de degradación detectados durante el tratamiento, se realizaron cálculos *in silico* de ThOD, Log P y acoplamiento molecular “Docking” para determinar la biodegradabilidad, la toxicidad y actividad antimicrobiana, respectivamente, tanto del compuesto original (CIP) como de los productos de degradación. Los cálculos mostraron una tendencia a aumentar la degradabilidad de los intermediarios formados y a disminuir tanto la toxicidad como la capacidad antimicrobiana debido a los bajos valores de inhibición enzimática. Los sistemas electro-Fenton han demostrado ser eficientes en la remoción de este tipo de compuestos y tienden a ser sistemas sustentables y de bajo consumo energético, cuando se emplean alternativas en su implementación como la demostrada en éste trabajo, al emplear materiales de reúso.

Palabras clave: Electro-Fenton, Electrodo de sacrificio, Contaminantes de Preocupación Emergente (CPE), Ciprofloxacina, Cálculos *in silico*.

Abstract

The appearance of pharmaceutical compounds both in hospital waters and in the effluents of wastewater treatment plants, and the great potential problems in the environment and in human health that this can generate, has led to the need to propose complementary treatments, mainly tertiary treatments that are capable of efficiently removing this type of micro-contaminants. Among these treatments, systems based on the Fenton reaction (a type of advanced oxidation process) have been evaluated, which has proven to be efficient in removing a wide variety of contaminants. In this work, the use of an electro-Fenton system was proposed, in which the iron and hydrogen peroxide species, necessary reagents in the Fenton reaction, are electrogenerated. In the first case, from a recycled stainless-steel sacrificial anode (austenitic type - AISI 420 - from a recyclable residue), and in the case of hydrogen peroxide, using a gas diffusion cathode (with fiber of graphite). The system was worked in the presence of citric acid at near-neutral pH value. The results show that when the current density of 0.31 mA/cm^2 was applied on the anode, a concentration of 0.07 mM of iron species was generated after 5 minutes, which increases progressively until a maximum of $\sim 0.18 \text{ mM}$ after 60 min. Initial results showed that electro-generated iron species, in combination with 0.40 mM hydrogen peroxide, was also electro-generated; leads to the complete degradation of ciprofloxacin, CIP (a model compound of contaminants of emerging concern), therefore its antimicrobial activity is expected to decrease as well. Taking into account degradation data (from other authors) of ciprofloxacin using similar electro-Fenton systems, and degradation products detected during treatment, *in silico* calculations of ThOD, Log P and molecular coupling "Docking" were performed to determine biodegradability and toxicity, both of the original compound (CIP) and the degradation products. The calculations show a tendency to increase the degradability of the intermediates formed and to decrease both toxicity and antimicrobial capacity due to low

enzyme inhibition values. Electro-Fenton systems have proven to be efficient in removing this type of compound and tend to be a sustainable system with low energy consumption, when alternatives are used in their implementation, such as the one demonstrated in this work, by using reuse materials.

Keywords: Electro-Fenton, Sacrificial-electrode, Contaminants of Emerging Concern (CEC), Ciprofloxacin, *in silico* calculation's.

1. INTRODUCCIÓN

El agua es la base indispensable para la vida, este líquido vital constituye cerca del 80% de la masa del cuerpo de la mayoría de los organismos y hace parte de los procesos metabólicos que sustentan la vida y es primordial en el equilibrio de los ecosistemas. Un 70% de la corteza de nuestro planeta está cubierto por agua y cerca del 2.5% es agua dulce, por lo que un pequeño porcentaje del agua dulce (menor al 1%) está disponible para diferentes actividades humanas. Estas actividades generan una alta carga contaminante (química y biológica) en el agua, que ha ido aumentando durante las últimas décadas (UNESCO, 2018), uno de estos tipos de contaminación son los denominados contaminantes de preocupación emergente "CPE", son un grupo de compuestos de diferente naturaleza química que se encuentran por lo general en concentraciones bajas (en el rango de los $\mu\text{g/L}$ a los ng/L) y que han sido identificados en diferentes tipos de agua, como en aguas de efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) o en aguas hospitalarias (Jardim et al, 2004).

Entre los CPE se pueden encontrar moléculas de tipo farmacéutico (Botero-coy et al., 2018), como antibióticos, que pueden propiciar la aparición de bacterias patógenas resistentes, lo cual es considerado una de las grandes problemáticas de salud a nivel mundial (Alós, 2015). Se ha demostrado que las PTAR no son eficientes para la eliminación de este tipo de contaminantes, ya que no están diseñadas para removerlos (Janet et al., 2012). De manera convencional estas plantas cuentan con procesos primarios basados en procesos físicos-químicos de coagulación-floculación, para remoción de material grueso, grasas y de algunos contaminantes orgánicos, en algunos casos cuentan con sistemas secundarios basados en procesos de degradación biológica que no son eficientes en la remoción de algunos CPEs (Hernández et al., 2015). En Colombia se han llevado a cabo algunos estudios de identificación y detección de CPE en aguas residuales de las ciudades de Bogotá, Medellín; aguas residuales hospitalarias en el municipio de Tumaco y aguas superficiales de Florencia-Caquetá, en donde se destaca la presencia de un sin número de compuestos como drogas ilícitas y compuestos farmacéuticamente activos, en los que se detectaron algunos antibióticos, como la ciprofloxacina (CIP), en concentraciones cercanas a los 20 µg/L (Botero-coy et al., 2018).

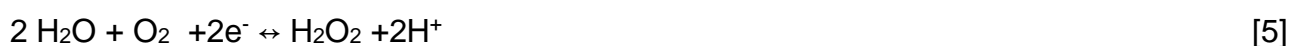
La implementación de sistemas adicionales terciarios, como los procesos avanzados de oxidación (PAOs), que permitan llevar a la degradación de micro-contaminantes tales como los CPE, es una interesante alternativa para el tratamiento de aguas de desecho (Patiño & Ordóñez, 2014). Estos tratamientos consisten en modificar químicamente la molécula por un ataque inespecífico de especies oxidantes con el fin de oxidar por completo (Ziolo et al., 2015), hasta lograr su mineralización formando dióxido de carbono y agua, que no representan problema para los ecosistemas (Miklos et al., 2018). Adicionalmente, las especies oxidantes generadas a partir de reacciones definidas, según el proceso PAOs aplicado (Rahmani et al., 2018), tienden a mejorar las características químicas y

organolépticas del agua. Estos tratamientos han demostrados ser eficientes en la degradación de diferentes antibióticos presentes en aguas simuladas y aguas residuales (Chávez et al, 2009; Janet et al., 2012; Michael et al, 2018). Entre estos sistemas cabe destacar aquellos sistemas que se basan en la reacción Fenton (Kurt, et. al., 2017), la cual consiste en la reacción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) con el ion ferroso (Fe^{+2}), llevando principalmente a la formación de radicales hidroxilo (Ec. 1-3) (Miklos, et al.,2018, Yang, et al, 2019), especie con un alto potencial de óxido reducción ($E^0 = 2.80$ eV) por lo que es capaz de oxidar especies orgánicas indistintamente (Ec. 4).



Las reacciones tipo Fenton, sin embargo, tienen algunas limitaciones como el consumo de sus reactivos y además debe trabajarse a un valor de pH cercano a 3.0, con el fin de evitar la precipitación de las especies de hierro (Zhao et al., 2018), lo que implica aumento en los costos por las etapas acidificación y posterior neutralización. Estos inconvenientes se pueden resolver gracias al uso de ácidos orgánicos como el ácido oxálico, cítrico, tartárico, entre otros; que pueden generar complejos tipo metal-quelato con el hierro, permitiendo trabajar a valores de pH cercanos al neutro (Martínez, et al 2018). En los sistemas tipo foto-Fenton, el uso de éstos ácidos lleva a una foto-reducción de las especies de hierro permitiendo reacciones redox cíclicas de los iones ferrosos formados en la reacción Fenton

(Morgada, 2002). Adicional a esto, el consumo de las especies reactantes necesarios para la reacción Fenton puede disminuirse si estos son generados mediante sistemas electroquímicos (sistemas electro-Fenton). En este caso se induce una corriente a través de determinados electrodos en presencia de un electrolito, y mediante reacciones de óxido reducción simultáneas en la superficie de los electrodos, se puede llevar a la generación de peróxido de hidrógeno sobre el cátodo (Martínez et al, 2018) (Ec.5-6) y de especies de hierro sobre un ánodo de sacrificio (Minghua Zhou, 2018). (Ec. 7-8)



En el sistema electro-Fenton se ha demostrado mayor eficiencia al utilizar ánodos especializados como son el de diamante dopado con boro (BDD) o ánodos dimensionalmente estables (DSA), que además de poder eliminar el contaminante orgánico a través de una oxidación anódica directa, lo pueden hacer a través de la formación de otras especies oxidantes secundarias que pueden llevar a una total degradación y mineralización (Yang & Oturan, 2019). Sin embargo, a pesar de ser una metodología de operación aparentemente sencilla, su implementación a escala industrial tiende a ser difícil (Rosales et al., 2018), debido a que su aplicación sugiere altos costos por el uso de ánodos como el BDD o el DSA (su precio oscila entre los 0.65 a los 1.05 dólares por cada centímetro cuadrado. Recuperado de <https://hbyichangwiremesh.en.alibaba.com>), sumado a la

necesidad de adicionar sales de hierro (en algunos casos en forma de minerales ferrosos) generando altos costos de instalación. En la intención de disminuir estos costos, se ha planteado la implementación de ánodos de sacrificio, con los que se pretende electrogenerar especies de hierro mediante procesos de corrosión electroquímica (Guadalupe & Manrique, 2015), en lugar de utilizar minerales ferroso como fuentes de hierro (P.V. Nidheesh et al, 2017). Estas metodologías normalmente han sido utilizadas para la remoción de diversidad de contaminantes (materia orgánica, metales pesados, etc.) por electrocoagulación (Chávez et al., 2009), y se ha venido empleando hace algunos años de manera exitosa en los sistemas basados en la reacción Fenton (Mejía, 2005). En los procesos en que se emplea un ánodo de sacrificio, un parámetro importante es su vida útil, esto porque una vez iniciado el proceso este sufrirá procesos de corrosión, que conlleva a pérdida del material. Tener materiales con largos tiempo de vida útil es indispensable en aras de minimizar el costo. Por otro lado el uso de corrientes elevadas puede llevar a un rápido desgaste del ánodo generando incluso altas concentraciones de las especies de hierro, lo cual es poco beneficioso para aplicarlo a la remoción de CPE, ya que la saturación por especies de hierro en matrices acuosas tienden a generar lodos de óxidos de hierro (Mondal & Sinha, 2018). Existe la posibilidad de emplear aleaciones de aceros inoxidable que permiten una liberación de especies de hierro controlada en sistemas de electrogeneración (Kočanová et al, 2016); por ejemplo aleaciones formadas por 89% hierro, 10% cromo y 1% carbono (Padilla, 1999, Chaparro et al, 2015), que difieren de aquellas aleaciones de acero crudo (97% Fe y 3% C), resisten muy bien a los procesos de corrosión ambiental al presentar una estructura cristalina de base cuadrada cúbica que impide la formación de óxidos de hierro, y tienden a sufrir menos procesos de pasivación de su superficie por estar en contacto con oxígeno. Sin embargo, el utilizar aleaciones de acero inoxidable de alta pureza y calidad, no permite una disminución de costos considerable.

Por lo anterior, y teniendo en cuenta que se pueden encontrar materiales de esta naturaleza de aleaciones (tipo austeníticas) en diferentes tipos de residuos, que no pueden ser reintegrados fácilmente la industria por presentar baja maleabilidad térmica (a diferencia del acero crudo), se plantea reutilizar el material de desecho como fuente para preparación de ánodos de sacrificio a muy bajo costo. En Colombia, según el comité colombiano de productores de acero, se producen alrededor de 400 mil toneladas de acero inoxidable al año (se registraron 1.2 millones de toneladas en el año 2018), de lo cual se tiene una tasa de aprovechamiento a largo plazo del 96%. Esto significa que existe alrededor de 16 mil toneladas al año (que corresponde 4% de la producción) de producto de desecho o producto no reciclable (no aprovechable en la industria) de la industria siderúrgica nacional (ANDI, 2018).

Por otro lado, los sistemas electro-Fenton han sido ampliamente utilizados en la degradaciones de una gran variedad de CPE, demostrando su capacidad para removerlos. De estas remociones se han reportado también gran variedad de productos de degradación (PD), que dependen de las condiciones y configuración del sistema aplicado. Estos PD, pueden ser más tóxicos para distintos organismos (Wang et al., 2020) y menos degradables que su compuesto de partida, por lo que es recomendable realizar pruebas de biodegradabilidad y de toxicidad a las muestras de aguas contaminadas, durante diferentes periodos del tratamiento (Wang et al, 2020). Estas pruebas conllevan un gran desarrollo experimental, muchas veces engorroso, y que genera gasto de tiempo, recursos y en muchas ocasiones, no se puede garantizar la veracidad de los resultados obtenidos, llevando a porcentajes de error relativamente altos. Sin embargo, actualmente gracias a herramientas de cálculo informático sencillo, se pueden realizar acercamientos de estas variables (toxicidad, degradabilidad, etc.) mediante metodologías *in silico*, tales como: i) evaluar el perfil de biodegradabilidad a través de cálculos computacionales teóricos de

demanda de oxígeno ThOD (Serna-Galvis et al., 2019), ii) evaluar la toxicidad y bioacumulación de determinado compuesto mediante perfiles de lipofilicidad (log P) y iii) posible pérdida de actividad antimicrobiana mediante metodologías de acoplamiento molecular (*molecular docking*) (Ferreira, et al 2015).

Los objetivos del presente trabajo fueron i) estudiar la electro-generación de especies de hierro empleando un ánodo de sacrificio de acero-inoxidable (referencia AISI 420) obtenido de material de desecho, en diferentes condiciones de trabajo como densidad de corriente y pH, ii) determinar la capacidad del cátodo de difusión de gas para electro-generar peróxido de hidrógeno, iii) evaluar la eficiencia del sistema electro-Fenton propuesto para degradar ciprofloxacina (compuesto modelo de CPE) y iv) emplear herramientas computacionales para hacer una aproximación a la evaluación de la degradabilidad (ThOD), toxicidad (Log P) y disminución de la actividad antimicrobiana (Docking) tanto del compuesto contaminante modelo, ciprofloxacina como de sus productos de degradación (reportados en trabajos previos por otros autores). Todo esto con la intención de aportar una posible alternativa en la reducción de costos de los sistemas electro-químicos aplicados en la remoción de contaminantes para su potencial aplicación a escalas mayores.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo fue realizado en los laboratorios de la línea de investigación en Remediación Ambiental y Procesos Avanzados de Oxidación adscrita del Grupo de Investigación en Ciencias Biológicas y Químicas de la Facultad de Ciencias de la Universidad Antonio Nariño.

2.1. Reactivos

Para la realización de los ensayos se utilizó ácido cítrico ($C_6H_8O_7$), ácido sulfúrico (H_2SO_4), sulfato de sodio (Na_2SO_4), fenantrolina ($C_{12}H_8N_2$), hidroxilamina (H_3NO), acetato de sodio (CH_3COONa), fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4), yoduro de potasio (KI), heptamolibdato de amonio ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$); todos grado analítico de Merck. Todas las soluciones fueron preparadas con agua ultra pura producida por un equipo Millipore Milli-Q con una resistividad de $> 18 M\Omega cm$ a $25^\circ C$. El estándar de ciprofloxacina grado HPLC fue obtenido de Sigma Aldrich.

2.2. Celda electroquímica

Se empleó una celda electroquímica que consta de un vaso de vidrio de 250 mL, abierto no dividido, operado en modo batch a temperatura ambiente. La celda está equipada con un cátodo y un ánodo (dependiendo del ensayo de diferentes características) ubicados en el centro de la celda a una distancia de 2.0 cm entre ellos. A la celda se le adicionaron 200 mL de electrolito soporte, el cual consiste en una solución 0.05 M de sulfato de sodio. En los casos en los que se adicionó ácido cítrico, este se encontraba en una concentración de $3.03 \times 10^{-5} M$ (Martínez et al., 2018). Cuando el pH fue ajustado a 3.0 ± 0.1 , se adicionó una solución 0.1 M de ácido sulfúrico, haciendo las mediciones con un pH-metro HI 2212 de HANNA Instruments. La solución fue agitada continuamente durante todo el proceso con una barra magnética a una velocidad de 300 rpm en un agitador magnético ARECT de VELP Scientifica, con el fin de asegurar la homogeneidad de la solución y el transporte adecuado de los reactivos desde y hacia los electrodos. Como molécula modelo para los ensayos de degradación se empleó el antibiótico ciprofloxacina (CIP).

Las diferentes configuraciones del sistema electro-Fenton empleadas en este trabajo

fueron: i) producción de especies de hierro a partir ánodo de sacrificio de acero inoxidable (aleación AISI 420) con un cátodo inerte de acero inoxidable, ii) producción de especies oxidantes (H_2O_2) sobre un cátodo de difusión de gas GDE, con un ánodo inerte de grafito, en este caso la celda fue burbujeada con aire de un compresor de aire para saturar la solución de oxígeno y asegurar su presencia durante el proceso, complementado con agitación magnética a 300 rpm. Diferentes densidad de corriente fueron aplicadas a los ánodos (entre 0.31 mA/cm^2 y 3 mA/cm^2 ; para la generación de especies de hierro) y los cátodos (entre 0.39 mA/cm^2 y 1.20 mA/cm^2 ; para la generación de especies oxidantes H_2O_2).

2.3. Medición de especies de hierro

La medición de especies de hierro se realizó mediante el método colorimétrico con fenantrolina, empleando una curva de calibración por patrón externo, previamente estandarizada (patrones entre 1.0×10^{-3} y 3.58×10^{-3} mM). En una celda de cuarzo de 2.0 mL, se adicionaron 1320 μL de la muestra (o estándar en el caso de las curva de calibración), 80 μL de solución de hidroxilamina (0.1 M), 200 μL de una solución de fenantrolina (5.54×10^{-3} M) y 400 μL de una solución de acetato de sodio (0.1 M). Para la determinación de iones ferroso se omitió la adición de hidroxilamina y se lleva a volumen con electrolito. Se homogeneizó la muestra y se midió la absorbancia de la solución a una longitud de onda de 510 nm después de 15 min en oscuridad en un espectrofotómetro UV-Vis (Martínez, et al 2018).

2.4. Determinación de la formación complejos de hierro – citrato

La medición de la formación de complejos de hierro-citrato se realizó en un espectrofotómetro UV-Vis en configuración de barrido en el rango longitudes de onda entre 600 nm y 200 nm, con intervalo de longitudes de onda igual a 5. Se hicieron barridos de

solución de cloruro de hierro (III) , solución de sulfato de hierro (II), solución de ácido cítrico sola y solución de peróxido de hidrógeno, todas en concentraciones de 5.0 mg/L. Igualmente se hicieron barridos de las mezclas de soluciones de sulfato de hierro + ácido cítrico; cloruro de hierro (III) + ácido cítrico; peróxido de hidrógeno + sulfato de hierro y peróxido de hidrógeno + sulfato de hierro + ácido cítrico; todo esto con el fin de simular las condiciones de la celda electroquímica y siguiendo la relación estequiometría de reacción (1:1) entre la concentración molar de hierro y ácido cítrico (Caram, 2018). De igual manera se hicieron barridos con soluciones de hierro electro-generado en el sistema en presencia de ácido cítrico el cual fue posteriormente adicionado.

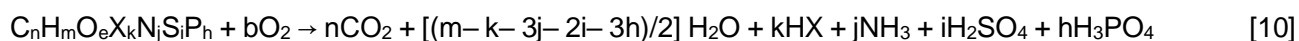
2.5. Medición de oxidantes electro-generados

La concentración de las especies oxidantes totales electro-producidas en el sistema electroquímico se determinó por el método yodométrico, empleando una curva de calibración por patrón externo, previamente estandarizada (patrones entre 0.1 y 2.0 mM). En una celda de cuarzo de 2.0 mL se adiciona una alícuota de 600 μ L de la muestra (o estándar), 1350 μ L de la solución de yoduro de potasio de 0.1 M y 50 μ L de la solución de heptamolibdato de amonio (0.01 M). Se homogeneizó la muestra y se midió la absorbancia de la solución a una longitud de onda de 350 nm después de 15 min en la oscuridad en un espectrofotómetro UV-Vis (Martínez, et al 2018).

2.6. Cálculo de la demanda teórica de oxígeno (ThOD) de la CIP y sus productos de degradación.

La metodología planteada para determinar la demanda teórica de oxígeno fue adaptada de los trabajos previos (Serna-Galvis et al., 2019; Kim et al., 2000), donde se calcula la ThOD, partiendo de la fórmula del compuesto en estudio ($C_nH_mO_eX_kN_jSiP_h$), donde X representa la

suma de los halógenos. Adicionalmente, se supone que todo el nitrógeno orgánico se transforma en amoníaco y que la oxidación del carbono, fósforo y azufre que se produce en la molécula es estequiométrica (Ec. 10)



El valor del coeficiente b se define como las moles de oxígeno necesarias para oxidar un mol de la sustancia orgánica y se calcula utilizando la (Ec.11.)

$$b = n + [(m-k-3j-2i-3h)/4] - (e/2) + 2i + 2h \quad [11]$$

El ThOD (en mg O₂/L) para 1 mmol/L de materia orgánica (C_nH_mO_eX_kN_jSiP_h) se obtiene de la siguiente manera (Ec. 12):

$$ThOD = b \cdot 32 \quad [12]$$

Con lo anterior se puede determinar la función de estado $\Delta ThOD$, la cual es calculada por diferencia entre ThOD del producto de degradación y el compuesto original (Ec.13).

$$\Delta ThOD = ThOD \text{ producto de degradación} - ThOD \text{ compuesto original} \quad [13]$$

2.7. Evaluación de toxicidad de la CIP y sus PD mediante el cálculo de perfil de lipofilicidad Log P

El coeficiente de partición entre el n-octanol y el agua ($\log P_{O/w}$) es el descriptor clásico de la lipofilicidad, para el que se utilizan múltiples predictores con el fin de seleccionar los métodos más precisos para una serie química determinada y generar una estimación (Mannhold, R, et al. 2009; Ren et al., 2010). El modelo predictivo llamado W LogP implementado en la plataforma SwissADME, es un método puramente atomístico basado en el sistema fragmentario de Wildman y Crippen, que incluye factores correctivos y una

comparación con una base de datos (Wildman, S. & Crippen, G. 1999). El perfil de Log P/w calculado para una sustancia se puede relacionar con la capacidad de atravesar estructuras lipofílicas tales como las membranas plasmáticas. También permite relacionarlo con el tipo de transporte hacia el interior de la célula mediante un coeficiente de permeabilidad que se obtiene mediante el servidor PerMMm (Lomize et al., 2019). Ese coeficiente de permeabilidad establece la evaluación teórica de la permeabilidad pasiva de las moléculas a través de la bicapa lipídica basándose en la teoría de la solubilidad-difusión no homogénea (coeficiente de permeabilidad de bicapa lipídica) (Lomize & Pogozheva, 2019). Adicionalmente se calculó la velocidad de permeabilidad J mediante una derivación de la ley de fick (Delgado, 2014) (Ec. 14)

$$J = - P \times \Delta c \quad [14]$$

Donde P es el coeficiente de permeabilidad de membrana y Δc es la diferencia entre concentraciones de la molécula evaluada en ambas parte de la bicapa, la cual en este caso se asume como un valor de n concentración en el exterior de la célula y un valor 0 de concentración al interior. Por último se llevó a cabo la predicción de la capacidad de inhibición enzimática mediante el servidor MOLinspiration (<http://www.molinspiration.com>), en donde se realiza una comparación de las moléculas evaluadas con fármacos modelos que son inhibidores de la actividad enzimática. Esto con el fin de determinar la posibilidad de unión de los compuestos de degradación a determinadas enzimas comparándola con la capacidad inhibitoria de CIP.

2.8. Evaluación de actividad antimicrobiana de la CIP y los PD mediante cálculo de acoplamiento molecular (docking)

Para la metodología de acoplamiento molecular se utilizó el autodock vina v1.1.2, mediante un acoplamiento de ligando flexible y receptor rígido, se utilizó como objetivo el dominio de unión de ruptura a quinolonas de la cadena A de ADN girasa de *E. Coli* extraída del Protein Data Bank (1AB4) esto según (Akter et al., 2012), la cual se procesó; se protonó la estructura y se añadieron las cadenas laterales que faltaban. Se eliminaron las moléculas de agua y los cofactores con los que se resuelve la estructura cristalina (Ferreira et al., 2015). Se estableció como punto de unión alostérico los residuos Ser 111, Gln 267, Glu 94, Glu 267, Asp 113, Ser 97 (Aziz, et al 2011), determinando como residuos responsables de la inhibición enzimática la interacción con la Aps 87 y Arg 91 (Peña, 2015). Por otro lado, los ligandos virtuales (CIP, PD1, PD2, PD3, PD4, PD5 Y PD6) se trataron a partir de la revisión de las posiciones de sus átomos y de todos sus enlaces, tomando como referencia la estructura mostrada en la base de datos PubChem para la molécula inicial CIP y las estructuras obtenidas a partir de los datos de espectrometría de masas para los productos de degradación, donde se modeló los ligandos a partir de su estructura 2D (Rakhshandehroo et al, 2018; Gupta & Garg, 2018). Empleando el programa Avogadro se corrigieron ángulos mediante método gaussiano. Para el docking en condiciones de pH 6.1 en el programa autodock tools v4.2 se estableció la raíz de torsión y los posibles puntos de torsión, esto se realizó con cada uno de los productos de degradación (Peña, 2015). Posteriormente, se realizó una inspección visual de los resultados en el programa Pymol, para determinar el grado de similitud entre las poses generadas y las poses nativas, en base a la energía necesaria para la interacción estable.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Validación de técnicas

3.1.1. Validación de la técnica espectrofotométrica para la medición de oxidantes

Siguiendo la metodología de medición de especies oxidantes descrito con anterioridad, se realizó la curva de calibración utilizando diversas concentraciones de peróxido de hidrógeno grado reactivo (Fig. 1). Los resultados demuestran un comportamiento lineal que indica una correlación entre la concentración y la señal de absorbancia del complejo formado con los oxidantes de la muestra, corroborado por un valor de coeficiente de correlación lineal estadístico (R^2) de 0.9984.

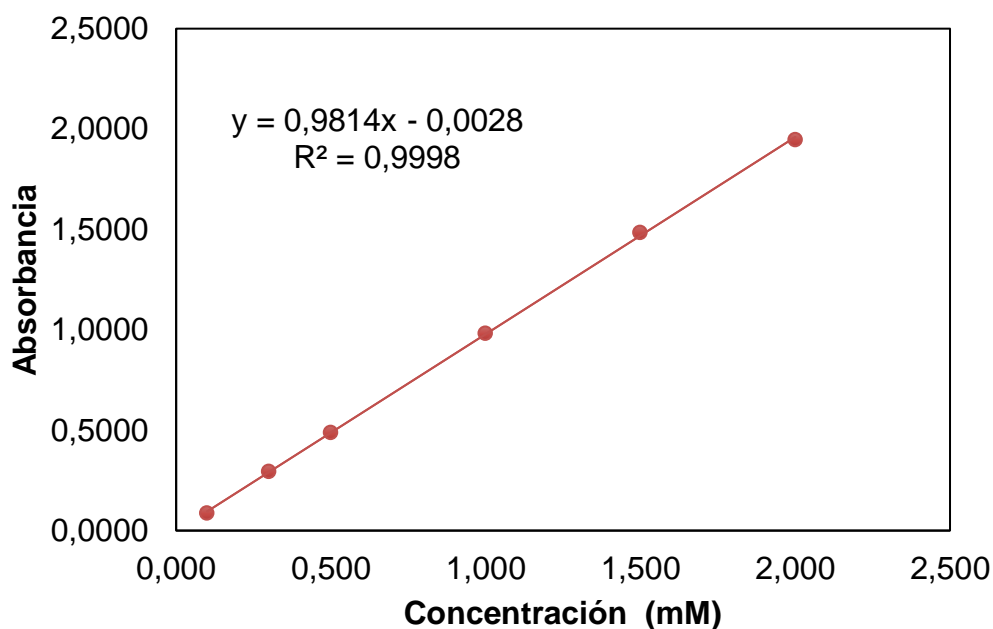


Figura 1. Curva de calibración de oxidantes con un rango de cuantificación de 0.1 a 2.0 mM

Para determinar la precisión del método implementado se realizó las medidas por triplicado de los puntos de calibración así como repeticiones de las medidas en diferentes días esto

con el objetivo de eliminar la variabilidad de la medida por variantes ambientales e instrumentales. Todas las mediciones tuvieron un coeficiente de varianza menor al 2%. Igualmente, se determinó la exactitud del método calculando el porcentaje de recuperación de las medidas de las concentraciones analizadas, las cuales estuvieron entre el 86% y el 99% superiores al 3% (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de exactitud y precisión del método para la medición de oxidantes

Concentración (mM)	Concentraciones según la Curva de Calibración			PROMEDIO	DES	%C.V	% de recuperación
0,100	0,085	0,087	0,087	0,0863	8,0,E-04	0,928	86,321
0,300	0,291	0,295	0,298	0,295	3,5,E-03	1,176	98,300
0,500	0,486	0,489	0,489	0,488	2,0,E-03	0,410	97,597
1,000	0,982	0,985	0,982	0,983	2,0,E-03	0,204	98,284
1,500	1,495	1,492	1,464	1,483	1,7,E-02	1,153	98,898
2,000	2,001	1,904	1,936	1,947	5,0,E-02	2,546	97,356

Se obtuvo un límite de cuantificación de 5.44×10^{-2} mM el cual se aceptó, teniendo en cuenta que la concentración de las muestras tomadas del sistema EF, las cuales fueron superiores a 0.10 mM. Se obtuvo un límite de detección de 3.09×10^{-2} mM, garantizando que el ensayo no sólo posee una buena sensibilidad para la cuantificación de los oxidantes generados, sino también para su detección. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos se puede afirmar que el método espectrofotométrico se encuentra validado, y es una herramienta importante para determinar la cantidad de oxidantes generados, durante todos los experimentos de degradación de mediante el proceso EF.

3.1.2. Validación de la técnica espectrofotométrica para la medición de especies de hierro en solución

Siguiendo la metodología de medición de especies de hierro descrito con anterioridad, se realizó la curva de calibración utilizando diversas concentraciones de sulfato de hierro grado reactivo (Fig. 2). Los resultados demostraron un modelo lineal lo que indica una correlación entre la concentración y la señal de absorbancia proporcionada por la formación del complejo coloreado del analito. Lo que demuestra coeficiente de correlación lineal estadístico (R^2) de 0.9989. Se realizaron medidas por triplicado de los puntos de calibración obteniendo unos coeficientes de variación menores del 2% entre las medidas lo cual implica una baja dispersión entre las mediciones (Tabla 2).

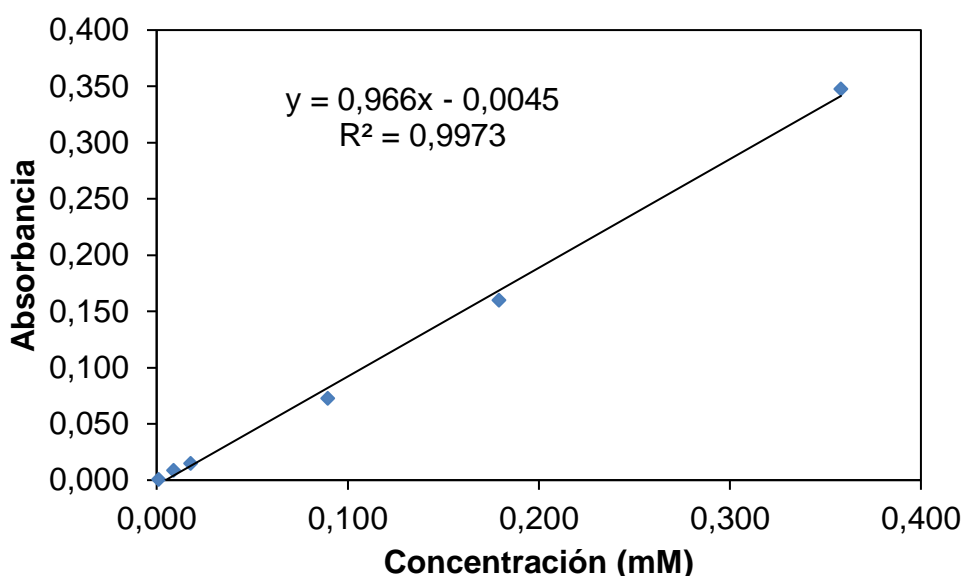


Figura 2. Curva de calibración de especies de hierro con un rango de cuantificación de 0.001 a 0.350 mM.

Para determinar la precisión del método implementado se realizó las medidas por triplicado de los puntos de calibración así como repeticiones de las medidas en diferentes días esto con tal de eliminar la variabilidad de la medida por variantes ambientales e instrumentales las mediciones tuvieron un coeficiente de variación menor al 2%, se determinó la exactitud

al determinar un porcentaje de recuperación de las medidas de las concentraciones analizadas las cuales estuvieron entre el 80 y el 98% (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados de exactitud y precisión del método para la medición de especies de Hierro

Concentración (mM)	Concentraciones según la Curva de Calibración			PROMEDIO	DES	%C.V	% de recuperación
0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	2,E-04	2,668	98,481
0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	2,E-04	2,293	98,659
0,018	0,014	0,015	0,015	0,015	3,E-04	2,295	82,551
0,090	0,073	0,073	0,073	0,073	4,E-04	0,528	81,509
0,179	0,161	0,161	0,158	0,160	2,E-03	0,965	89,253
0,358	0,348	0,349	0,346	0,348	1,E-03	0,384	97,104

Se obtuvo un límite de cuantificación de 2.69×10^{-3} mM el cual se aceptó, teniendo en cuenta que la concentración de las muestras tomadas del sistema EF, fueron superiores a 8.95×10^{-3} mM. Se obtuvo un límite de detección de 5.37×10^{-4} mM, garantizando que el ensayo no sólo posee una buena sensibilidad para la cuantificación del hierro en solución, sino también para su detección. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la evaluación de los parámetros de validación establecidos, se confirmó que el método espectrofotométrico se encuentra validado, y es una herramienta importante para determinar la cantidad de hierro en solución, durante todos los experimentos de electro-generación y durante los test de degradación de mediante el proceso EF.

3.2. Electro-generación de los reactivos Fenton

3.2.1. Electro-generación de especies de hierro

Siguiendo la metodología anterior para la configuración de la celda electroquímica y basándose en el trabajo de (Kočanová & Dušek, 2016), se evaluó la capacidad de dos tipos de materiales de ánodo de sacrificio en la electro-generación de especies de hierro. El primero un acero inoxidable con una aleación tipo austenítico (acero de referencia; AR), el cual se considera de alta pureza y el segundo un acero con una aleación de baja pureza tipo martensita (referencia AISI 420), encontrado en materiales de uso cotidiano y proveniente de una fuente de desecho. En ambos casos las pruebas se realizaron en diferentes valores de densidades de corriente (área del electrodo 5 cm²). La Figura 3 muestra la concentración de especies de hierro electro-generadas: Fe total (F^T), Fe²⁺ y Fe³⁺, en función del tiempo a diferentes densidades de corriente. Para el primer material de electrodo (AR), se observó un aumento en la concentración de especies de hierro generadas a medida que se aumentaba el tiempo. Esta tendencia es similar a diferentes densidades de corriente aplicadas. De igual manera se observa que a mayor densidad de corriente, mayor es la producción de especies de hierro, resultado esperado según resultados reportados por otros trabajos (Nidheesh et al., 2017). Se puede observar que a densidades de corriente bajas (1 mA/cm²), y en un tiempo relativamente corto (20 min) ya se generan concentraciones considerables de hierro en solución (entre 0.05 mM y 0.1 mM), suficientes para que una reacción Fenton pueda llevarse a cabo, y que están cerca a la concentración de hierro permitida (0.0895 mmol/L) en aguas superficiales según la normativa colombiana (ICONTEC, 2018). Además, se debe tener en cuenta que concentraciones altas pueden llevar a la formación de hidróxidos insolubles a valores de pH altos.

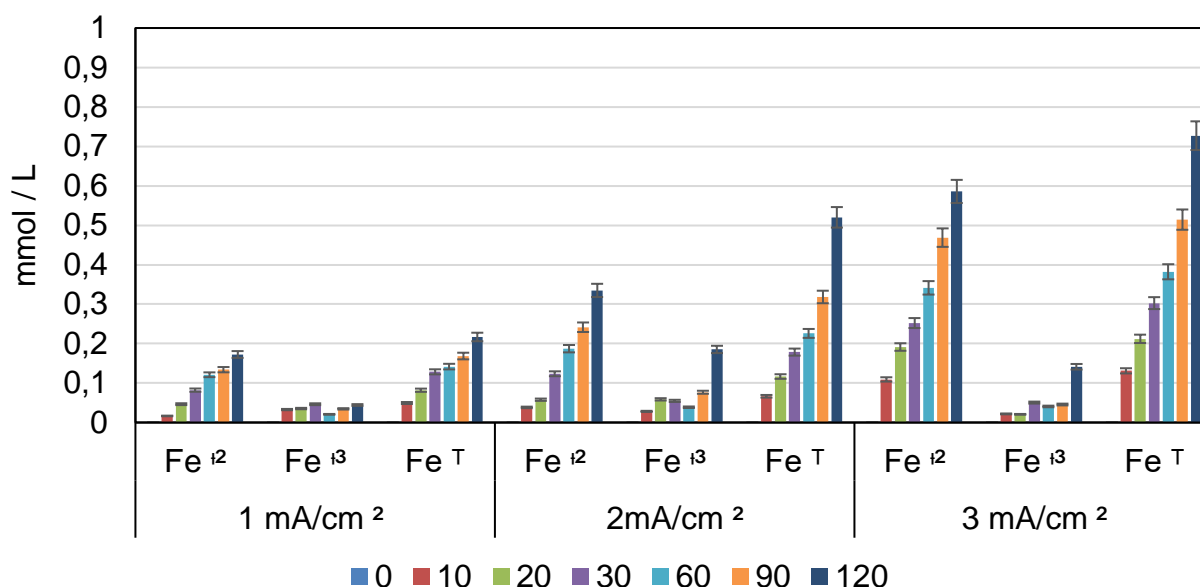


Figura 3. Generación de especies de hierro en condiciones de pH 3 con electrodo de referencia de acero inoxidable.

En estas pruebas también se evaluó el efecto de pasivación de la superficie del electrodo, evidenciado en la formación de vetas de óxidos de hierro en la superficie. Para este electrodo no se observaron la formación de dichas vetas ya que al ser una aleación con un alto contenido de cromo puede resistir el efecto de corrosión electroquímica al cual se está sometiendo. El cromo puede oxidarse más fácilmente en la superficie evitando la formación de óxidos de hierro (Aperador & Uscátegui, 2015; Padilla, E, 1999). Estos primeros resultados muestran la posibilidad de la generar electroquímicamente hierro de manera controlada, modificando la corriente aplicada al sistema.

En el caso del electrodo de sacrificio que emplea material de desecho, se fabricaron electrodos que consistían de 3 laminillas (hojas de afeitador marca Minora, sin usar) de acero AISI 420 de 39 mm x 44 mm con un espesor de 1.5 mm la cual corresponde a un acero martensítico, una de las aleaciones más utilizadas en la cotidianidad (ANDI, 2018). El área

de trabajo superficial fue 16 cm^2 para cada ánodo de sacrificio. Para las pruebas de liberación de especies de hierro se trabajó con densidades de corriente entre 0.3 y 1.0 mA/cm^2 , ya que en las pruebas anteriores 1.0 mA/cm^2 es una densidad suficiente para producir las cantidades de hierro requeridas para la reacción Fenton.

La Figura 4 muestra los resultados de estas pruebas. Se puede observar que a medida que aumenta la densidad de corriente, aumenta la concentración de hierro total (Fe^T) en solución. Sin embargo el aumento de la concentración no es proporcional al aumento de la corriente, lo que permite establecer que la ganancia en cantidad de especies de hierro en solución no es sopesada por el consumo energético que conlleva el aumentar la corriente. En ese sentido se decidió emplear densidades de corriente bajas (0.31 mA/cm^2), con la cual, un tiempo de 10 min es suficiente para la formación de la mayor cantidad de especies de hierro en solución.

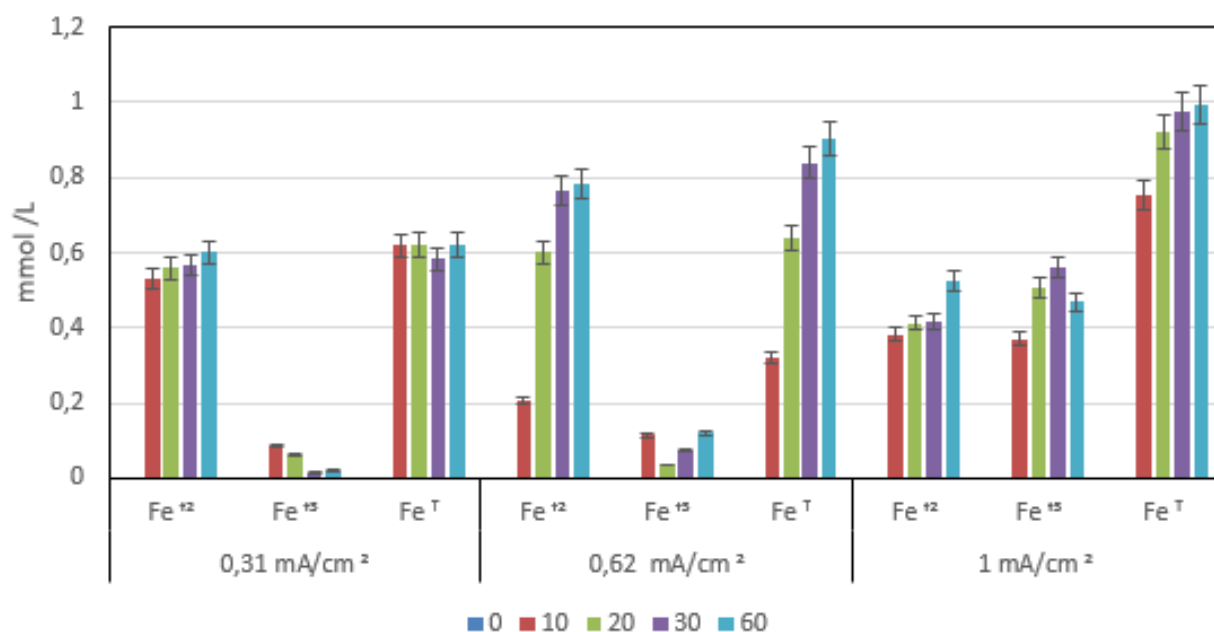


Figura 4. Generación de especies de hierro en condiciones de pH 3 con electrodo de sacrificio de acero inoxidable de una fuente de desecho.

Bajo estas condiciones de trabajo se determinó una vida de uso media para este electrodo de 32 horas antes de que la liberación de hierro sea irregular. Después de este tiempo se observa la aparición de vetas de óxido de hierro en la superficie. Se realizó igualmente la determinación del coeficiente de pérdida de masa cada 16 horas de uso, encontrándose un porcentaje de pérdida de material total del 2.3 % m/m.

3.2.2. Electro-generación de especies de hierro en presencia de ácido cítrico

Como se mencionó anteriormente, el trabajar a pH 3.0 implica costos elevados para la implementación de los sistemas electro-Fenton a escala mayor, por lo que el adicionar ácidos orgánicos, que pueden obtenerse de fuentes naturales a bajo costo, permite mantener el hierro en solución a pH cercanos al neutro. Por lo tanto, se realizaron pruebas de electro-generación de especies de hierro en presencia de ácido cítrico (3×10^{-5} M), con el fin de establecer el comportamiento del sistema con la posible formación de los complejos hierro- citrato.

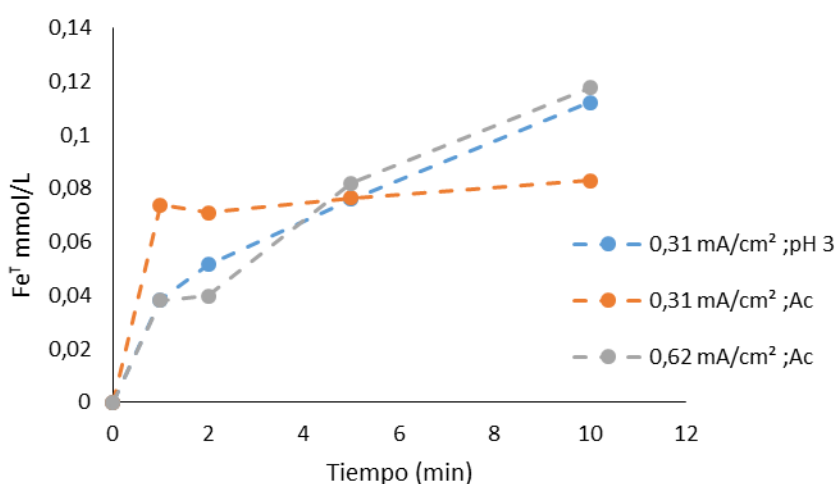


Figura 5. Comparación de la generación especies de hierro en presencia ácido cítrico sin modificación de pH y a pH 3.0.

La Figura 5 muestra resultados similares de concentración de especies de hierro (Fe^{T}) en solución cuando se trabaja a pH 3.0 y cuando se trabaja en presencia de ácido cítrico sin modificación de pH (línea gris (-•-) y naranja (-•-)), respectivamente), durante los primeros 5 min de aplicada la corriente. La concentración obtenida es $\sim 0.08 \text{ mM}$ en ambos casos. Se pudo observar que el aumentar al doble la densidad de corriente (0.62 mA/cm^2 ; línea azul (-•-)) no se observa un aumento en la producción de especies de hierro. Si el tiempo es extendido, se observa aumento en la concentración pero no en manera proporcional, por lo que se estableció una densidad de corriente de 0.31 mA/cm^2 y un tiempo de electrólisis de 5 min como condiciones adecuadas generar la concentración de especies de hierro mínimas necesarias para llevar a cabo la reacción Fenton, cumpliendo igualmente con la normativa colombiana de niveles de hierro en aguas superficiales. Estas condiciones además permiten un mínimo desgaste del ánodo de sacrificio, aumentando su tiempo de vida medio con un relativo bajo consumo energético ($4.167 \times 10^{-6} \text{ kW} \cdot \text{h/m}^3$); en un rango de pH cercano al neutro por la presencia del ácido cítrico ($\sim \text{pH } 5.0$). Adicionalmente, se comprobó la formación del complejo Fe^{3+} - citrato mediante los barridos en el rango UV-Vis (Fig. 6).

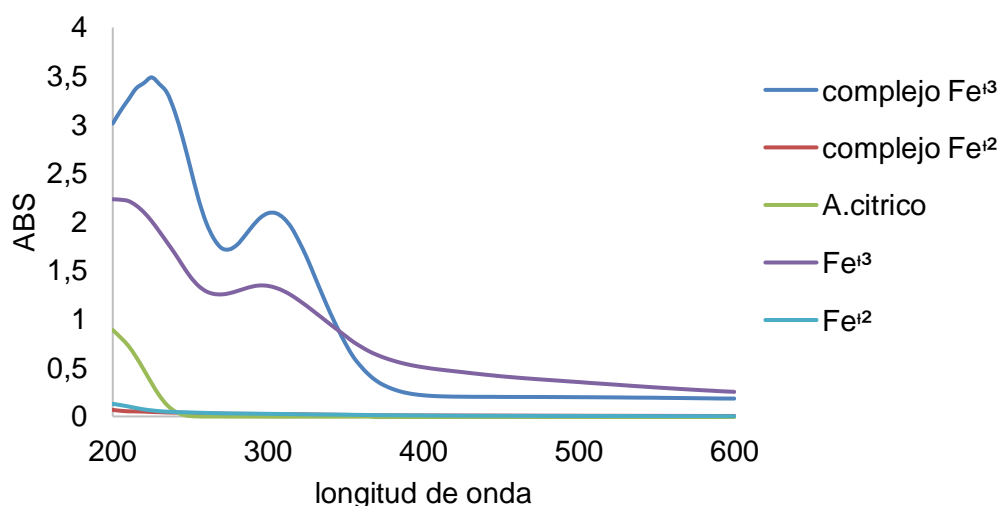


Figura 6. Espectros de ácido cítrico, especies de hierro y sus complejos de con citrato

3.3. Electrogenación de peróxido de hidrógeno

La electro-generación de peróxido hidrógeno se lleva a cabo en la superficie del cátodo de difusión de gas (de un sistema grafito/GDE), el cual es la especie oxidante, que en presencia de hierro (electro-generado en este caso), lleva a la formación principalmente de radicales $\cdot\text{OH}$ (Reacción Fenton, Ec. 1). La concentración de peróxido de hidrógeno electrogenerado durante 60 min, empleando diferentes densidades de corriente y en dos valores de pH se muestra en la Figura 7. Se puede observar que al aumentar la densidad de corriente, la concentración de H_2O_2 es mayor, como es de esperarse, un mayor flujo de electrones sobre el cátodo permite una mayor producción de H_2O_2 (Ec. 5 -6) en condiciones de pH 3.0. Igualmente se evidencia una disminución considerable de la concentración de H_2O_2 , para las tres densidad de corriente evaluadas cuando el ácido cítrico está presente en comparación a la condición de pH 3.0 , esto debido presumiblemente a un proceso de oxidación del ácido por parte del H_2O_2 como ha sido reportado por otros autores (Morgada, 2002). Sin embargo, en presencia de Fe^{2+} , el H_2O_2 tiende a oxidar preferentemente el Fe^{2+} . Por lo tanto, la concentración de H_2O_2 tiende a ser más baja en los casos en los que estas especies (ácido o Fe^{2+}) están presentes, que cuando están ausentes. La densidad de trabajo seleccionada sobre el cátodo para emplearse en el sistema electro-Fenton fue de 0.39 mA/cm^2 , que implica un menor gasto energético, según se demostró en trabajos previos en el grupo de investigación (Martínez et al., 2018).

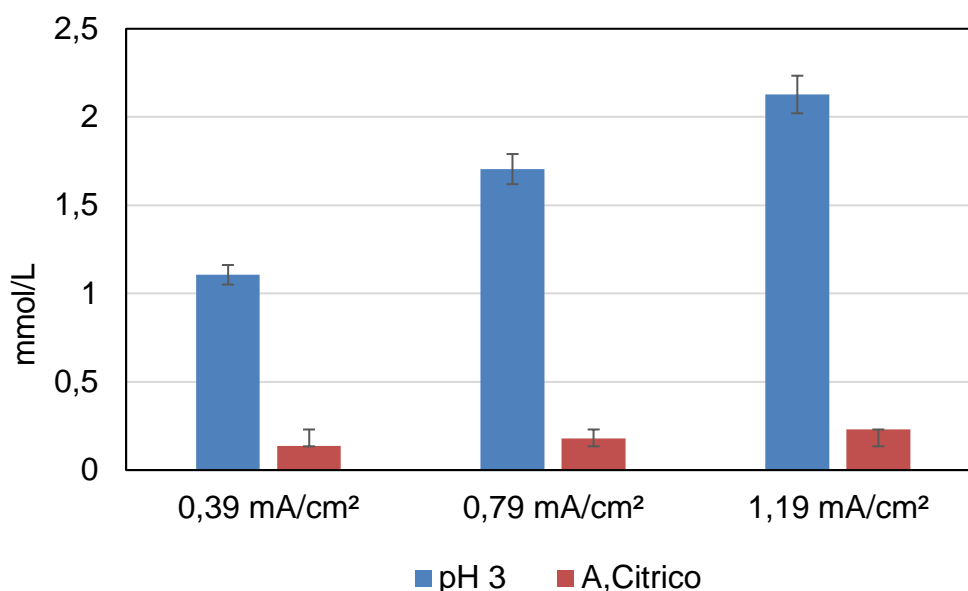


Figura 7. Concentración de peróxido de hidrógeno electro-generado sobre un cátodo GDE, en condiciones de pH 3.0 (barras azules) y en presencia de ácido cítrico (barra roja) después de 60 min de electrólisis.

3.4. Sistema electro-Fenton (ánodo de sacrificio de acero / GDE)

Con los resultados anteriores de electro-generación de especies de hierro, con un electrodo de sacrificio, y de H_2O_2 sobre un cátodo GDE; se planteó un montaje para la implementación de un sistema EF (sin adición de reactantes) a pH cercano al neutro (adición de ácido cítrico). El sistema propuesto implica dos etapas. La primera consiste en la electro-generación *in situ* de especies de hierro en solución (principalmente iones Fe^{2+}) empleando una configuración ánodo de sacrificio (material de residuo)/cátodo inerte (acero), aplicando una densidad de corriente de 0.31 mA/cm^2 , durante 5 minutos. La solución que contiene las especies de hierro electro-generadas es sometida a una segunda etapa electrolítica en la que la configuración de electrodos es ánodo de grafito inerte/cátodo de difusión de gas GDE, aplicando una densidad de corriente de 0.39 mA/cm^2 . La Figura 8

muestra el comportamiento de las especies electro-generadas durante estas dos etapas. Pasados los primeros 5 min (etapa 1), se observó un aumento progresivo de la concentración de Fe^{2+} hasta alcanzar una concentración aproximada de 0.1 mM a pH 3.0 y de 0.06 mM en presencia de ácido cítrico, debido a que a valores de pH altos, tiende a ver menores cantidades Fe^{2+} disponible. Sin embargo, la presencia del ácido cítrico permite mantener una concentración considerable en medio acuosa. En la segunda etapa, cuando el H_2O_2 es electro-generado, la concentración de Fe^{2+} comienza a disminuir progresivamente a valores cercanos a 0.07 y 0.02 mM, a pH 3.0 y sin modificación de pH, respectivamente, después de 5 min de esta segunda etapa (10 min en total en la Figura 8). Esto evidencia la reacción entre el Fe^{2+} y el H_2O_2 y la subsecuente generación de radicales $\cdot\text{OH}$, encargados de la oxidación de los contaminantes orgánicos presentes en la solución.

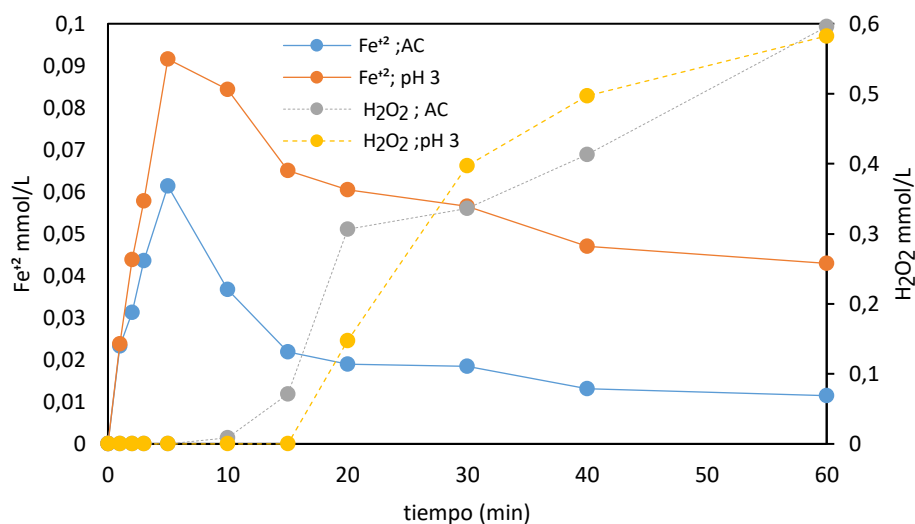


Figura 8. Evolución en función del tiempo de la concentración de Fe^{2+} y del H_2O_2 en el sistema EF propuesto a valores de pH de 3.0 y pH ~5.0 (en presencia de ácido cítrico, Ac. (3.0×10^{-5} mol/L) con una densidad de corriente de 0.31 mA/cm^2 .

En este proceso, la concentración de Fe^{2+} se vuelve limitante. Después de 15 min totales,

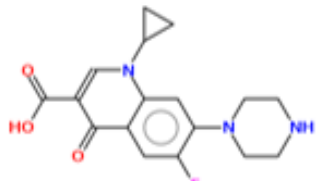
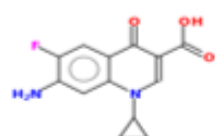
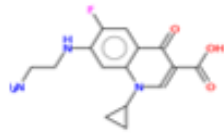
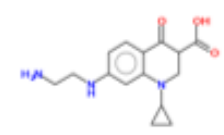
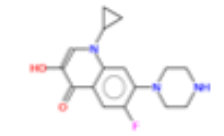
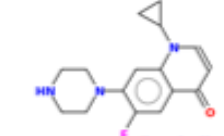
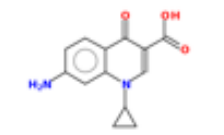
la concentración de H_2O_2 comienza a incrementar, debido a que el Fe^{2+} presente en la solución ha ido consumiéndose por la reacción con el H_2O_2 . Después de este tiempo, la concentración de H_2O_2 aumenta considerablemente, debido a que la relación estequiométrica de H_2O_2 con respecto al Fe^{2+} ha sido superada, y el H_2O_2 se encontrará en exceso. Bajo estas condiciones, resultados preliminares de degradación del compuesto modelo Ciprofloxacina muestran que el compuesto es degradado en más del 70% después de 20 min de tratamiento. Estos ensayos de degradación deben ampliarse, pero demuestran la capacidad del sistema para eliminación de este tipo de contaminantes con un relativo bajo gasto energético (2.7×10^{-4} kW/km) en el que se aprovecha un material de desecho de acero inoxidable para la fabricación de ánodos de sacrificio, haciendo que el gasto económico relacionado con la adición de sales de hierro al sistema pueda verse disminuido considerablemente. Esto sumado a la eliminación de la etapa de acidificación, demuestra una gran potencialidad de los sistemas electro-Fenton para su aplicación a escalas mayores, tendiendo a ser sustentables.

3.4. Cálculos computacionales como acercamiento a pruebas de degradabilidad y toxicidad de CIP y sus productos de degradación.

Un alto porcentaje de degradación (incluso una remoción total) del compuesto modelo CIP y de cualquier contaminante orgánico, no garantiza inocuidad del agua tratada. Durante estos procesos degradativos, otras especies se pueden ir formando (productos de degradación (PD)), los cuales pueden llegar a ser menos biodegradables o incluso más tóxicos que el contaminante original. En el caso particular de la CIP muchos estudios han reportado la remoción de éste compuesto empleando el proceso electro-Fenton, obteniéndose altos porcentajes de degradación (mayores al 90%) y la detección de sus productos de degradación (Rakhshandehroo, et. al. 2018; Chen, et. al., 2017).

Adicionalmente, la CIP es uno de los compuestos de preocupación emergente frecuentemente detectado en aguas residuales con concentraciones relativamente altas y con bajos porcentajes de remoción por parte de las plantas de tratamiento (Botero-coy et al., 2018). Para comprobar la capacidad de degradación de los sistemas EF en diferentes configuraciones, se realizó una búsqueda bibliográfica para determinar los productos de degradación generados en sistemas similares. Se realizó con un sesgo de búsqueda de artículos no inferiores de 10 años y que reportan resultados de identificación de espectros de masa de los productos de degradación. Se identificaron los trabajos de Gupta & Garg, 2018; Rakhshandehroo et al., 2018; Yahya et al., 2014; en donde se reporta la detección de seis productos de degradación PD1, PD2, PD3, PD4, PD5 y PD6 (Tabla 3), los cuales son generados principalmente por un ataque de radicales $\bullet\text{OH}$ sobre la molécula de CIP original. La CIP es inicialmente sufre un ataque nucleofílico sobre el anillo de piperazina, lo que conlleva a los productos de degradación PD1 y PD2. Por otro lado, los PD3 y PD5 pueden generarse por una defluorización de PD2 y PD1, respectivamente (Gupta & Garg, 2018). También es posible una reacción de descarboxilación de CIP y una hidroxilación en el anillo quinolona para generar PD4, que en etapas consecutivas puede llevar a la generación de PD6 (Yahya et al., 2014).

Tabla 3. Productos de degradación de CIP por procesos EF.

COMPUESTO DE ORIGEN	PRODUCTOS DE DEGRADACION
<p style="text-align: center;">CIP</p> 	 <p style="text-align: right;">PD1</p>
	 <p style="text-align: right;">PD2</p>
	 <p style="text-align: right;">PD3</p>
	 <p style="text-align: right;">PD4</p>
	 <p style="text-align: right;">PD5</p>
	 <p style="text-align: right;">PD6</p>

3.4.1. Degradabilidad de CIP y sus productos de degradación

Como se puede observar en el trabajo de *Yahya et al., 2014* el proceso de mineralización de CIP no es total en las condiciones que estos reportan para un sistema EF con adición de hierro. En ese trabajo se reporta un máximo de mineralización de 94.62% luego de 6 h de tratamiento, dando lugar a la formación de los productos de degradación antes identificados, lo cual es corroborado por el trabajo de (Gupta & Garg, 2018) donde tampoco se obtiene una total mineralización, esto es debido a que la degradación de este antibiótico puede generar productos que sean difíciles de oxidar por radicales $\bullet\text{OH}$ (Rakhshandehroo et al., 2018). Sin embargo, la degradabilidad de alguno de estos intermediarios pueden

aumentar con respecto al compuesto original CIP, mientras que otros, como se ha reportado, tienden a acumularse, llevando a que no se alcanzan porcentajes del 100%. Mediante el cálculo ThOD se puede establecer, cuáles de los PD formados presentan una mayor degradabilidad con respecto al compuesto CIP original. La Figura 9 muestra de manera general que los seis PD evaluados, presentan una mayor degradabilidad (valores de ThOD más negativos) con respecto a CIP. Los productos PD1 y PD6 presentan la mayor degradabilidad, PD2 y PD3 degradabilidad intermedia y PD4 y PD5 teóricamente son más difíciles de oxidar. A este tipo de compuestos puede atribuirse la dificultad en obtener una mineralización completa de la muestra sometida a tratamiento EF. Por otro lado, pueden representar un potencial peligro ya que existe la posibilidad de que conserven sus características antimicrobianas (Wang et al., 2020) y ayudar a la ganancia de procesos de resistencia bacteriana (Akhter et al., 2012). Pueden también actuar como inhibidores de la replicación de ADN, llegando a ser tóxicos para ciertos microorganismos (Skauge, & Sletten, 2002).

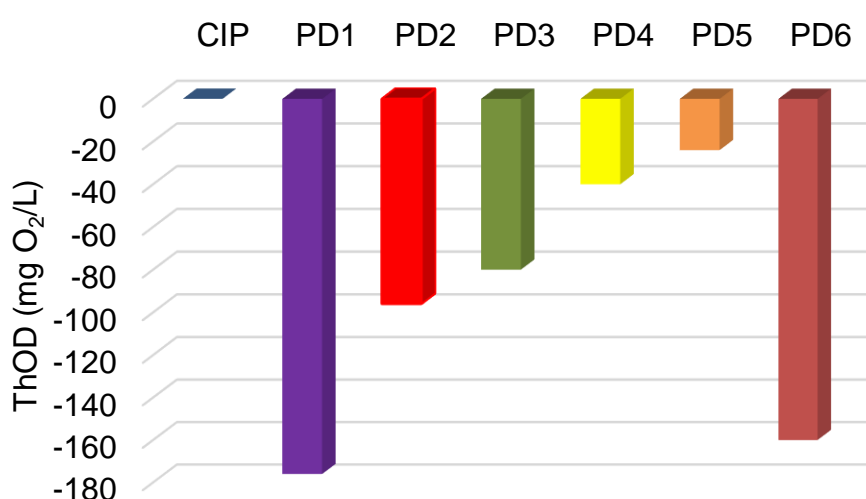


Figura 9. Cambio en la demanda teórica de oxígeno (Δ ThOD basado en el compuesto CIP) para los productos de degradación.

3.4.2 Toxicidad de CIP y sus productos de degradación

Como se mencionó anteriormente es posible que los productos de degradación de CIP generados en un sistema EF, sean tóxicos para diferentes organismos (Dubar et al., 2011; Leyva & Leyva, 2008). Con el objetivo de evaluar la posible toxicidad de la CIP y los PDs generados en un sistema EF se realizó el cálculo de perfil de lipofilicidad, el cual consiste establecer la relación entre el coeficiente de partición octanol/ agua (Log Po/w) (Figura 10) y la capacidad de cada compuesto de actuar como un inhibidor enzimático (Gupta & Garg, 2018; Wang et al., 2020) .

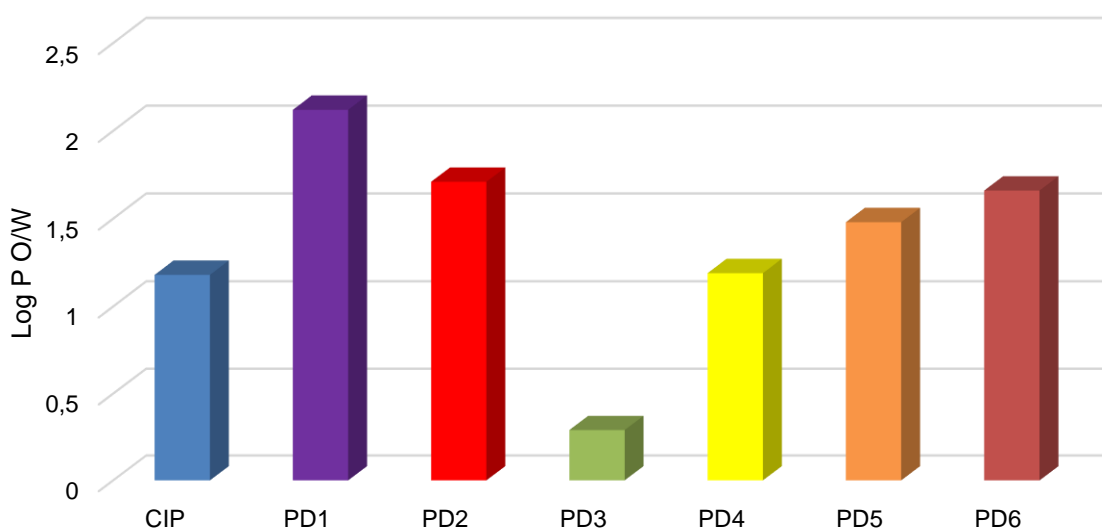


Figura 10. El coeficiente de partición octanol-agua (Log P/w) de la molécula CIP y los productos de transformación, calculados como una predicción de lipofilia.

El cálculo de log P/w es un parámetro que permite establecer la lipofilicidad que poseen los PDs. De igual manera, permite establecer la posibilidad de cada uno de ellos de atravesar la bicapa lipídica, lo que indicaría una mayor tendencia de toxicidad. Un valor alto implicaría que los PD pueden acumularse en el interior de las células. Los resultados obtenidos muestran que PD1, PD2 y PD6 tienen valores mayores que CIP (Figura 10 y Tabla 4), con

lo que se puede inferir, que de persistir en el medio, pueden llegar a ser tóxicos. En ese orden de ideas, PD3 presentaría menos toxicidad; mientras que PD4 y PD6 tendrían toxicidad similar a CIP. Con el fin de ampliar estas tendencias, se evaluó la capacidad de cada uno de los PD de atravesar la membrana (bicapa lipídica) al igual que la capacidad de unión con la misma (Tabla 4) teniendo como base los valores lipofilicidad y empleando la herramienta virtual PerMM (Lomize et al., 2019).

Tabla 4. Relación de la lipofilicidad con la permeabilidad de BLM (modelo bicapa lipídica) de CIP y los PDs

compuesto	Log P _{0/w}	VELOCIDAD DE PERMEABILIDAD (mol/s*m ²)	ΔG unión (Kcal/mol)	% CAPACIDAD INHIBIDOR ENZIMÁTICO
CIP	1,18	-7,08 E-09	-0,9300	1
PD1	2,12	-1,27E-08	-1,67085	0,47
PD2	1,71	-5,71E-09	-0,75014	0,45
PD3	0,29	-1,20E-09	-0,15772	0,17
PD4	1,19	-2,91E-08	-3,81621	0,23
PD5	1,48	-8,80E-09	-1,15664	0,21
PD6	1,66	-7,94E-09	-1,04311	0,46

Los datos de velocidad obtenidos muestran que el antibiótico CIP y el PD2 pueden atravesar la membrana por difusión pasiva ya que su valor de ΔG sugiere que no será retenido en esta. Por el contrario PD1, PD5 y PD6, tenderían a atravesar la membrana pero con una alta probabilidad de ser retenidos. Los valores de ΔG para PD4 sugieren una alta afinidad por la membrana, teniendo la mayor probabilidad de todos los PDs de ser retenido por la membrana. PD3 presentó una baja lipofilicidad, lo que sugiere una mayor polaridad y poca tendencia a atravesar la membrana por difusión simple, pero quizá sí por canales tipo porinas (Ruiz et al., 2012).

3.4.3. Acoplamiento molecular de CIP y sus productos de degradación con el dominio de ruptura de las subunidad A de ADN girasa de *E. Coli* (1AB4).

Debido a lo anterior se pudo evaluar la capacidad que presentan algunos PDs para actuar como un inhibidor enzimático comparado a su molécula de origen CIP (Tabla 4). A partir de los valores encontrados, se seleccionaron a PD1, PD2 y PD6 para evaluar la posibilidad de inhibir la ADN girasa de *E. Coli* 1AB4. Estos PDs fueron evaluados en cuanto a la capacidad de realizar acoplamientos moleculares para determinar su probabilidad de mantener la actividad antimicrobiana al unirse a una estructura proteica definida, sobre la cual la molécula de CIP actúa como inhibidor. Como se puede observar en la Figura 11, la molécula CIP se une mediante interacciones tipo puente de hidrógeno a la subunidad A de la ADN girasa, específicamente a los residuos Arg 91, Asp 87, Gln 267 y Ser 97, lo que conlleva a un cambio conformacional en la proteína impidiendo así la unión/liberación del complejo enzima-ADN (Bauernfeind, 1997; Hawkey, 2003). Esto permite establecer la actividad antimicrobiana propia de éste antibiótico. En el caso de los PD1 y PD2, se observan interacciones con los residuos Arg 91, Asp 87 y Ser 97 similares a los observados para CIP. Esto puede deberse a que estos compuestos no sufrieron una descarboxilación ni pérdida del anillo de piperazina, lo que puede indicar una posible actividad como inhibidor alostérico, y que conserven su actividad antimicrobiana. Por el contrario, PD6 no genera un cambio conformacional como los otros PDs evaluados. Sus interacciones se dan con Arg 91 y Asp 87. Los valores de energías de unión para CIP (- 5.4 Kcal/mol), PD1 (- 5.3 Kcal/mol), PD2 (-6.6 Kcal/mol) y PD6 (-6.3 Kcal/mol) indican que la conformaciones de los complejos enzima-PD son más estables para PD2 y PD6 que para CIP y PD1. Estos resultados son interesantes y deben tratarse con cuidado ya que pueden indicar cierta problemática en el caso de la degradación de este antibiótico, debido a que la zona de la ADN girasa donde interaccionan los PD, es conocida como la zona de unión a quinolonas,

responsable de mutaciones puntuales en los residuos mencionados que pueden conllevar a la resistencia de bacterias a antibióticos tipo quinolonas (Akter et al., 2012; Peña, 2015).

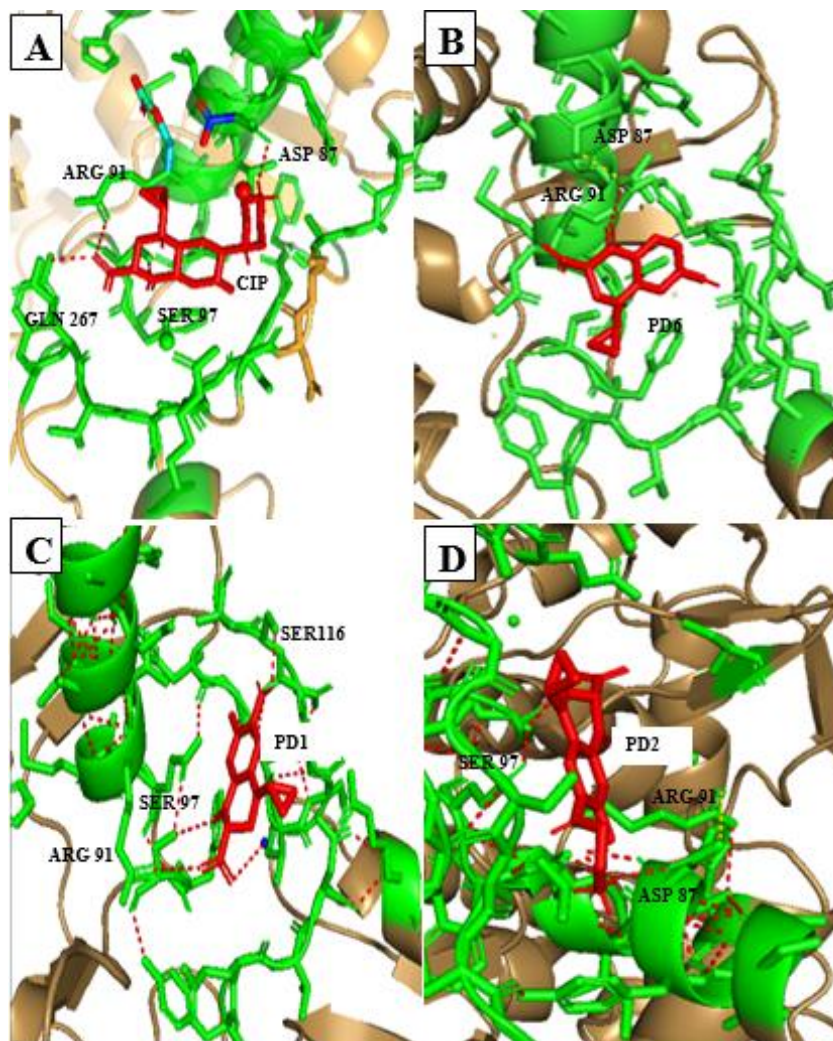


Figura 11. Acoplamiento molecular CIP y sus PD con la subunidad A de ADN girasa (1AB4): A) sitio de unión de CIP en el sitio de unión con 1AB4; B) sitio de unión PD6 en el sitio de unión con 1AB4; C) sitio de unión PD1 en el sitio de unión con 1AB4; D) sitio de unión PD2 en el sitio de unión con 1AB4. Los ligandos se muestran en el centro, las cadenas laterales de la proteína que se unen mediante interacciones tipo puente de hidrógeno (---). La molécula está en el centro de la figura y la proteína está representada por una cinta.

4. Fortalezas y limitaciones del estudio.

En este trabajo se planteó el uso de materiales de desecho de acero inoxidable para el montaje de un ánodo de sacrificio, que se empleó en un sistema electro-Fenton, junto con un cátodo de difusión de gas. Este sistema busca electro-generar in situ y de manera controlada, las dos especies reactantes de los sistemas Fenton, a saber, especies de hierro en solución (a partir del ánodo de sacrificio) y el peróxido de hidrógeno (sobre el cátodo GDE). Esto evitaría la adición de éstos reactantes a las muestras de agua contaminadas, disminuyendo los costos en este sentido, sobre todo si se reutilizan materiales de desecho. Adicionalmente, en el sistema propuesto no es necesario acidificar el medio para evitar la precipitación del hierro, ya que gracias a la adición de ácido cítrico (el cual puede obtenerse también de desechos alimenticios) el hierro permanece en solución debido a la formación de un complejo Fe-Citrato. Esto impacta positivamente en los costos de operación ya que se eliminan las etapas de acidificación y re-ajuste de pH que se realizan en sistemas Fenton convencionales. Una limitación del trabajo, es que solo se evaluó un tipo de material de desecho y su caracterización definitiva no fue posible; por lo que es necesario seguir con este tipo de trabajos y ahondando un poco más en la caracterización de los materiales usados y cómo cambia la composición elemental a medida que transcurre el tiempo de electrólisis, incluyendo la evaluación de especies liberadas a la solución. Por otro lado, el uso de herramientas computacionales para evaluación de degradabilidad, toxicidad y, en este caso, pérdida de actividad antimicrobiana, abre una ventana para la realización de estudios de acercamiento previos que permitan disminuir costos y tiempo en las pruebas de laboratorio establecidas para estudiar estos parámetros.

4. CONCLUSIONES

Se planteó el uso de materiales de desecho formados de acero-inoxidable (referencia AISI 420), para la preparación de ánodos de sacrificio que permitieron la electro-generación de especies de hierro trabajando con densidades de corriente muy bajas, lo que implica un relativo bajo consumo energético, y con valores de pH cercanos al neutro, adicionando al sistema un ácido orgánico (ácido cítrico) que forme complejos con las especies de hierro y las mantenga en solución, redundando en una disminución de costos ya que se elimina las etapas de acidificación y re-ajuste de pH que se realizan en un tratamiento Fenton convencional. El peróxido de hidrógeno también es electro-generado empleando un cátodo de difusión de gas, lo que permite controlar su presencia en la solución. Se demostró que estas especies electro-generadas, reaccionan entre ellas, llevando a la posible formación de radicales OH, encargados de la degradación de contaminantes orgánicos. A pesar de que los estudios de evaluación del sistema electro-Fenton propuesto en la degradación de un compuesto modelo (Ciprofloxacina) no se realizaron en su totalidad, si se observó una tendencia en la disminución de la concentración de ésta molécula en un tiempo corto, bajo las condiciones de operación establecidas. Estudios posteriores son necesarios para obtener datos contundentes de degradación de este tipo de compuestos. Por otro lado, se emplearon herramientas computacionales para hacer una aproximación a la evaluación de la degradabilidad (ThOD), la toxicidad (Log P) y disminución de la actividad antimicrobiana (*Docking*), tanto del compuesto contaminante modelo, ciprofloxacina, como de sus productos de degradación (reportados en trabajos previos por otros autores); encontrándose que a pesar de eliminar el compuesto original, la presencia de productos de degradación no garantizan una total mineralización, ni una mejor calidad del agua tratada ya que algunos presentaron mayores características de toxicidad que el compuesto original. Adicional a esto, algunos de los productos de degradación presentan interacciones

similares a la molécula original de ciprofloxacina, por lo que no se observa pérdida de la actividad antimicrobiana. Esto establece, que es necesario hacer seguimiento puntual de los intermediarios formados en los procesos degradativos en cuanto a su toxicidad y biodegradabilidad para garantizar una mayor eficiencia de los procesos de degradación planteados.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Antonio Nariño por la contribución con las instalaciones y equipos. Al Grupo de Investigación en Ciencias Biológicas y Químicas de la universidad Antonio Nariño, especialmente a la línea de investigación en Remediación Ambiental y Procesos Avanzados de Oxidación. A los profesores Alejandro Moncayo-Lasso y Diana Martínez-Pachón. A mis compañeros del grupo de investigación.

REFERENCIAS

- Alós, J. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global Antibiotic resistance: A global crisis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(10), 692–699.
- Abdel-Aziz, A. A. M., Asiri, Y. A., & Al-Agamy, M. H. M. (2011). Design, synthesis and antibacterial activity of fluoroquinolones containing bulky arenesulfonyl fragment: 2D-QSAR and docking study. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(11), 5487–5497.
- Akter, F., Amin, M. R., Osman, K. T., Anwar, M. N., Karim, M. M., & Hossain, M. A. (2012). Ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* in hospital wastewater of Bangladesh and prediction of its mechanism of resistance. *World Journal of Microbiology and*

Biotechnology, 28(3), 827–834.

ANDI. (2018). *Informe del sector siderúrgico*.

Aperador, W., Ruiz, J., & Uscátegui, A. (2015). Evaluación de la corrosión-erosión en aceros austeníticos y martensíticos. *Ciencia en Desarrollo*, 6(1), 17–24.

Botero-coy, A. M., Martínez-pachón, D., Boix, C., Rincón, R. J., Castillo, N., & Arias-marín, L. P., Torres-Palma, R., Hernández, F., Moncayo-Lasso, A.(2018). An investigation into the occurrence and removal of pharmaceuticals in Colombian wastewater. *Science of the Total Environment*, 642, 842–853.

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

Caram, B. F. (2018). *Procesos Fenton modificados para la degradación de contaminantes en aguas con valores de pH cercanos a la neutralidad. Estudios cinéticos y mecanísticos. Journal de la société des américanistes*.

Chávez, Á., Granados, D., & Ospina, É. A. (2009). Una alternativa limpia para el tratamiento de las aguas residuales galvánicas : revisión bibliográfica a clean alternative for galvanic wastewater treatment : literature review. *Revista ingenierías universidad de Medellín una*, (14), 39–50.

Chen, Y., Wang, A., Zhang, Y., Bao, R., Tian, X., & Li, J. (2017). Electro-Fenton degradation of antibiotic ciprofloxacin (CIP): Formation of Fe³⁺-CIP chelate and its effect on catalytic

Delgado, O. (2014). Cálculo de la permeabilidad de un modelo de membrana celular hacia

dos agentes antifímicos. *Pediatric Physical Therapy*, 22(1), 336–349.

Dubar, F., Wintjens, R., Martins-Duarte, É. S., Vommaro, R. C., De Souza, W., Dive, D., Biot, C. (2011). Ester prodrugs of ciprofloxacin as DNA-gyrase inhibitors: Synthesis, antiparasitic evaluation and docking studies. *MedChemComm*, 2(5),

Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). *Molecular docking and structure-based drug design strategies*. *Molecules* (Vol. 20).

Gholami, M., Rahmani, K., Rahmani, A., Rahmani, H., & Esrafil, A. (2016). Oxidative degradation of clindamycin in aqueous solution using nanoscale zero-valent iron/H₂O₂/US. *Desalination and Water Treatment*, 57(30), 13878–13886.

Guadalupe, M., & Manrique, E. (2015). Tratamiento de aguas residuales contaminadas con Cr (vi). *2º Congreso Nacional AMICA 2015*, (Vi).

Gupta, A., & Garg, A. (2018). Degradation of ciprofloxacin using Fenton's oxidation: Effect of operating parameters, identification of oxidized by-products and toxicity assessment. *Chemosphere*, 193, 1181–1188.

Hawkey, P. M. (2003). Mechanisms of quinolone action and microbial response. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(SUPPL. 1), 29–35.

Hernández, F., Ibáñez, M., Botero-Coy, A. M., Bade, R., Bustos-López, M. C., Rincón, J., Bijlsma, L. (2015). LC-QTOF MS screening of more than 1,000 licit and illicit drugs and their metabolites in wastewater and surface waters from the area of Bogotá, Colombia. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(21), 6405–6416.

ICONTEC. (2018). *Normas oficiales para la calidad del agua Colombia*. NTC (Vol. 1).

- Janet, M., Adriana, G., Soto, M., Iván, J., Omar, U., & Gutiérrez, D. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos, *7*(2), 52–73.
- Jardim, W. F., & Litter, M. I. (2004). Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes, (May 2014)
- Kim, Y. C., Sasaki, S., Yano, K., Ikebukuro, K., Hashimoto, K., & Karube, I. (2000). Relationship between theoretical oxygen demand and photocatalytic chemical oxygen demand for specific classes of organic chemicals. *Analyst*, *125*(11), 1915–1918.
- Kočanová, V., & Dušek, L. (2016). Electrochemical dissolution of steel as a typical catalyst for electro-Fenton oxidation. *Monatshefte fur Chemie*, *147*(5), 935–941.
- Kurt, A., Mert, B. K., Özengin, N., Sivrioğlu, Ö. & Yonar, T. (2017). Treatment of Antibiotics in Wastewater Using Advanced Oxidation Processes (AOPs). *Physico-Chemical Wastewater Treatment and Resource Recovery*.
- Leyva, S., & Leyva, E. (2008). Fluoroquinolonas. Mecanismos de acción y resistencia, estructura, síntesis y reacciones fisicoquímicas importantes para propiedades medicinales. *Sociedad Química de México*, (May), 13. Recuperado de <http://www.bsqm.org.mx/PDFS/V2/N1/1>.
- Liu, X., Zhou, Y., Zhang, J., Luo, L., Yang, Y., Huang, H., Mu, Y. (2018). Insight into electro-Fenton and photo-Fenton for the degradation of antibiotics: Mechanism study and research gaps. *Chemical Engineering Journal*, *347*, 379–397.
- Lomize, A. L., Hage, J. M., Schnitzer, K., Golobokov, K., Lafaive, M. B., Forsyth, A. C., & Pogozeva, I. D. (2019). PerMM: A Web Tool and Database for Analysis of Passive

Membrane Permeability and Translocation Pathways of Bioactive Molecules. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 59(7), 3094–3099. Brief-report.

Lomize, A. L., & Pogozeva, I. D. (2019). Physics-Based Method for Modeling Passive Membrane Permeability and Translocation Pathways of Bioactive Molecules. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 59(7), 3198–3213.

Martínez, D., Espinosa, P., Rincón, J., & Moncayo, A. (2018). Advanced oxidation of antihypertensives losartan and valsartan by photo-electro-Fenton at near-neutral pH using natural organic acids and a dimensional stable anode-gas diffusion electrode (DSA-GDE) system under light emission diode (LED) lighting. *Environmental Science and Pollution Research, Volumen 26*, pp 4426–4437.

MEJÍA, S. (2005). *Tratamiento de efluentes líquidos a través de procesos acoplados de Electrofloculación y generación in situ del Reactivo de Fenton*.

Michael-Kordatou, I., Karaolia, P., & Fatta-Kassinos, D. (2018). The role of operating parameters and oxidative damage mechanisms of advanced chemical oxidation processes in the combat against antibiotic-resistant bacteria and resistance genes present in urban wastewater. *Water Research*, 129, 208–230.

Miklos, D. B., Remy, C., Jekel, M., Linden, K. G., Drewes, J. E., & Hübner, U. (2018). Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – A critical review. *Water Research*, 139, 118–131.

Minghua Zhou, M. A. O. I. S. (2018). *Electro- Fenton process* (61a ed.).

Mondal, S. K., Saha, A. K., & Sinha, A. (2018). Removal of ciprofloxacin using modified advanced oxidation processes: Kinetics, pathways and process optimization. *Journal*

of Cleaner Production, 171, 1203–1214.

Morgada, M. E. (2002). Tratamiento de residuos líquidos de descontaminación de centrales nucleares por fotocatalisis heterogénea. Comisión Nacional de Energía Atómica.

Nidheesh, H., Olvera-Vargas, N., & Oturan Oturan, M. A. (2017). Heterogeneous Electro-Fenton Process: Principles and Applications. CSIR-National Environmental Engineering Research Institute.

Padilla, E. D. (1999). Aplicaciones de los aceros inoxidables. *Rev. Del Instituto de Investigación (RIIGEO), FIGMMG-UNMSM*, 2.

Patel, J. B. (2015). *M07-A10 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow*.

Patiño, Y., & Ordóñez, E. (2014). Microcontaminantes emergentes en aguas: tipos y sistemas de tratamiento water. *Universidad de Oviedo, Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente*, 5(2), 1–20.

PEÑA, C. A. (2015). Estudio computacional de la interacción de antibióticos tipo quinolonas con su enzima blanco ADN girasa y sus implicaciones en la resistencia bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa*. *Farmacología molecular y bioquímica*, 116.

Porras, J., Bedoya, C., Silva-agredo, J., Santamaría, A., Torres-palma, R. A., & Fern, J. J. (2016). Role of humic substances in the degradation pathways and residual antibacterial activity during the photodecomposition of the antibiotic ciprofloxacin in water. *Water Research*, 94(1–9).

Rahmani, A. R., Nematollahi, D., Samarghandi, M. R., Samadi, M. T., & Azarian, G. (2018). A combined advanced oxidation process: Electrooxidation-ozonation for antibiotic

ciprofloxacin removal from aqueous solution. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 808 (September 2017), 82–89.

Rakhshandehroo, G. R., Salari, M., & Nikoo, M. R. (2018). Optimization of degradation of ciprofloxacin antibiotic and assessment of degradation products using full factorial experimental design by fenton homogenous process. *Global Nest Journal*, 20(2), 324–332.

Ren, J. R., Zhao, H. P., Song, C., Wang, S. L., Li, L., Xu, Y. T., & Gao, H. W. (2010). Comparative transmembrane transports of four typical lipophilic organic chemicals. *Bioresource Technology*, 101(22), 8632–8638.

Ruiz, D. H., Baltazar, E. H., Lara, J. C. E., Martínez, I. de la L., Torres, A. A. B., & Alejo, J. M. M. (2012). Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(1), 18–32.

Rosales, E., Pazos, M., & Angeles, M. (2018). Current advances and trends in the electro-Fenton process using heterogeneous catalysts, 201.

Serna-Galvis, E. A., Isaza-Pineda, L., Moncayo-Lasso, A., Hernández, F., Ibáñez, M., & Torres-Palma, R. A. (2019). Comparative degradation of two highly consumed antihypertensives in water by sonochemical process. Determination of the reaction zone, primary degradation products and theoretical calculations on the oxidative process. *Ultrasonics Sonochemistry*, 58(June), 104635.

Skauge, T., Turel, I., & Sletten, E. (2002). Interaction between ciprofloxacin and DNA mediated by Mg²⁺-ions. *Inorganica Chimica Acta*, 339, 239–247.

Tejada, C., Quiñonez, E., & Peña, M. (2014). Contaminantes emergentes en aguas:

metabolitos de fármacos. *Universidad militar nueva granada*, 80–101.

UNESCO. (2018). *Soluciones basadas en la naturaleza para la gestión del agua*. Paris.

Recuperado de <https://unesdoc.unesco.org>

Wang, D., Ning, Q., Dong, J., Brooks, B. W., & You, J. (2020). *Predicting mixture toxicity and antibiotic resistance of fluoroquinolones and their photodegradation products in Escherichia coli*. *Environmental Pollution* (Vol. 262). Elsevier Ltd.

Yahya, M. S., Oturan, N., El Kacemi, K., El Karbane, M., Aravindakumar, C. T., & Oturan, M. A. (2014). Oxidative degradation study on antimicrobial agent ciprofloxacin by electro-fenton process: Kinetics and oxidation products. *Chemosphere*, 117(1), 447–454.

Yang, W., Zhou, M., Oturan, N., & Li, Y. (2019). Electrochimica Acta Electrocatalytic destruction of pharmaceutical imatinib by electro-Fenton process with graphene-based cathode. *Electrochimica Acta*, 305, 285–294.

Zhao, Z., Dong, W., Wang, H., Chen, G., Tang, J., & Wu, Y. (2018). Simultaneous decomplexation in blended Cu(II)/Ni(II)-EDTA systems by electro-Fenton process using iron sacrificing electrodes. *Journal of Hazardous Materials*, 350(October 2017),

Ziolo, L., Restrepo, L., Agudelo, A., & Gallo, S. (2015). Tecnologías Para La Remoción De Colorantes Y Pigmentos Presentes En Aguas Residuales. *Dyna*, 82(191), 118–126.