

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL
SANTIAGO-CHILE



**“EVALUAR LA CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE CAFEÍNA EN
MATRICES CARBONÁCEAS FUNCIONALIZADAS EN
SISTEMAS MONO Y MULTICOMPONENTES (BATCH)”**

ANTONIA PATRICIA DÍAZ FAÚNDES

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERA CIVIL QUÍMICA

PROFESORA GUÍA: DRA. ANDREA CARVAJAL GUEVARA
PROFESORA CORREFERENTE: DRA. CAROLYN PALMA TOLOZA

DICIEMBRE - 2024



CONSTANCIA DE VALIDACIÓN Y CONFIDENCIALIDAD DE MONOGRAFÍA A REPOSITORIO ACADÉMICO

1.- IDENTIFICACIÓN DEL TRABAJO ACADÉMICO

Tipo de monografía (marcar una opción): ☒ Memoria o trabajo de título ☐ Tesis de Postgrado

Título del trabajo: "EVALUAR LA CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE CAFEÍNA EN MATRICES CARBONÁCEAS FUNCIONALIZADAS EN SISTEMAS MONO Y MULTICOMPONENTES"

Nombre del candidato(a): Antonia Díaz Faúndes

Carrera / Grado: Ingeniería Civil Química

Campus: San Joaquín

Departamento: Ingeniería Química y Ambiental

2.- VALIDACIÓN DEL PROFESOR GUÍA/DIRECTOR DE TESIS

Yo, Andrea Carvajal Guevara, en mi calidad de profesor(a) guía/director(a) del trabajo académico mencionado anteriormente **DEJO CONSTANCIA** que:

- He revisado esta versión del documento y corresponde a la versión final aprobada del trabajo.
- El trabajo cumple con los requisitos académicos y de formato establecidos por la institución.

3.- EVALUACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD POR PROPIEDAD INDUSTRIAL (marcar una opción)

☒ El trabajo **NO contiene** información que amerite confidencialidad y puede ser publicado de inmediato en repositorio con acceso abierto.

☐ El trabajo **CONTIENE** información con potenciales implicancias de propiedad industrial o intelectual y requiere un periodo de confidencialidad (**embargo**) por (**marcar una opción**):

☐ 6 meses ☐ 12 meses ☐ 2 años ☐ 3 años ☐ 5 años ☐ 10 años

Fundamentación de la necesidad de confidencialidad (obligatorio si se solicita embargo):

4.- FIRMAS

Profesor(a) guía o director(a) de memoria o tesis:

Fecha: 22-10-25

Firma:

Estudiante o Candidato(a):

Fecha: 21-10-2025

Firma:

Este formulario debe ser insertado como página 2 de la memoria o tesis, completado y firmado por estudiante y profesor(a) antes de la entrega en portal PRISMA de Biblioteca USM.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi mamá Leyla Faundes y mi papá Patricio Díaz por ser mi contención y mi mayor apoyo durante toda esta etapa universitaria. Gracias por enseñarme a través del respeto y el amor, que con esfuerzo es posible salir a delante. Los amo con todo mi corazón. A mi abuela Anny Silva y mi abuelo Juan Eduardo Faundes, quienes me entregaron un segundo hogar desde que nací. Por levantarse y acompañarme cada vez que tenía clases temprano y demostrarme día a día su orgullo. A mis hermanos, Consuelo y Andres, por la preocupación, la constante compañía y la paciencia. A mis abuelos paternos Juan Díaz y Patricia Alfaro por todo el cariño.

Sin mis padres, abuelos, hermanos y tíos, nada de esto sería posible. Este logro es también de cada uno de ustedes.

A mi amada Matilda, que partiste meses antes de que finalice esta etapa, pero quien fue mi compañera de amanecidas y desveladas durante 6 años. Mi contención emocional y más grande amor.

A mis amigos de vida, que hoy son como hermanos, Flavia, Javiera, Francisca, Fernando y Tomás, quienes me han demostrado estar en las buenas y en las malas. Los adoro.

A mis amigos con quienes recorrí este largo camino, Maria Ignacia, Bastian, Felipe, Eduardo, Francisca y Rodrigo, gracias por apoyarme tanto académica como emocionalmente y por todo lo vivido.

A Gabriel Deroy, mi pareja y compañero de vida. Gracias por levantarme cada vez que no podía. Desde que llegaste a mi vida todo es mejor.

Quiero agradecer a la profesora Andrea Carvajal por brindarme todo el apoyo para finalizar este trabajo, a la profesora Carolyn Palma por estar presente en cada vez que lo necesitaba y Jennifer Cavieres ya que, sin su ayuda, nada sería posible. A María Victoria y Marcelo Moreno, por enseñarme todo lo que aprendí en el laboratorio a lo largo de mi carrera y siempre estar dispuestos a ayudarme.

Finalmente agradecer a ANID por financiar el estudio a través del Proyecto FONDEF Idea ID22I1001.

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi abuelo J.E Faundes, quien me enseñó gran parte de lo que se hoy. Tata, estás presente en cada minuto. Te amo y extraño.

RESUMEN

En Chile, los efluentes generados a partir de plantas de tratamiento de aguas servidas son descargados en ríos y diversos cuerpos de agua dulce, el cual presenta contaminantes en concentraciones traza, que no son removidos con la tecnología que posee el tratamiento de agua actual, denominados contaminantes emergentes.

Los contaminantes emergentes causan daños en la flora y fauna, y minimizan la capacidad de reúso del agua tratada. De los que demandan mayor atención corresponden a los fármacos, donde destaca la cafeína, identificada en altas concentraciones, en un rango entre 3,4 -13.150 ng/L. Esto se debe a que es un compuesto altamente consumido y presente en muchos productos de consumo diario.

Con la finalidad de remover fármacos del agua residual, se propone un proceso de adsorción utilizando carbón activado funcionalizado como adsorbente, considerando, además, la biodegradación de ellos a partir de una enzima llamada Lacasa. Se realizaron 3 experimentos, con el objetivo de obtener la capacidad de remoción del carbón activado cuando la cafeína se encuentra en sistemas mono y multicomponente, mediante estudios de equilibrio y cinéticos. Además, para el sistema multicomponente donde se pone en contacto la cafeína con ibuprofeno, naproxeno, paracetamol y carbamazepina, se evaluó la interacción molecular entre los fármacos y la competitividad por los sitios activos disponibles del carbón activado con y sin enzima Lacasa inmovilizada.

El modelo que mejor se ajustó a los datos experimentales de ambos sistemas multicomponentes, con carbón activado funcionalizado y carbón activado funcionalizado con enzima Lacasa ocupando un 20% de sitios activos, fue el de Langmuir-Freundlich con un R^2 de 0,85 y 0,74 respectivamente, lo cual indica que los 5 fármacos competirán por la misma cantidad de espacios disponibles, siendo más adsorbidos la carbamazepina, el naproxeno y el paracetamol por las características hidrófobas que poseen y su tamaño molecular, mientras que a la cafeína es absorbida correctamente pero se le dificulta más debido a su estructura polar. Además, se obtuvo que luego de las 72 h de operación, los 3 sistemas llegaron al equilibrio, sin embargo, la enzima Lacasa degradó moléculas a las 360 h de operación. Fármacos como la cafeína, carbamazepina y naproxeno fueron degradados eficientemente por la enzima.

El mecanismo de adsorción de cafeína se representa a partir del modelo de pseudo segundo orden, el cual indica que, la remoción del proceso estará definida por la cantidad de sitios activos disponibles que tenga el carbón activado, presentando además altos valores de cantidad adsorbida.

Se concluye que la cafeína logra ser removida tanto por el carbón con y sin enzima, lo cual indica que el carbón activado es un buen material adsorbente para fármacos como la cafeína. La capacidad de remoción dependerá del sistema en que se encuentre, ya que en sistemas monocomponentes, se presentaron valores de q_e mayores, debido a que la molécula de cafeína no tenía competencia por los sitios activos mientras que para sistemas multicomponentes la remoción de cafeína disminuirá considerando que competirá por sitios activos con los demás fármacos.

Glosario

CAF: carbón activado funcionalizado

CBZ: carbamazepina

Ce's: contaminantes emergentes

CFN: cafeína

ECAF: carbón activado funcionalizado, con enzima Lacasa

IBU: ibuprofeno

NPX: naproxeno

PAR: paracetamol

PTAS: plantas de tratamiento de agua servida

ÍNDICE

1	ANTECEDENTES GENERALES	1
1.1.	Contaminación de aguas superficiales	1
1.1	Plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas	2
1.2	Reúso de aguas residuales tratadas para consumo humano	2
1.3	Contaminantes emergentes	3
1.3.1	Descarga de contaminantes emergentes en aguas superficiales	3
1.3.2	Efectos en la flora y fauna	4
1.3.3	Presencia de fármacos en aguas servidas	5
1.4	Cafeína como contaminante emergente	6
1.4.1	Fuentes y usos de la Cafeína	6
1.4.2	Impactos ambientales	7
1.5	Alternativas de remoción de cafeína y CE's en aguas residuales	8
2	OBJETIVOS	9
2.1	Objetivo general	9
2.2	Objetivos específicos	9
3	MARCO TEÓRICO	10
3.1	Adsorción	10
3.2	Carbón activado	10
3.2.1	Propiedades del carbón activado	11
3.2.2	Propiedades de la cafeína	12
3.3	Capacidad de adsorción	13
3.4	Estudios de equilibrio	14
3.4.1	Isoterma de Langmuir	14
3.4.2	Isoterma de Freundlich	14
3.5	Isotermas de adsorción en sistemas multicomponente	15
3.5.1	Isoterma de Langmuir extendido	16
3.5.2	Isoterma de Langmuir modificado	16
3.5.3	Isoterma de Langmuir-Freundlich	16
3.6	Cinéticas de adsorción monocomponente	17
3.6.1	Cinética de Pseudo primer orden	17
3.6.2	Cinética de Pseudo segundo orden	17

4	METODOLOGÍA	18
4.1	Materiales	18
4.2	Métodos	20
4.2.1	Curvas de calibración	20
4.2.2	Determinación de cinética monocomponente con CAF	21
4.2.3	Determinación de isoterma multicomponente con CAF	21
4.2.4	Determinación de cinética multicomponente con CAF	22
4.2.5	Determinación de isoterma y cinética multicomponente ECAF	22
5	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	23
5.1	Interacciones en cuantificación de la mezcla	23
5.2	Remoción de contaminantes emergentes en mezcla utilizando CAF.	24
5.3	Remoción de contaminantes emergentes en mezcla ECAF.	27
5.4	Comparación de remoción ECAF 72h vs ECAF 360 h	30
5.5	Cinéticas de adsorción	33
6	CONCLUSIONES	37
7	REFERENCIAS	38

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de fuentes y su contenido de cafeína (Lozano et al, 2007).	7
Tabla 2: Propiedades químicas de la cafeína (Bachmann et al., 2021).	13
Tabla 3: Propiedades fisicoquímicas de los fármacos utilizados.	19
Tabla 4: Longitud de onda máxima obtenida mediante barrido espectral de cada fármaco.	20
Tabla 5: Valores de la pendiente obtenidos a partir del barrido espectral para cada fármaco.	21
Tabla 6: Tiempo de toma de muestra para el modelo de cinética monocomponente.	21
Tabla 7: Parámetros de ajuste modelos isoterma multicomponente CAF 72 h.	25
Tabla 8: Parámetros de ajuste modelos isoterma multicomponente ECAF 72 h.	28
Tabla 9: Parámetros de ajuste modelo isoterma multicomponente Langmuir-Freundlich ECAF 360 h.	31
Tabla 10: Parámetros de ajuste modelos cinéticos sistema monocomponente CAF.	33
Tabla 11: parámetros ajuste modelo de pseudo segundo orden de 3 sistemas estudiados para concentraciones de 50 mg/L.	36
Tabla 12: Concentración inicial isoterma CAF.	44

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Distribución de los contaminantes emergentes desde el consumo hasta su descarga (Elaboración propia).....	4
Figura 2: Fármacos detectados con mayor frecuencia en diversos ríos de 104 países (Wilkinson et al., 2022).....	6
Figura 3: Interfase en el proceso de adsorción (Borsarelli, sf).....	10
Figura 4: Grupos funcionales presentes en la estructura del carbón activado (Universidad de Sevilla, sf).....	12
Figura 5: gráfico correspondiente a los modelos de isoterma presentados (Geankoplis, 1998). ...	15
Figura 6: concentraciones teóricas vs concentraciones medidas isoterma CAF.....	23
Figura 7: Isoterma mezcla pentacomponente adsorbida con carbón activado funcionalizado.	24
Figura 8: gráficos de ajuste individual del modelo de isoterma Langmuir-Freundlich CAF donde, a) ibuprofeno, b) naproxeno, c) paracetamol, d) cafeína y e) carbamazepina.	26
Figura 9: gráficos de ajuste individual del modelo de isoterma Langmuir-Freundlich ECAF 72 h donde, a) ibuprofeno, b) naproxeno, c) paracetamol, d) cafeína y e) carbamazepina.....	29
Figura 10: Isoterma mezcla pentacomponente adsorbida en ECAF a 360 h.	30
Figura 11: comparación entre la capacidad máxima de adsorción del carbón activado funcionalizado con y sin enzima Lacasa a las 72 y 360 h de operación.	31
Figura 12: gráfico tiempo vs C_e a una concentración inicial de 50 mg/L hasta 360 h.....	32
Figura 13: gráfico tiempo vs C_e a una concentración inicial de 300 mg/L hasta 360 h.....	33
Figura 14: gráfica de modelos de ajuste cinético para, a) 25 mg/L, b) 50 mg/L, c) 100 mg/L y d) 200 mg/L.	34
Figura 15: gráficos de análisis segmentado de cinética q_t vs t para concentraciones de 50 mg/L, donde a) 0,5 h, b) 1 h, c) 8 h y d) 72 h.	35
Figura 16: Curva de calibración de a) ibuprofeno, b) naproxeno, c) paracetamol, d) cafeína y e) carbamazepina.....	43
Figura 17: gráficos individuales de concentración teórica vs concentración medida donde a) ibuprofeno, b) naproxeno, c) paracetamol, d) cafeína y e) carbamazepina.	45
Figura 18: gráficos de ajuste individual del modelo de isoterma Langmuir-Freundlich ECAF 360 h donde, a) ibuprofeno, b) naproxeno, c) paracetamol, d) cafeína y e) carbamazepina.....	46
Figura 19: Linealización modelo pseudo segundo orden a los 30 min de operación.....	47
Figura 20: Linealización modelo pseudo segundo orden luego de 1 h de operación.....	47
Figura 21: Linealización modelo pseudo segundo orden luego de 8 h de operación.....	48
Figura 22: Linealización modelo pseudo segundo orden luego de 72 h de operación.....	48

1 ANTECEDENTES GENERALES

1.1. Contaminación de aguas superficiales

El agua hoy es considerada un recurso escaso. A medida que crece la población aumenta su demanda por el incremento en la contaminación de diferentes cuerpos de aguas dulces. La contaminación hídrica se define como la alteración en la calidad del agua al punto de llegar a ser dañinas o letales para el ecosistema acuático, mientras que la calidad del agua corresponde al término que permite cuantificar las características físicas, químicas y biológicas del agua (Baeza, 2016)

Las aguas superficiales son aquellas aguas que se encuentran en la superficie, observables a simple vista, tales como: lagos, ríos, mares, océanos, lagunas y embalses. Se estima que el total de recursos hídricos en el mundo alcanza los 1,45 millones de km³, de los cuales 90.000 km³, un 2,5%, corresponden a agua dulce. De este total, solo el 1% corresponden a aguas superficiales (Ministerio del Medio Ambiente, 2019).

Los contaminantes que se encuentran en mayor proporción en cuerpos de agua son de tipo biológicos y químicos, donde estos últimos se clasifican en inorgánicos y orgánicos. La principal fuente de contaminación corresponde a las aguas residuales, aguas provenientes de actividades industriales y de actividades urbanas (Banco Bilbao Vizcaya Argentaria S.A., 2024). A pesar de que los principales productos químicos presentes en aguas contaminadas corresponden a elementos como el arsénico, los fluoruros y nitratos, existen nuevos contaminantes, como lo son determinados fármacos, micro plásticos o plaguicidas, entre otros, que cada vez se hacen más presentes (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2024). Los principales problemas en la calidad de agua en Chile son la eutroficación, la salinidad, contaminantes no convencionales y contaminantes emergentes (Comisión Nacional de Riego, Ministerio de Agricultura, sf).

La principal vía de entrada de contaminantes a las aguas superficiales corresponde a las aguas residuales. Si bien, actualmente los procesos para tratar aguas residuales cuentan con tecnologías avanzadas capaces de remover un gran porcentaje los contaminantes más dañinos para los seres vivos, la legislación actual en Chile no rige para aquellos contaminantes cuyo tamaño se sitúa en el orden de nano o micropartículas, denominados contaminantes emergentes, que son relativamente desconocidos (Mezcua, 2004). La normativa vigente excluye específicamente el reúso de aguas residuales tratadas, dejando claro que el Decreto Supremo N° 90 es una norma de emisión solo para macro componentes. Por lo tanto, no se prioriza para el consumo humano y la protección del ecosistema acuático (Ministerio Secretaría General de la Presidencia, 2001)

1.1 Plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas

Para eliminar los contaminantes presentes en las aguas servidas, es necesario someterlas a diversos tratamientos previos a la descarga en instalaciones llamadas plantas de tratamiento de aguas servidas.

Las plantas de tratamiento de aguas servidas, también conocidas como Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales, PTAR, están compuestas por una serie de etapas que tienen como finalidad remover macro contaminantes insertos en el agua. Estas etapas corresponden al pretratamiento, tratamiento primario, tratamiento secundario y caso de ser necesario, tratamiento terciario (Metcalf & Eddy, 1991).

El pretratamiento consiste en rejillas encargadas de separar sólidos y arenas del agua. El tratamiento primario contempla operaciones físicas como la sedimentación, para eliminar sólidos sedimentables y flotantes en macropartículas del agua residual. Luego, el tratamiento secundario incluye procesos biológicos y químicos a través de reactores, con la finalidad de eliminar la mayor parte de la materia orgánica. Finalmente, el tratamiento terciario emplea combinaciones adicionales y operaciones unitarias con el objetivo de eliminar componentes que no se logran remover en el tratamiento secundario, como nitrógeno y fósforo (Metcalf & Eddy, 1991, p.145).

Chile posee un gran potencial en cuanto al tratamiento de aguas residuales, debido a sus elevados niveles de cobertura a lo largo del país. Hoy existen más de 260 sistemas de tratamientos de aguas servidas operando y autorizados por la Superintendencia, los que atienden a más de once millones y medio de habitantes de todo el país. La tecnología de tratamiento predominante corresponde a Lodos Activados con casi un 60% respecto al número de PTAS (Superintendencia de Servicios Sanitarios, 2024).

En cuanto al destino final de las aguas residuales tratadas durante el 2019 en Chile, un 96% de las aguas fueron descargadas en cuerpos de agua superficiales, continentales o marinos, un 22% se descarga al mar y solo un 4% de las aguas residuales tratadas se reutilizan (Donoso et al, 2020)

El tratamiento de aguas residuales es un recurso que, además de aportar una calidad del agua adecuada según la normativa, es un proceso del que es posible obtener energía con biogás y otros subproductos recuperables. En este contexto, las aguas residuales son un recurso de gran valor, a partir del cual pueden extraerse excelentes beneficios como, por ejemplo, ser una fuente adicional de agua potable a partir del reúso.

1.2 Reúso de aguas residuales tratadas para consumo humano

Se estima que anualmente se producen 380 km³ de aguas residuales en todo el mundo (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura [UNESCO], 2021). El reúso del agua residual es una de las posibilidades más estudiadas para ayudar a solucionar parte del problema de la escasez mundial de los recursos hídricos. Según la

Organización Mundial de la Salud OMS, alrededor de 1,4 millones de personas mueren cada año por falta de agua potable, saneamiento e higiene adecuado.

Es necesario que el desarrollo de las tecnologías actuales crezca proporcionalmente con el aumento de la población, a través de enfoques que minimicen el consumo del agua y se centren en la recuperación de estas. Para ello, se plantea un enfoque de economía circular, el cual considera cinco principios (Rodríguez et al., 2020):

- 1.- Reducir las pérdidas de agua
- 2.- Reutilizar el agua residual tratada
- 3.- Reciclar el agua en los procesos productivos
- 4.- Restaurar el agua en las fuentes con la calidad necesaria para proteger los ecosistemas acuáticos y la salud de la población
- 5.-Recuperar aguas para su reutilización

1.3 Contaminantes emergentes

Los contaminantes emergentes corresponden a residuos provenientes de industrias textiles, hospitales, hogares, productos de cuidado personal, drogas de abuso, entre otros, los cuales no son removidos fácilmente en los tratamientos de aguas actuales, debido que sus partículas se presentan en concentraciones traza. Actualmente, dado que no se encuentran regulados o normados, no cuentan con límites de descargas establecidos por alguna institución, por tanto, su presencia en el agua es potencialmente dañina para el ecosistema acuático y para la salud de las personas. Es por esta razón que organizaciones reguladoras los clasifican como un problema prioritario (Zarazúa-Morín et al., 2024).

1.3.1 Descarga de contaminantes emergentes en aguas superficiales

Los contaminantes emergentes ingresan al medio acuático a través de las aguas residuales domésticas, incluyendo actividades como excreción humana, la ducha y piscinas, y a través de descargas de aguas hospitalarias, industriales, ganaderas y agrícolas (Calzadilla, 2022).

En la Figura 1, se presenta el esquema más detallado de las etapas que deben pasar los contaminantes emergentes desde que entran al agua, hasta su descarga.

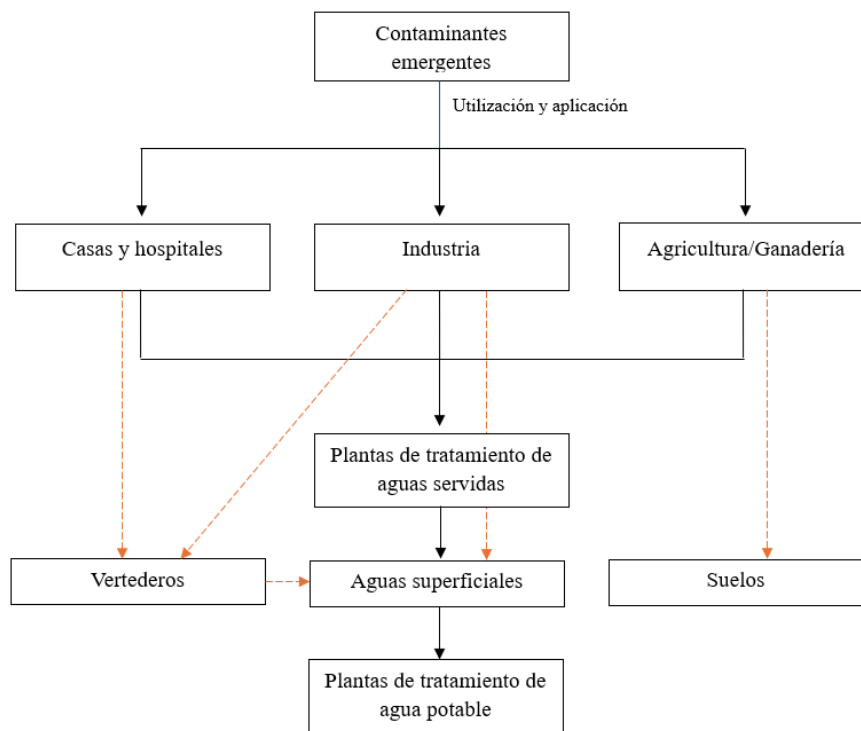


Figura 1: Distribución de los contaminantes emergentes desde el consumo hasta su descarga (Elaboración propia).

1.3.2 Efectos en la flora y fauna

Los contaminantes emergentes, además de afectar la calidad del agua, pueden ser peligrosos a largo plazo en la flora y fauna acuática a pesar de encontrarse en bajas concentraciones.

Para el caso de los animales, contaminantes como fármacos, plaguicidas y productos de cuidado personal son quienes afectan directamente a estos seres vivos, causando efectos agudos como la muerte inmediata o daños en sus funciones cardíacas, motrices y reproductoras (Zarazúa-Morín et al., 2024). Los peces son un elemento clave para evaluar el estado del medio acuático, ya que sus órganos absorben los tóxicos directamente del medio que los rodea. Por ejemplo, se ha reportado que el diclofenaco daña la reproductividad, el corazón y modifican el comportamiento al nadar de algunos peces, mientras que el naproxeno altera su desarrollo y morfología (Oropesa et al., 2017).

En cuanto a las especies marinas como algas y plantas, los contaminantes provocan daños en la reproducción, fotosíntesis y eliminan nutrientes decolorándolas y debilitándolas. Por ejemplo, la presencia de ibuprofeno o paracetamol en corales y plantas marinas modifica su estructura y reduce la acumulación de clorofila, inhibiendo el proceso de fotosíntesis (Zarazúa-Morín et al., 2024).

1.3.3 Presencia de fármacos en aguas servidas

Los fármacos son uno de los contaminantes emergentes que más afectan al ecosistema marino y además corresponden a uno de los Ce's más detectados dentro de este.

Con respecto al contexto mundial, estudios realizados en el oeste Estados Unidos en drenes de tratamiento de aguas servidas permitieron determinar que de 22 fármacos en estudio, 12 están presentes en las aguas servidas; y de esos 12 fármacos, 3 de ellos, carbamazepina, sulfametoxazola y nicotina, se detectaron en la base del dren de 2,0 metros de espesor, en el acuífero existente en la zona, mientras que para un segundo pozo, se encontró en mayor cantidad la presencia de cafeína, carbamazepina, nicotina y Trimetoprima (Henriquez, 2012). En plantas de tratamiento de agua en China, se detectaron en mayor cantidad productos que se consumen masivamente como la cafeína, en concentraciones de 3,4 – 6,6 µg/L y fármacos como el diclofenaco, trimetopina, sulpirida, carbamazepina, indometacina y metoprolol (Henriquez, 2012).

En cuanto a Chile, se realizaron estudios de productos farmacéuticos en las aguas de entrada y salida de las plantas de tratamiento de agua para consumo humano y en las plantas de tratamiento de aguas servidas en Santa Bárbara, Los Ángeles y Concepción, ubicadas en la Región del Biobío, donde las mayores concentraciones detectadas corresponden a la cafeína, que mostró concentraciones en las aguas servidas crudas que van desde 6.150 ng/L a 13.150 ng/L ; el atenolol, con concentraciones entre 1.180 ng/L y 2.032,5 ng/L ; y la carbamazepina, con concentraciones que van desde 166,5 ng/L a 198,8 ng/L (Henriquez, 2012). En la Figura 2 se presenta un gráfico de un estudio mundial que se realizó a 256 ríos de diferentes países, detectando los fármacos que se encuentran en mayor concentración en estos cuerpos de agua.

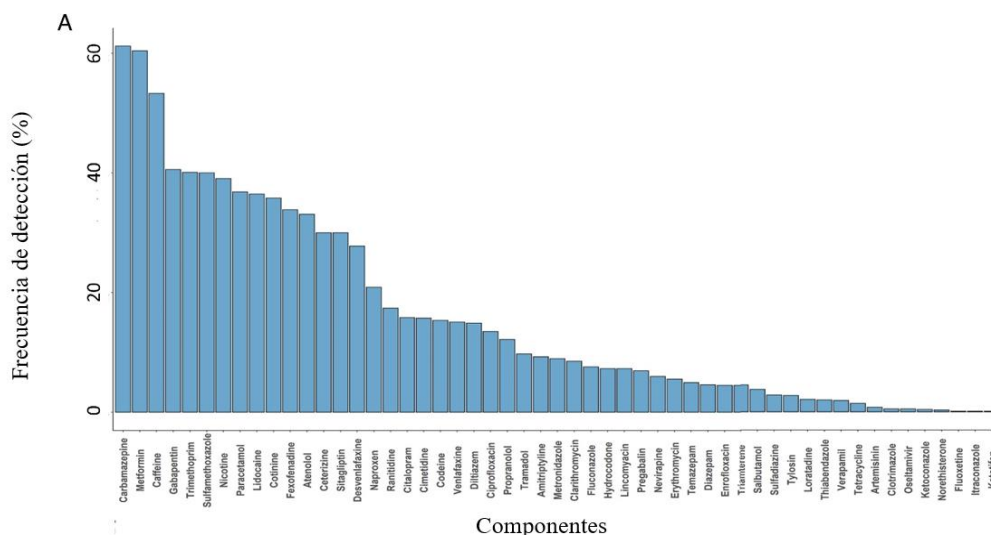


Figura 2: Fármacos detectados con mayor frecuencia en diversos ríos de 104 países (Wilkinson et al., 2022).

1.4 Cafeína como contaminante emergente

Uno de los contaminantes emergentes de mayor frecuencia y altas concentraciones tanto en las aguas residuales como en los recursos superficiales hídricos es la cafeína. Se podría considerar que es el compuesto estimulante de mayor consumo en el mundo y la más aceptada socialmente, la cual va en aumento proporcional con el crecimiento de la población, ya que cada vez son más las personas que la consumen (Lozano et al, 2007).

La cafeína corresponde a un alcaloide relacionado farmacológicamente a los psicoestimulantes, y está en más de 60 especies plantas y en diferentes formas. Del total consumido por el ser humano, entre el 1 al 10% se excreta en la orina sin sufrir cambios, mientras que el 85% de ésta, se metaboliza en el hígado transformándose y excretándose en paraxantina (Li et al, 2019).

Durante los últimos años, la cafeína se ha detectado de forma continua en efluentes de plantas de aguas residuales, en aguas superficiales, agua marina y potable gracias al avance tecnológico de nuevos métodos de análisis y detección más sensibles y eficientes. La cafeína es considerada como indicadora de contaminación antropogénica por el uso extendido de la población, por su frecuente detección en el medio ambiente, por su estabilidad química y por su relación con otros contaminantes asociados a las actividades humanas (Ramírez & Rivera, 2017)

1.4.1 Fuentes y usos de la Cafeína

La Tabla 1 presenta las principales fuentes de Cafeína y el rango de concentraciones presentes en esta.

Tabla 1: Clasificación de fuentes y su contenido de cafeína (Lozano et al, 2007).

Fuente	Clasificación	Volumen	Contenido cafeína (rango)
Café	Tostado	150 mL	64-124 mg
	Instantáneo	150 mL	40-108 mg
	Tostado descafeinado	150 mL	2-5 mg
	Instantáneo descafeinado	150 mL	2-8 mg
Té	Té	150 mL	8-91 mg
	Bolsa de té	150 mL	28-44 mg
	Hoja de té	150 mL	30-48 mg
	Té instantáneo	150 mL	24-31 mg
Cacao	Cacao	150 mL	42 mg
	Tableta chocolate	28 g	20 mg
	Chocolate con leche	28 g	1-15 mg
	Chocolate dulce	28 g	1,5- mg
Bebidas	Colas	180 mL	15-35 mg
	Colas descafeinadas	180 mL	0 mg
	Colas light	180 mL	13-35 mg
	Energéticas	250 mL	35-80 mg

El café corresponde al producto consumido con mayor cantidad de cafeína, seguido del té. Cabe destacar que algunos medicamentos también contienen cafeína, generalmente en combinación con otros principios activos, donde los contenidos de ella están habitualmente entre un rango de 15 y 200 mg (Lozano et al, 2007).

1.4.2 Impactos ambientales

La cafeína sigue una gran variedad de rutas para llegar al medio acuático, donde las aguas residuales no tratadas y tratadas se encuentran entre las más importantes. Si bien, entre el 1-5% de la cafeína se excreta directamente en la orina, existe una cantidad considerable de esta que es vertida sin consumir al recurso hídrico (Ryder, 2017).

De acuerdo con el estudio “*A global trend of caffeine consumption over time and related environmental impacts*”, se identificaron altas concentraciones de cafeínas en plantas de tratamiento de aguas servidas, reflejando los amplios patrones de consumo y la falta de saneamiento adecuada de ésta. De un total de 87 estudios realizados, se indicó que concentraciones de cafeína podrían estar causando en un 28% de los casos, riesgos irreversibles sobre los organismos acuáticos en aguas residuales, un 7% en aguas superficiales y un 5% aguas de estuario de todo el mundo, debido a que en todos los recursos hídricos el valor de cafeína sugerido estaba sobre el límite. Se obtuvo, además, que la carga de cafeína es lineal en el tiempo, por tanto, no varía según las estaciones del año. Las

exposiciones a largo plazo de este psicoestimulante provocan alteraciones fisiológicas y daños en el comportamiento de la flora y fauna acuática (Quadra et al, 2020).

Cabe destacar que aún no existen estudios significativos de cómo afecta al ecosistema la mezcla de cafeína con otros contaminantes emergentes, por lo que se debe tener en cuenta estudiar y analizar, ya que cuando se detecta cafeína en ecosistemas acuáticos, existe una alta probabilidad de encontrar otros compuestos, como drogas ilícitas y lícitas, productos de cuidado personal, hormonas, etc (Quadra et al, 2020).

A raíz de lo mencionado anteriormente, es fundamental implementar sistemas de tratamiento de agua adecuados y más eficientes para así evitar que la cafeína llegue a los recursos hídricos y, con ello, un deterioro mucho más significativo en el ecosistema acuático.

1.5 Alternativas de remoción de cafeína y CE's en aguas residuales

En búsqueda de remover los contaminantes emergentes del agua se han estudiado diferentes nuevas tecnologías que logren superar las limitaciones que presenta el proceso convencional de aguas residuales, las cuales combinan los tratamientos físicos, químicos y biológicos actuales y así lograr resultados más efectivos. La adsorción y filtración corresponden a tratamientos físicos. Los lodos activados, lagunas, el carbón activado biológico corresponden a tratamientos biológicos y finalmente procesos como la oxidación avanzada, ozonización y coagulación corresponden a procesos químicos (Shahid et al, 2021).

Para este caso, se utilizará un tratamiento combinado físico y biológico a partir de enzimas adheridas a una matriz carbonácea. El uso de microorganismos para la remoción de contaminantes emergentes en aguas residuales ha demostrado ser un avance tecnológico clave para el tratamiento biológico de PTAS, ya que ofrece una alternativa amigable con el medioambiente y de bajos costos operacionales (Torres et al, 2023). Este proceso permite convertir diversos contaminantes emergentes en moléculas con estructura química más simple y/o con menor impacto al medioambiente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Determinar la capacidad de remoción de Cafeína en una matriz carbonácea funcionalizada química y enzimáticamente, mediante estudios de equilibrio y cinéticos para sistemas mono y multicomponentes.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar las principales interacciones entre los fármacos estudiados cuando están en una mezcla multicomponente.
- Realizar estudios de equilibrio en sistemas multicomponentes utilizando carbón activado funcionalizado química y enzimáticamente.
- Determinar el efecto en la cinética de remoción cuando la cafeína se encuentra contenida en sistemas mono y multicomponentes.

3 MARCO TEÓRICO

3.1 Adsorción

La adsorción corresponde a un proceso cuyo principio se basa en la transferencia de materia, donde un soluto se transfiere de una fase fluida a una fase sólida. Esta se produce en la interfase entre la matriz sólida y la solución. Durante la adsorción de un gas o de un soluto en disolución, las partículas se acumulan sobre la superficie de otro material. La sustancia que se adsorbe durante el proceso se denomina adsorbato y el material que capta las partículas y adsorbe se denomina adsorbente. En términos generales, se define como la captación de sustancias solubles presentes en la interfase de la solución. Esta interfase se encuentra entre un líquido y un gas, un sólido o entre dos líquidos diferentes (Metcalf & Eddy, 1991, p.358).

La interfase se define como la región del material cuyas propiedades fisicoquímicas se modifican. En la Figura 3 se presenta una imagen explicativa con la adsorción y su respectiva interfase (Borsarelli, sf).

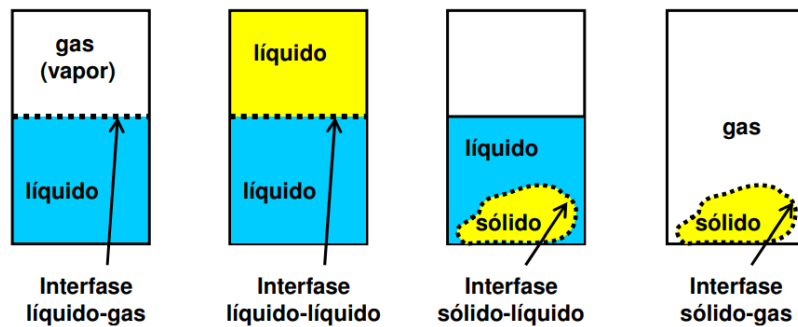


Figura 3: Interfase en el proceso de adsorción (Borsarelli, sf).

En general, se identifican dos tipos básicos de adsorción: la adsorción física y la adsorción química. La diferencia entre ellas radica en el tipo de interacciones entre el adsorbente y el adsorbato. En la adsorción física las interacciones predominantes son de tipo Van de Waals, mientras que en la adsorción química las interacciones semejan enlaces químicos (Tubert & Talanquer, 1997).

3.2 Carbón activado

El carbón activado es comúnmente utilizado en procesos de adsorción debido a que posee una alta área superficial, permitiendo así adsorber una gran cantidad de partículas en su estructura. Corresponde a un tipo de carbón, con la diferencia de que este posee un método de activación utilizando métodos fisico-químicos con el fin de incrementar su área superficial debido a la formación de poros internos. Esta estructura porosa le entrega una alta capacidad adsorbente al material (Metcalf & Eddy, 1991, p.359). Se clasifica según su tamaño en carbón activado granular y carbón activado en polvo. El carbón activado granular posee un diámetro de partículas superior a 0,1 mm, mientras que el carbón activado en polvo un diámetro de partícula menor o igual a 0,1 mm (Metcalf & Eddy, 1991, p.359).

3.2.1 Propiedades del carbón activado

Se deben definir las propiedades del carbón activado que determinarán la eficiencia del proceso de adsorción en compuestos solubles, en sistemas mono y multicomponente. A partir de esto, se presentan los más significativos:

- **Tamaño de los poros**

Se distinguen tres tipos de poros en la estructura del carbón activado, los cuales corresponden a macroporos, mesoporos y microporos. Estos se clasifican según su función y tamaño en poros de adsorción y poros de transporte (Metcalf & Eddy, 1991, p.362).

- **Superficie específica**

Corresponde al área superficial total por unidad de masa de carbón activado, expresado en m^2/g (Colpas C. et al., 2017).

En el caso del carbón activado, la superficie de las partículas presenta una alta reactividad fisicoquímica con el medio, lo que implica la existencia de fenómenos como la adsorción de cationes y moléculas de agua o variación de la carga eléctrica y de las fuerzas de atracción-repulsión entre partículas (Colpas C. et al., 2017).

- **Distribución de poros**

La distribución de poros define que tipo de adsorbatos son susceptibles de ser adsorbidos, desde el punto de vista del tamaño de estos (Metcalf & Eddy, 1991). Depende fundamentalmente de tres factores: el origen de la materia prima, el tipo de activación, y la duración del proceso de activación (Madrigal, 2007).

- **Densidad de carga**

La densidad de carga corresponde a la cantidad de carga eléctrica por área superficial que posee el adsorbente. Esta afecta directamente las interacciones electrostáticas entre la matriz sólida y el adsorbato (Bachmann et al, 2020)

Este parámetro es manipulable ya que está directamente relacionado a la funcionalización del carbón activado, quien corresponde en este caso a la matriz adsorbente sólida.

- **Punto de Carga Cero (PCZ)**

El Punto de Carga Cero corresponde al valor de pH en cual la superficie del carbón activado no tiene carga neta, es decir, el número de cargas positivas es igual al número de cargas negativas en la superficie. A partir de este se determinará la capacidad del carbón activado para captar iones positivos o negativos dependiendo del pH de la solución (Moussa et al, 2022)

▪ Química de la superficie

La superficie de los carbones puede encontrarse combinada en mayor o menor proporción con otros átomos distintos al carbono, dando lugar a diferentes grupos superficiales.

Se han identificado diferentes grupos funcionales en la superficie del carbón activado correspondientes a fenoles, lactonas, carbonilos, hidroxilos, etc, los cuales influyen en la capacidad de adsorción del proceso (Universidad de Sevilla, sf).

La presencia de grupos funcionales ácidos en la superficie del carbón tiende a liberar protones, especialmente en medios básicos, mientras que los grupos básicos tienden a captarlos cuando se encuentran en un medio ácido. De esta forma se generan cargas positivas o negativas en la superficie del carbón (Bachmann et al, 2020).

A continuación, se presentan los principales grupos superficiales del carbón. La mayoría de estos grupos son grupos oxigenados, debido a la tendencia de los carbones a oxidarse incluso a temperatura ambiente.

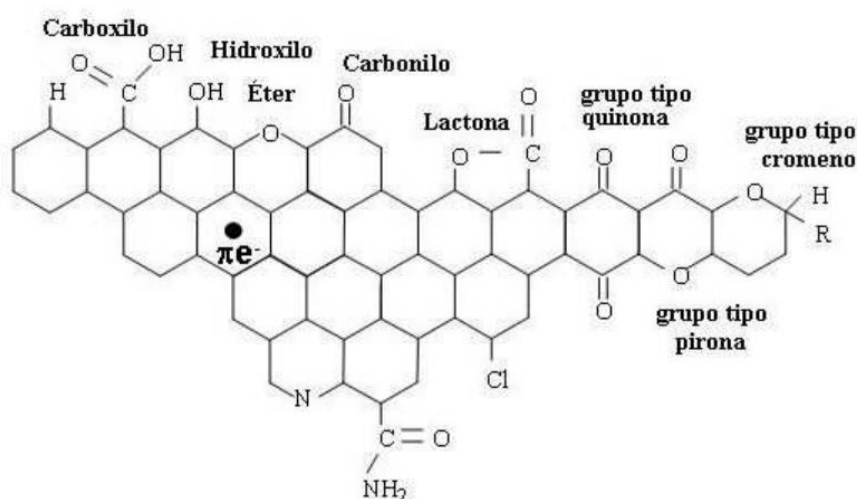


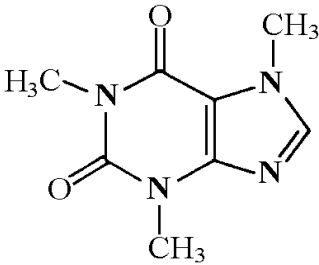
Figura 4: Grupos funcionales presentes en la estructura del carbón activado (Universidad de Sevilla, sf).

La presencia de grupos funcionales tiene relación con las características hidrofóbicas o hidrofílicas de la superficie del carbón activado. A partir de esto puede atraer partículas que también sean de carácter hidrofóbico o formar puentes de hidrogeno en caso de que la superficie sea hidrofílica (Bachmann et al, 2020).

3.2.2 Propiedades de la cafeína

Las principales características y propiedades del adsorbato estudiado se resumen en la Tabla 2, las cuales tienen directa relación o influencia en la eficiencia del proceso de adsorción.

Tabla 2: Propiedades químicas de la cafeína (Bachmann et al, 2020).

Parámetro	Estructura o Valor
Estructura molecular	
pH	6,9
pKa	10,4 a 40°C
log Kow	-0,04 a 0,01 (hidrofílica)
Peso molecular	194,19 g/mol
Tasa de metabolización	Menor al 10% de excreción

3.3 Capacidad de adsorción

Se realiza un balance de materia al proceso de adsorción con la finalidad de obtener la cantidad de Adsorbato que se removió de la solución inicial utilizada, presentado en la siguiente ecuación (Melliti et al, 2024)

$$q_e = (C_o - C_e) \cdot \frac{V}{m} \tag{1}$$

Donde q_e corresponde a la cantidad de cafeína removida en mg, C_o corresponde a la concentración inicial del fármaco en mg/L, C_e corresponde a la concentración del fármaco en equilibrio en mg/L, V corresponde al volumen de la solución en L y m corresponde a la masa del carbón activado seco en mg.

Además, se presenta el porcentaje de remoción final del adsorbato en la solución inicial a partir de la siguiente ecuación (Melliti et al, 2024):

$$R(\%) = \frac{(C_o - C_e)}{C_o} \cdot 100 \tag{2}$$

Donde C_o corresponde a la concentración inicial del fármaco en mg/L y C_e corresponde a la concentración del fármaco en equilibrio en mg/L.

La cantidad adsorbida de una solución no solo depende de la composición del adsorbato, sino también de la razón sólido-líquido la solución. Las técnicas utilizadas para este proceso en el laboratorio corresponden a experimentos batch, agitando una cantidad determinada de adsorbente con soluciones de diferentes concentraciones de soluto, y experimentos con

columnas continuas, empacando el adsorbente en columnas fijas de forma continua (Amaringo, 2015).

3.4 Estudios de equilibrio

La capacidad teórica de adsorción en el equilibrio de un contaminante por medio del carbón activado se obtiene a partir del cálculo de la isoterma de adsorción. Esta permite determinar la capacidad de adsorbato que puede retener el carbón activado, en función de la concentración de solución y de la temperatura constante a la que se opera (Metcalf & Eddy, 1991).

Los modelos más utilizados para aplicar el tratamiento de datos experimentales de la isoterma fueron desarrollados por Langmuir y Freundlich, las cuales se presentan a continuación.

3.4.1 Isotherma de Langmuir

El modelo de isoterma de Langmuir se basa principalmente en el supuesto de que la superficie de adsorción es homogénea, es decir, todos los sitios de adsorción presentan la misma energía para atraer y retener partículas. Otros supuestos que considera corresponden a (Rivas et al, 2014)

- El sistema se satura si todos los sitios donde puede ser adsorbida la molécula están ocupados.
- El calor de adsorción es independiente del grado de recubrimiento.
- Las moléculas adsorbidas no interactúan entre sí una vez que están en la superficie.

La adsorción ocurre en monocapa, por lo tanto, las moléculas se adhieren a la superficie del adsorbente formando una sola capa de moléculas, sin apilarse en múltiples capas.

El equilibrio se alcanza cuando la velocidad de adsorción de las moléculas sobre la superficie es la misma que la velocidad de desorción de estas.

A continuación, se define el modelo de Langmuir a partir de la siguiente ecuación (Srivastava et al, 2007)

$$q_e = \frac{q_m \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (3)$$

Donde q_e corresponde a la cantidad adsorbida por peso unitario de adsorbente (carbón) en mg/g, C_e corresponde a la concentración de equilibrio del adsorbato en solución después de la adsorción en mg/L y K_L corresponde a la constante de Langmuir en l/mg.

3.4.2 Isotherma de Freundlich

La isoterma de Freundlich corresponde a un modelo empírico el cual considera como supuesto que la superficie del adsorbente es heterogénea energéticamente, en otras palabras, no todos los sitios en la superficie del adsorbente tienen la misma capacidad o fuerza para atraer y retener moléculas de adsorbato. Además, se considera que no existen interacciones

laterales entre moléculas adsorbidas (Rivas et al., 2014). A continuación, se presenta la ecuación que define el modelo (Srivastava et al, 2007).

$$q_e = K_F \cdot C_e^{\frac{1}{n}} \quad (4)$$

Donde q_e corresponde a la cantidad adsorbida por peso unitario de adsorbente (carbón) en mg/g, C_e corresponde a la concentración de equilibrio del adsorbato en solución después de la adsorción en mg/L y $K_F, 1/n$ corresponden a constantes empíricas de Freundlich.

La Figura 5 representa el comportamiento ideal de los modelos de la isoterma de Langmuir y la isoterma de Freundlich, donde la concentración en la fase sólida se expresa como q , en kg de adsorbato(soluto)/kg de adsorbente(sólido), y en la fase fluida como c , en kg de adsorbato/m³ de fluido (Geankoplis, 1998)

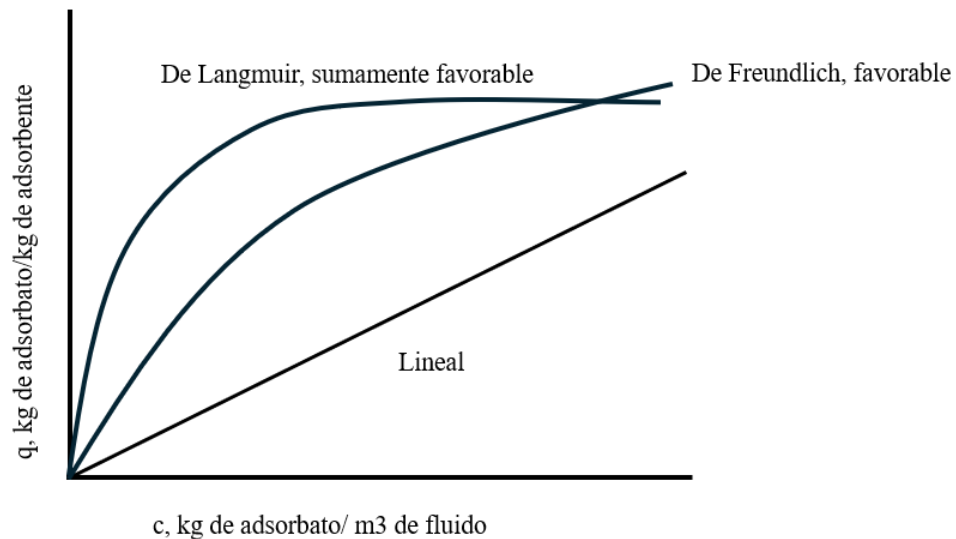


Figura 5: gráfico correspondiente a los modelos de isoterma presentados (Geankoplis, 1998, p.775).

3.5 Isothermas de adsorción en sistemas multicomponente

Se ha sugerido que los datos de adsorción multicomponente pueden utilizarse utilizando isothermas en monocomponente, sin embargo, este enfoque puede ser erróneo al describir las interacciones entre los diferentes contaminantes en sistemas de más de un fármaco y generalmente proporciona predicciones poco precisas para los datos en equilibrio (Amaringo, 2015).

Debido a ello, para sistemas multicomponentes, los modelos de isothermas más utilizados y estudiados para describir el equilibrio del proceso incluyen los modelos de Langmuir extendido, Langmuir modificado y Langmuir-Freundlich.

3.5.1 Isoterma de Langmuir extendido

El modelo de Langmuir extendido en una mezcla asume que la competencia entre los diferentes componentes dependerá de la relación entre las concentraciones de los adsorbatos, que en este caso corresponden a diferentes fármacos. Todos los fármacos competirán por la misma cantidad de sitios activos, por lo que la adsorción total está limitada y es compartida entre todos los componentes (Costa et al, 2019)

A continuación, se presenta la ecuación que define el modelo (Costa et al, 2019)

$$q_{e,i} = \frac{q_{max} \cdot K_{EL,i} \cdot C_{e,i}}{1 + \sum_{j=1}^n K_{EL,j} \cdot C_{eq,j}} \quad (5)$$

Donde q_{max} corresponde a la capacidad máxima de adsorción en el sistema multicomponente, $K_{EL,i}$ y $K_{EL,j}$ corresponden a constantes de Langmuir que indica la afinidad por los sitios activos, $C_{eq,i}$ y $C_{eq,j}$ corresponde a la concentración en el equilibrio en los adsorbatos en mg/L y $q_{e,i}$ corresponde a la cantidad de adsorbato que se traslada a la superficie del adsorbente en el sistema multicomponente en mg/g.

3.5.2 Isoterma de Langmuir modificado

El modelo modificado en una mezcla considera que cada componente en el sistema multicomponente tiene su propia capacidad máxima de adsorción y afinidad individual (Costa et al, 2019).

$$q_{e,i} = \frac{q_{max,i} \cdot K_{L,i} \cdot C_{e,i}}{1 + \sum_{j=1}^n K_{L,j} \cdot C_{e,j}} \quad (6)$$

Donde $q_{max,i}$ corresponde a la capacidad máxima de adsorción del adsorbato “i” en el sistema multicomponente, $K_{L,i}$ y $K_{L,j}$ corresponden a constantes de Langmuir que indica la afinidad por los sitios activos, $C_{e,i}$ y $C_{e,j}$ corresponde a la concentración en el equilibrio en los adsorbatos en mg/L, $q_{e,i}$ corresponde a la cantidad adsorbida en el sistema multicomponente en mg/g.

3.5.3 Isoterma de Langmuir-Freundlich

El modelo de Langmuir- Freundlich para una mezcla en sistema multicomponente reduce las limitaciones del modelo de Langmuir, haciendo más preciso el comportamiento del sistema, ya que considera la heterogeneidad del proceso. A continuación, se presenta la ecuación asociada a este (Seolatto et al, 2014)

$$q_{e,i} = \frac{q_{max} \cdot K_{LF,i} \cdot C_{e,i}^{n,i}}{1 + \sum_{j=1}^n K_{LF,j} \cdot C_{e,j}^{n,i}} \quad (7)$$

Donde los parámetros $K_{LF,i}$ mide la intensidad de las interacciones adsorbente- adsorbato, n_i mide la heterogeneidad y favorabilidad del proceso, C_i corresponde a la concentración

en equilibrio en mg/L y $q_{max,i}$ corresponde a la capacidad máxima de adsorción del adsorbato “i” en el sistema multicomponente.

3.6 Cinéticas de adsorción monocomponente

El estudio de las cinéticas de adsorción permite identificar el tiempo de equilibrio necesario y tiempo de contacto ideal para el proceso de adsorción. A partir de ella se obtendrá la velocidad a la cual el o los adsorbatos son removidos de la solución inicial.

Se ha determinado que la cinética de adsorción puede ocurrir en dos principales situaciones, Cinética de Pseudo Primer Orden y Cinética de Pseudo Segundo Orden (Bachmann et al, 2020).

Es importante destacar que los modelos llevan el nombre de “Pseudo” debido a que la cinética no es en fase homogénea, es decir, es un proceso heterogéneo.

3.6.1 Cinética de Pseudo primer orden

El modelo asume que la velocidad de adsorción es proporcional a la diferencia entre la cantidad de adsorbato en equilibrio y la cantidad adsorbida (Almeida-Naranjo et al, 2021)

$$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 \cdot t}) \quad (8)$$

La forma linealizada de la ecuación se presenta como

$$\ln(q_e - q_t) = \ln(q_e) - k_1 \cdot t \quad (9)$$

Donde q_t corresponde a la cantidad de cafeína adsorbida en el tiempo t en mg/g, q_e corresponde a la cantidad de cafeína adsorbida en el equilibrio en mg/g, k_1 corresponde a la constante de primer orden cinético en min^{-1} y t corresponde al tiempo de adsorción.

3.6.2 Cinética de Pseudo segundo orden

El modelo se basa en la capacidad de adsorción en equilibrio y asume que la velocidad de adsorción es directamente proporcional al número de sitios ocupados por el adsorbente (Bachmann et al, 2020).

$$q_t = \frac{q_e^2 \cdot k_2 \cdot t}{1 + q_e \cdot k_2 \cdot t} \quad (10)$$

La forma linealizada de la ecuación se presenta como:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 \cdot q_e^2} + \frac{1}{q_e} \cdot t \quad (11)$$

Donde q_t corresponde a la cantidad de cafeína adsorbida en el tiempo t en mg/g, q_e corresponde a la cantidad de cafeína adsorbida en el equilibrio en mg/g, k_2 corresponde a la constante de segundo orden cinético en min^{-1} y t corresponde al tiempo de adsorción.

3.7 Degradación enzimática por enzima Lacasa

La Lacasa corresponde a una enzima multicobre que cataliza la oxidación de una amplia gama de compuestos aromáticos mediante la reducción simultánea de una molécula de oxígeno a agua como uno de los subproductos, según la siguiente ecuación (Ramos, 2023). Por lo general, su peso molecular, pH óptimo y temperatura están comprendidos entre 58-90 kDa, 2-10 y 40-65°C, respectivamente (Falade et al, 2018)



Varios estudios indican que esta enzima ha adquirido un gran potencial en varias aplicaciones industriales y ambientales, ya que permite degradar diversos compuestos dañinos en los efluentes de agua residual, como lo son fármacos (Sanjay K. S. Patel et al, 2014). Cabe destacar, que la Lacasa presenta mayor rendimiento al pasar por un proceso de inmovilización para evitar que pierda su actividad de degradación, la cual se basa principalmente en interacciones físicas, covalentes y de afinidad (Sanjay K. S. Patel et al, 2014). Un tipo de inmovilización común y con alto rendimiento corresponde a la funcionalización del carbón activado con HCl (Blair et al, 2021). Para cuantificarla se utiliza ABTS, ácido 2,2 azino bis, como indicador espectrofotométrico, el cual hace que la solución obtenga una coloración verde-azulada, presentando peaks de adsorbancia entre los 360 y 460 nm (Rodríguez & Vega, 2016).

Dentro de los contaminantes emergentes presentados en la literatura que son degradados por la enzima Lacasa, se encuentra la Carbamazepina, el Naproxeno y Diclofenaco. No obstante, se asegura que existe una amplia gama de fármacos que puede degradar que no han sido estudiados (Torres et al, 2023)

4 METODOLOGÍA

4.1 Materiales

Carbón activado

Carbón granulado comercial CA adquirido en Sigma Aldrich, con un diámetro de partícula entre 0,84-1,68 mm y una superficie específica de 650 m²/g.

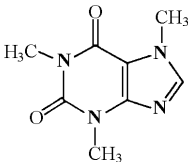
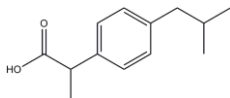
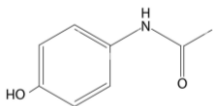
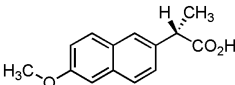
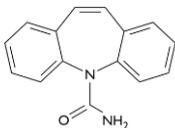
Se llevó a cabo la funcionalización del carbón activado, donde se comenzó lavando el carbón con agua Milli-Q en proporción 8 ml por 1 g de carbón activado llevándolo a agitación con 900 rpm durante aproximadamente 1 hora. Luego, se dejó decantar para secarlo durante 24 h en una estufa a 100°C. Pasada las 24 horas, se funcionalizó utilizando HCl 1M, añadiéndolo en proporción 8 mL por 1 g de CA. Se llevó a una placa calefactora a 60°C con una agitación de aproximadamente 500 rpm durante 12 h. Pasado el tiempo, se lavó nuevamente con agua Milli-Q llevando a agitación durante 10 min y se repite el proceso mínimo 4 veces, hasta que se eliminen los restos de ion cloruro, midiendo una conductividad sobrenadante menor a 25

mS/cm. Finalmente, se secó nuevamente durante 24 h en la estufa a 100 °C, para obtener el carbón activado funcionalizado.

Fármacos

Para la investigación se utilizó cafeína más cuatro fármacos en formato pastilla para el sistema multicomponente los cuales se definen detalladamente en la Tabla 3.

Tabla 3: Propiedades fisicoquímicas de los fármacos utilizados.

Nombre	Estructura química	Peso molecular	Tasa de metabolización	Especificación
Cafeína (CFN)		194,19 g/mol	Excreción hasta 10%	VitaminLife 200 mg
Ibuprofeno (IBU)		206,28 g/mol	Excreción menor al 10%	Laboratorio Chile 600 mg
Paracetamol (PAR)		151,16 g/mol	Excreción menor al 5%	Laboratorio Chile 500 mg
Naproxeno (NPX)		230,26 g/mol	Excreción menor al 10%	
Carbamazepina (CBZ)		236,3 g/mol	Excreción menor al 10%	Andrómaco 200 mg

Enzima Lacasa

La Lacasa cruda se obtuvo a través de fermentación sumergida de *Trametes versicolor* utilizando pasta de tomate comercial diluida 15 %v/v y 400 µM de CuSO₄ como inductor, con 8 días de incubación a 30° C, todo según protocolo (Chavarría, 2016).

Se inmovilizó la Enzima Lacasa en carbón activado funcionalizado CAF utilizando un porcentaje de cobertura enzimática del 20% a condiciones de 17 ° C y pH 7 según protocolo descrito por (Blair et al, 2021).

4.2 Métodos

4.2.1 Curvas de calibración

Se utilizó un espectrofotómetro UV Visible, con la finalidad de obtener el punto de máxima absorbancia de cada fármaco utilizado a través de un barrido espectral a cada solución, en un rango de luz visible entre 200-500 nm. Este fenómeno se rige a través de la Ley de Lambert-Beer, la cual describe la relación entre la absorbancia y la concentración de una sustancia en un medio (Lepoivre et al, 2024).

Se utilizó el barrido espectral del equipo para los 5 fármacos estudiados en la investigación. A partir de una solución estándar de Cafeína, Ibuprofeno, Naproxeno, Carbamazepina y Paracetamol de 1000 mg/L cada una, se prepararon 5 soluciones de 100 mg/L de cada fármaco en matraces aforados de 10 mL, para luego realizar diluciones de concentración entre 1,25 a 20 mg/L de cada uno, con la finalidad de reducir el error del barrido espectral, ya que en absorbancias mayores a 1 no se cumple la ley de Lambert-Beer. Cada dilución se introdujo en cubetas de cuarzo para ser medidas y se utilizó como blanco agua Milli-Q tipo 1.

La longitud de onda máxima de cada fármaco obtenida a partir del barrido espectral se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4: Longitud de onda máxima obtenida mediante barrido espectral de cada fármaco.

Fármaco	Máxima longitud de onda,nm
Ibuprofeno	222
Naproxeno	231
Paracetamol	245
Cafeína	273
Carbamazepina	287

Una vez encontrada la longitud de onda máxima de cada fármaco, se realizó nuevamente un barrido espectral, donde se tomaron valores de absorbancia de las 5 longitudes de onda para cada uno de los fármacos. Se realizó una gráfica para cada valor de Lambda, con eje “x” la concentración medida de cada fármaco y eje “y” con la absorbancia correspondiente a cada concentración, con la finalidad de obtener el valor de la pendiente de cada una de ellas, la cual se rige a partir de la Ecuación 13.

$$Absorbancia = Concentración \cdot pendiente \quad (13)$$

En la Tabla 5 se presentan los valores de pendiente obtenidos mencionados anteriormente

Tabla 5: Valores de la pendiente obtenidos a partir del barrido espectral para cada fármaco.

	IBU	NPX	PAR	CFN	CBZ
λ 222	0,043	0,19	0,036	0,037	0,0977
λ 231	0,016	0,303	0,052	0,025	0,0603
λ 245	0,0006	0,025	0,065	0,013	0,0397
λ 273	0,0015	0,019	0,015	0,049	0,0425
λ 287	0	0,006	0,0086	0,024	0,05

4.2.2 Determinación de cinética monocomponente con CAF

Se utilizó una solución madre de Cafeína con una concentración de 1000 mg/L para el análisis de la cinética. A partir de esta solución se prepararon 4 soluciones de trabajo con una concentración de 25 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L y 200 mg/L en matraces de aforo de 500 mL, para luego ser trasvasiadas en matraces Erlenmeyer de 100 mL, los cuales llevan en su interior 0,1 g de CAF. Estos ensayos fueron realizados en triplicado, es decir, se requerirán 3 matraces para cada concentración, obteniendo un total de 12 matraces.

Estos se llevaron a un Shaker Incubator a 150 rpm con una temperatura de 25°C, con la finalidad de agitar constantemente los matraces, y se tomaron muestras desde tiempo cero hasta encontrar el tiempo de equilibrio, presentados en la Tabla 6.

Tabla 6: Tiempo de toma de muestra para el modelo de cinética monocomponente.

Muestra	Tiempo, h
1	0
2	0,25
3	0,5
4	0,75
5	1
6	2
7	4
8	8
9	24
10	48
11	72

4.2.3 Determinación de isoterma multicomponente con CAF

Se utilizó una mezcla de 5 soluciones con de 1000 mg/L concentración de Cafeína, Paracetamol, Ibuprofeno, Naproxeno y Carbamazepina, donde se añadieron 100 mL de cada una de ellas en un matraz de 500 mL.

A partir de esta solución se prepararon 9 soluciones de trabajo con una concentración de 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L, 250 mg/L y 300 mg/L en matraces de aforo de 100 mL, para luego ser trasvasiadas en matraces Erlenmeyer de 100 mL, los cuales llevan en su interior 0,025 g de CAF, hasta los 25 mL cada uno. Estos ensayos fueron realizados en triplicado, es decir, se requieren 3 matraces para cada concentración, obteniendo un total de 27 matraces.

Se llevaron a un Shaker Incubator a 150 rpm con una temperatura de 25°C, con la finalidad de agitar constantemente los matraces, y se tomaron muestras antes de iniciar la agitación y luego de 72 h.

4.2.4 Determinación de cinética multicomponente con CAF

Se utilizó una mezcla de 5 soluciones con de 1000 mg/L concentración de Cafeína, Paracetamol, Ibuprofeno, Naproxeno y Carbamazepina, donde se añadió 100 mL de cada una de ellas en un matraz de 500 mL.

A partir de esta solución se prepararon 4 soluciones de trabajo con una concentración de 25 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L y 200 mg/L en matraces de aforo de 500 mL, para luego ser trasvasiadas en matraces Erlenmeyer de 100 mL, los cuales llevan en su interior 0,1 g de CAF. Estos ensayos fueron realizados en triplicado, es decir, se requieren 3 matraces para cada concentración, obteniendo un total de 12 matraces.

Se llevaron a un Shaker Incubator a 150 rpm con una temperatura de 25°C, con la finalidad de agitar constantemente los matraces, y se tomaron muestras desde tiempo cero hasta encontrar el tiempo de equilibrio, iguales a las de cinética monocomponente.

4.2.5 Determinación de isoterma y cinética multicomponente ECAF

Se utilizó una mezcla de 5 soluciones con de 1000 mg/L concentración de Cafeína, Paracetamol, Ibuprofeno, Naproxeno y Carbamazepina, donde se añadieron 100 mL de cada una de ellas en un matraz de 500 mL.

A partir de esta solución se prepararon 7 soluciones de trabajo con una concentración de 25 mg/L, 50 mg/L, 75mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L y 300 mg/L en matraces de aforo de 500 mL, para luego ser trasvasiadas en matraces Erlenmeyer de 100 mL, los cuales llevan en su interior 0,2 g de ECAF. Estos ensayos se realizaron en triplicado, es decir, se requieren 3 matraces para cada concentración, obteniendo un total de 21 matraces.

Se llevaron los matraces a un Shaker Incubator a 150 rpm con una temperatura de 25°C, con la finalidad de agitar constantemente los matraces, y se tomó más de una muestra diaria desde tiempo cero hasta 15 días desde el inicio de la agitación, para las concentraciones de 25 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L y 200 mg/L, con la finalidad de realizar la cinética, mientras que se tomó solo una muestra diaria desde tiempo cero hasta 15 días para las concentraciones 75 mg/L, 150 mg/L y 300 mg/L.

5 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1 Interacciones en cuantificación de la mezcla

Con la finalidad de cuantificar la interacción entre los cinco fármacos de estudio al momento de ponerlos en contacto, se analizaron las concentraciones iniciales de cada mezcla que se realizó para obtener isothermas en multicomponente con CAF y ECAF. Estas concentraciones fueron obtenidas a partir de un despeje en la herramienta Excel, donde se utilizaron las curvas de calibración de la Tabla 5.

A partir de las 9 concentraciones iniciales de cada fármaco en la mezcla de la isoterma multicomponente con carbón activado funcionalizado, presentadas en el Anexo B, se obtuvo la Figura 6 que representa un gráfico con el ajuste entre las concentraciones que debe haber teóricamente en la mezcla para cada fármaco versus las concentraciones reales medidas por espectrofotómetro UV visible.

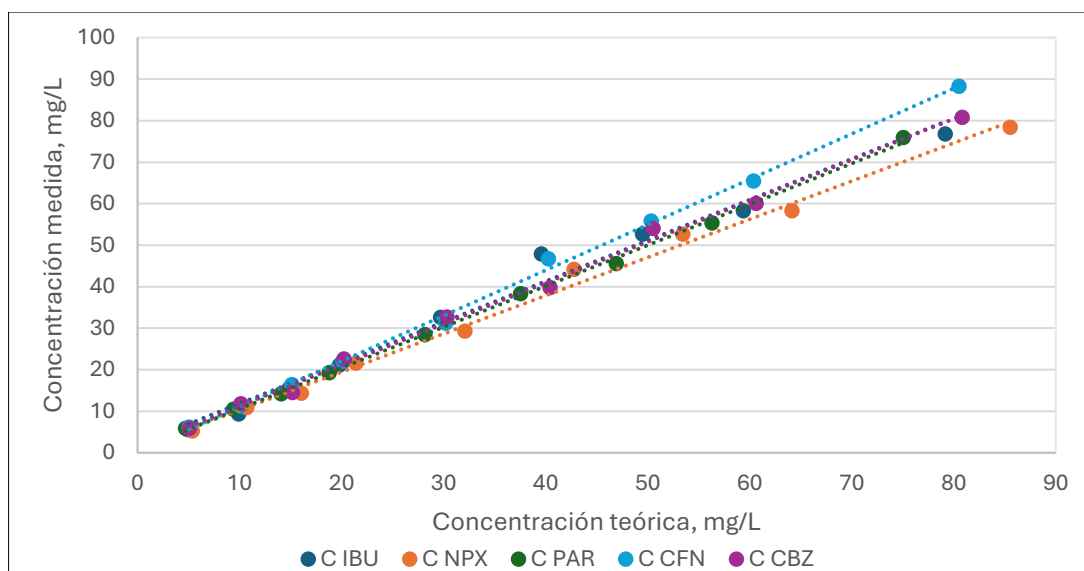


Figura 6: concentraciones teóricas vs concentraciones medidas isoterma CAF.

Se observa como los cinco fármacos siguen la misma tendencia, siendo la diferencia más pronunciada para concentraciones entre mayor rango. Esto predice inicialmente que, la interacción entre los fármacos cuando están en contacto no es completamente significativa, ya que, tanto en plantas de tratamiento de agua residual, como en aguas dulces superficiales, los contaminantes emergentes se encuentran en concentraciones traza.

El hecho de que las concentraciones iniciales teóricas sean similares a las concentraciones obtenidas experimentalmente también permite inferir que el método analítico utilizado, correspondiente a la medición por espectrofotómetro UV visible, es una buena forma de medición de concentraciones en mezclas donde existe de más de un fármaco. Además, se evaluó cada fármaco individualmente, con la finalidad de linealizar los datos medidos, presentados en el Anexo C, donde a partir de la pendiente de la ecuación de la recta, se obtiene cuantitativamente la diferencia entre la concentración teórica y la concentración medida

experimentalmente. Mientras más cercana a 1, mejor es el ajuste de concentraciones de cada fármaco en la mezcla.

5.2 Remoción de contaminantes emergentes en mezcla utilizando CAF.

Se realizó el estudio de isoterma utilizando carbón activado funcionalizado a 72 h, para comprobar que es el tiempo en que los 5 fármacos individualmente llegan al equilibrio. Con la finalidad de estudiar el comportamiento de la mezcla, se evaluó la isoterma, obteniéndose la Figura 7.

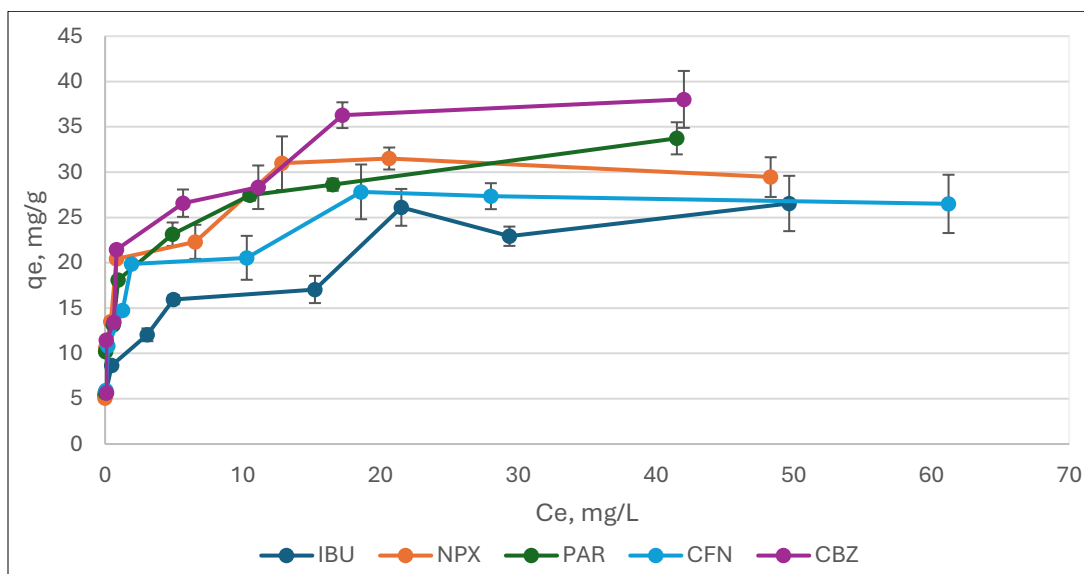


Figura 7: Isoterma mezcla pentacomponente adsorbida con carbón activado funcionalizado.

Se observa como efectivamente, el material adsorbente se satura, por lo que el material no puede seguir adsorbiendo ningún fármaco, no obstante, la cantidad adsorbida de cada uno es diferente. Las isotermas del naproxeno, paracetamol, carbamazepina y cafeína muestran mayor capacidad de absorción en el rango de concentraciones C_e , a diferencia de la isoterma de ibuprofeno. Al comparar estos resultados con la literatura, se observa como el comportamiento de adsorción de los fármacos es similar al de estudios de remoción de fármacos en aguas residuales con más de 5 fármacos, resultando el ibuprofeno el que menor capacidad de remoción presenta (Rodríguez et al, 2015).

Se estudiaron los tres modelos de isoterma en mezcla multicomponente mencionados en el Marco teórico, con la finalidad de analizar la competencia entre los 5 fármacos por los sitios activos disponibles que posee el carbón activado funcionalizado. Cada ajuste se realizó utilizando los datos en triplicado de q_e y C_e .

Se presenta la Tabla 7 con los parámetros obtenidos del ajuste de los tres modelos y el coeficiente de determinación R^2 asociados a ellos.

Tabla 7: Parámetros de ajuste modelos isoterma multicomponente CAF 72 h.

Modelo	Parámetro	Fármaco					
		Mezcla	IBU	NPX	PAR	CFN	CBZ
Langmuir Extendido	$q_{\max}$, mg/g	138,67	-	-	-	-	-
	$K_{EL,i}$, L/mg	-	0,095	0,26	0,31	0,16	0,33
	R^2	0,6	-	-	-	-	-
Langmuir Modificado	$q_{m,i}$, mg/g	-	45,082	14725,2	2948,86	245,052	30,64
	$K_{L,i}$, L/mg	-	0,52	0,0073	0,043	0,25	2,094
	R^2	0,34	-	-	-	-	-
Langmuir Freundlich	$q_{\max}$, mg/g	254,7	-	-	-	-	-
	$K_{LF,i}$, L/mg	-	0,047	0,11	0,101	0,083	0,105
	n_i	-	0,409	0,24	0,305	0,28	0,33
	R^2	0,85	-	-	-	-	-

Se obtuvo como resultado que los modelos de Langmuir Extendido y Langmuir-Freundlich ajustan correctamente al naproxeno, paracetamol, cafeína y carbamazepina, con la diferencia de que el modelo de Langmuir Extendido no ajusta el comportamiento de los valores experimentales del ibuprofeno y el modelo de Langmuir-Freundlich sí. Por esta razón y porque el coeficiente de determinación R^2 es de 0,85, se seleccionó como modelo representativo el de Langmuir-Freundlich.

En la Figura 8 se presentan gráficos para cada fármaco y así poder observar de forma más clara el ajuste individual del modelo de Langmuir-Freundlich.

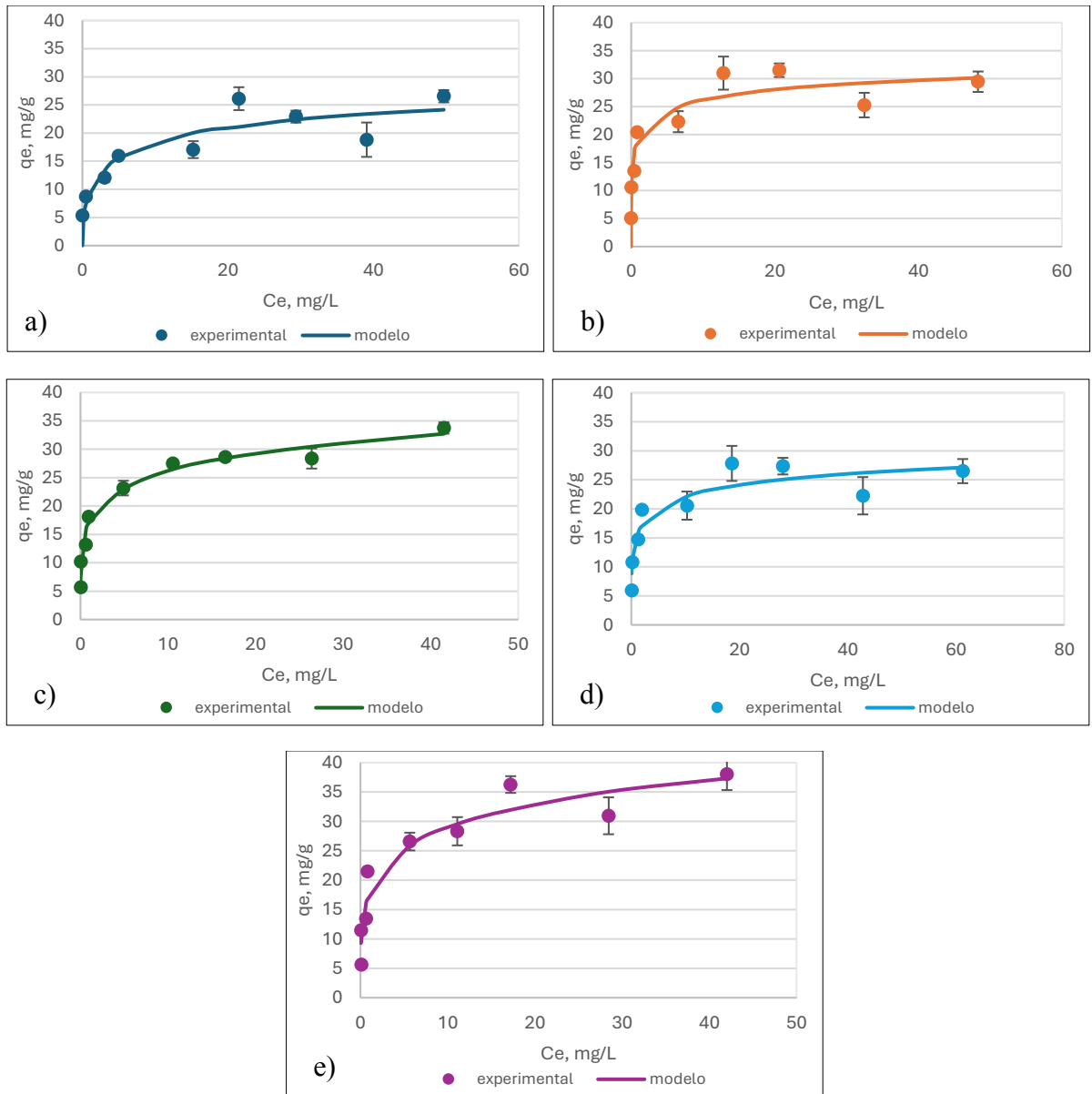


Figura 8: gráficos de ajuste individual del modelo de isoterma Langmuir-Freundlich CAF donde, a) ibuprofeno, b) naproxeno, c) paracetamol, d) cafeína y e) carbamazepina.

El hecho de que los datos experimentales se ajusten mejor al modelo de Langmuir-Freundlich predice el comportamiento heterogéneo de los fármacos cuando se ponen en contacto. Esto significa que para bajas concentraciones las moléculas se adsorberán según la afinidad a los sitios activos disponibles, pero a medida que estos se ocupan, el material deja de adsorber. Si aumenta la concentración del adsorbato, se comienza a limitar la adsorción puesto que se llenan todos los sitios activos disponibles, llegando a una capacidad máxima para admitir más moléculas sin que estas sean reemplazadas. Además, al existir un solo valor de $q_{\max}$ para todo el sistema, los 5 fármacos competirán por la misma cantidad de espacios disponibles (Costa et al, 2019).

Considerando lo anterior, se obtuvo que al inicio del proceso el carbón activado mostrará preferencia por algunos fármacos más que otros y llenará con ellos sitios activos disponibles del material, lo cual va a reducir la capacidad de adsorción de los fármacos restantes al disminuir la cantidad de sitios disponibles. Esto justifica el análisis realizado en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** de la isoterma del sistema completo, ya que se observa como el paracetamol, el naproxeno, la carbamazepina y cafeína se adsorben más que el Ibuprofeno.

El valor de $q_{\max}$ corresponde a 254,7 mg/g, lo cual indica la capacidad de adsorción máxima de la mezcla. Con la finalidad de evaluar si la adsorción de cafeína se ve favorecida o no en el sistema multicomponente, a partir de la literatura se obtuvo el valor de capacidad máxima de adsorción de cafeína correspondiente a 280 mg/g (Álvarez, 2014), donde al hacer la relación $q_{\max} \text{ mezcla} / q_{\max} \text{ cafeína}$ resulta que la capacidad de adsorción disminuye cuando se encuentra en contacto con otros fármacos (Girish, 2017). De lo anterior se obtuvo que a mayor valor de $q_{\max}$ de la mezcla se verá favorecida la adsorción de cada fármaco.

Otro punto por destacar es el parametro “n”, que al ser menor a 1 corrobora que la superficie del material es heterogénea, es decir, que a bajas concentraciones la adsorción es mejor y más rápida, pero a medida que esta aumenta, la adsorción es más lenta, ya que existe menor disponibilidad de espacios en el carbón activado (Álvarez, 2014).

Los grupos funcionales aromáticos presentes en el naproxeno y la carbamazepina (anillos bencénicos y tricíclicos), le otorgan la alta hidrofobicidad que poseen estas moléculas, por lo que al repelerse con el agua tienden a adherirse de forma más fácil y rápida al carbón activado. Cabe destacar que el ibuprofeno también tiene leves características hidrófobas, sin embargo, al presentar menor capacidad de absorción, se asocia a la estructura de la molécula, la cual presenta cadenas unidas a los carbonos, dificultando el acceso a los poros pequeños.

En el caso del paracetamol, quien no presenta comportamiento hidrófobo por lo que es desplazado por las moléculas de naproxeno y carbamazepina, es el que posee la molécula de menor tamaño, 151,16 g/mol, y una estructura compacta, por lo que se va a adherir mejor a sitios activos más pequeños (Álvarez, 2014). Cabe destacar el naproxeno y carbamazepina, que son quienes mejor absorción presentan por las características de su molécula, son de los cinco fármacos, los que presentan el mayor tamaño de partícula con 230,26 g/mol y 236,27 g/mol respectivamente, obtenidos a través del peso molecular.

5.3 Remoción de contaminantes emergentes en mezcla ECAF.

Se realizó también un estudio de isoterma a las 72 h utilizando carbón activado funcionalizado, con la diferencia que, además, este contenía en el 20% de los sitios activos enzima Lacasa, encargada de degradar fármacos y así liberar espacios disponibles para nueva adsorción. Con la finalidad de estudiar el comportamiento de la mezcla de fármacos en contacto con la enzima, se estudiaron nuevamente los tres modelos de isoterma.

A continuación, se presenta la Tabla 8 con los parámetros obtenidos, considerando que cada ajuste se realizó utilizando los datos en triplicado de la capacidad de adsorción en el equilibrio q_e mg/g y la concentración de cada fármaco C_e mg/L.

Tabla 8: Parámetros de ajuste modelos isoterma multicomponente ECAF 72 h.

Modelo	Parámetro	Fármaco					
		Mezcla	IBU	NPX	PAR	CFN	CBZ
Langmuir Extendido	q_{max} , mg/g	62,42	-	-	-	-	-
	$K_{EL,i}$, L/mg	-	0,04	0,061	0,19	0,057	0,073
	R^2	0,72	-	-	-	-	-
Langmuir Modificado	$q_{m,i}$, mg/g	-	23,069	43,55	37,63	3289,08	45,61
	$K_{L,i}$, L/mg	-	0,15	0,15	0,54	0,0021	0,18
	R^2	0,64	-	-	-	-	-
Langmuir Freundlich	q_{max} , mg/g	111,69	-	-	-	-	-
	$K_{LF,i}$, L/mg	-	0,010	0,051	0,077	0,063	0,60
	n_i	-	0,88	0,37	0,52	0,34	0,42
	R^2	0,88	-	-	-	-	-

Si bien, los tres modelos presentan buenos ajustes, el que mejor se ajusta a los datos experimentales es el de Langmuir-Freundlich, lo cual significa que el comportamiento heterogéneo del sistema al inicio y el comportamiento homogéneo al final de la operación con ECAF es el mismo que utilizando solo CAF.

La Figura 9 presenta un gráfico para cada fármaco y así poder observar de forma más clara el ajuste individual del modelo seleccionado.

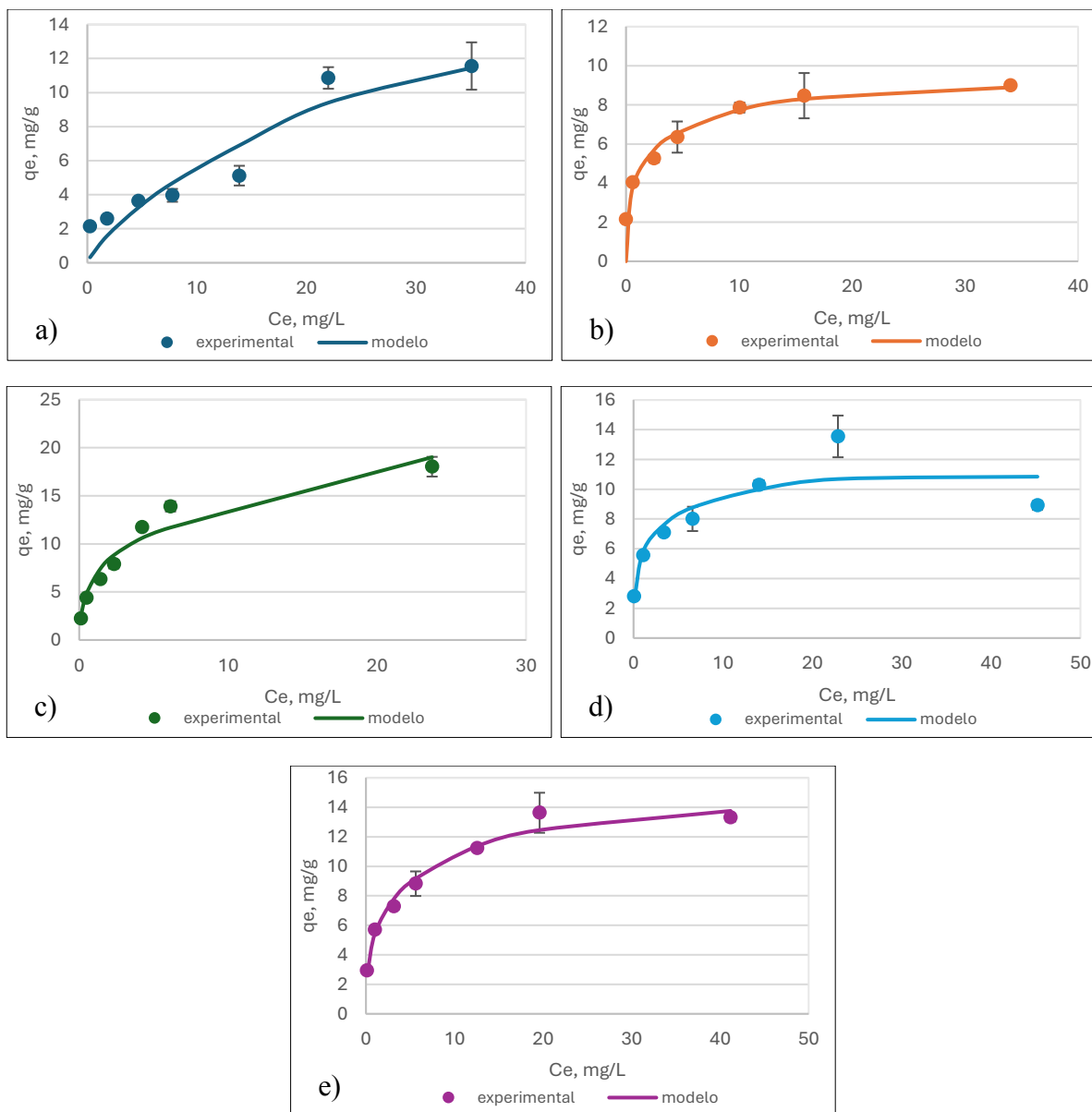


Figura 9: gráficos de ajuste individual del modelo de isoterma Langmuir-Freundlich ECAF 72 h donde, a) ibuprofeno, b) naproxeno, c) paracetamol, d) cafeína y e) carbamazepina.

Analizando el resultado de los parámetros del modelo, se ve como la capacidad máxima de adsorción de la mezcla es 111,69 mg/g, lo que corresponde a un 57% menos que el CAF. A raíz de lo mencionado anteriormente, si disminuye el $q_{\max}$, la capacidad de adsorción de los fármacos se ve desfavorecida (Girish, 2017).

Se predice que a las 72 h la enzima aún no comienza a degradar, ya que la disminución en el $q_{\max}$ se asocia a que la cantidad de sitios activos disponibles disminuye al estar presente la enzima Lacasa en ellos mientras esta aún no libera espacios para adsorber nuevas moléculas.

Otro punto por considerar es que tanto el ibuprofeno como el paracetamol no alcanzó el equilibrio para estos fármacos a altas concentraciones, ya que estas no presentan comportamiento constante, por lo que el material adsorbente aún puede seguir adsorbiendo fármacos. Sin embargo, es posible que los sitios activos del ECAF estén saturados con enzima, por tanto, no se pueden seguir adsorbiendo más moléculas.

5.4 Comparación de remoción ECAF 72h vs ECAF 360 h

Considerando que a las 72 h la enzima no comienza aun su proceso de degradación, se realizó un análisis hasta las 360 h de operación para así observar el comportamiento de la enzima, y verificar si esta logró degradar moléculas y liberar nuevos sitios activos, presentado en la Figura 10.

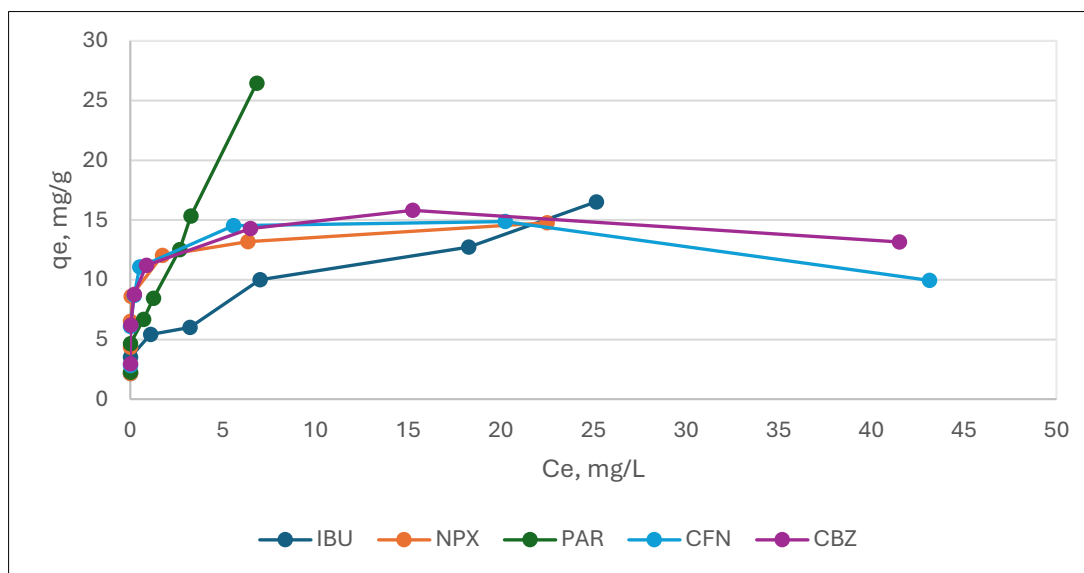


Figura 10: Isoterma mezcla pentacomponente adsorbida en ECAF a 360 h.

Se observa como el Naproxeno, la Cafeína y la Carbamazepina llegaron a su punto de saturación a diferencia del Paracetamol e Ibuprofeno. Esto se debe a que la enzima Lacasa tiende a adherirse a las moléculas con anillos aromáticos. Considerando que los 5 fármacos poseen aromáticos en su estructura, la Carbamazepina, el Naproxeno y la Cafeína son quienes presentan estructuras moleculares más complejas, por lo que probablemente se degraden antes que los demás. Al comparar estos resultados con la literatura, se observa como existe evidencia que estos fármacos si son degradados por la enzima Lacasa (Torres et al, 2023).

Es por esto que, al degradarse primero los 3 fármacos mencionados, da espacio para que el paracetamol y el ibuprofeno sigan adsorbiéndose. No obstante, el ibuprofeno presenta una adsorción menor al paracetamol. La razón por la cual ocurre este fenómeno se desconoce en este estudio, ya que según sus características físico-químicas, la adsorción de ambos en este caso debería ser similar (Ep, 2013)

El único modelo que logró ajustar los datos experimentales correctamente fue el de Langmuir-Freundlich, lo que significa que el comportamiento de los fármacos con el ECAF no varía en el tiempo, ya que para la mezcla con CAF también se ajustó el mismo modelo. Los parámetros se presentan en la Tabla 9.

Tabla 9: Parámetros de ajuste modelo isoterma multicomponente Langmuir-Freundlich ECAF 360 h.

Modelo	Parámetro	Fármaco					
		Mezcla	IBU	NPX	PAR	CFN	CBZ
Langmuir	$q_{\max}$, mg/g	244,84	-	-	-	-	-
	$K_{LF,i}$, L/mg	-	0,013	0,058	0,034	0,056	0,055
Freundlich	n_i	-	0,64	0,15	0,82	0,095	0,14
	R^2	0,74	-	-	-	-	-

El valor de $q_{\max}$ corresponde a 244,84 mg/g lo que puede ser un indicio de que la enzima logró degradar nuevos sitios activos, ya que la capacidad máxima adsorción después de 360 h aumentó en un 96% con respecto al $q_{\max}$ utilizando CAF, resultando un valor similar al de adsorción sin la enzima cuyo valor es 254,7 mg/g.

A continuación, se presenta gráficamente en la Figura 11 la diferencia entre la capacidad máxima de adsorción del carbón activado funcionalizado con y sin enzima Lacasa a las 72 h y 360 h de operación.

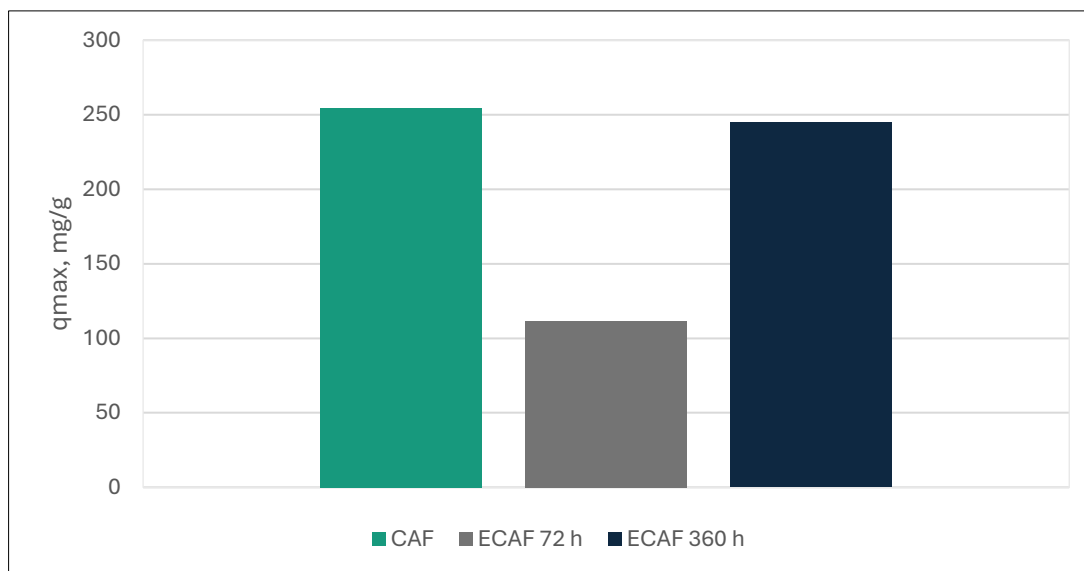


Figura 11: comparación entre la capacidad máxima de adsorción del carbón activado funcionalizado con y sin enzima Lacasa a las 72 y 360 h de operación.

El uso de la enzima Lacasa es de gran importancia, ya que permite que los sitios disponibles del carbón activado no se saturan, y así no sea necesario cambiar el material adsorbente luego de 72 h (Torres et al., 2023). Es por esto que, al obtenerse valores similares de $q_{\max}$, confirma que la adsorción con enzima Lacasa es igual de eficiente que solo con CAF, pero con el beneficio de que el material adsorbente presenta mayor vida útil.

Con la finalidad de analizar el comportamiento de la concentración de los fármacos durante las 360 h en concentraciones bajas y altas, la Figura 12 y 13 presentan como ejemplo un gráfico de C_e vs tiempo a 50 mg/L y 300 mg/L.

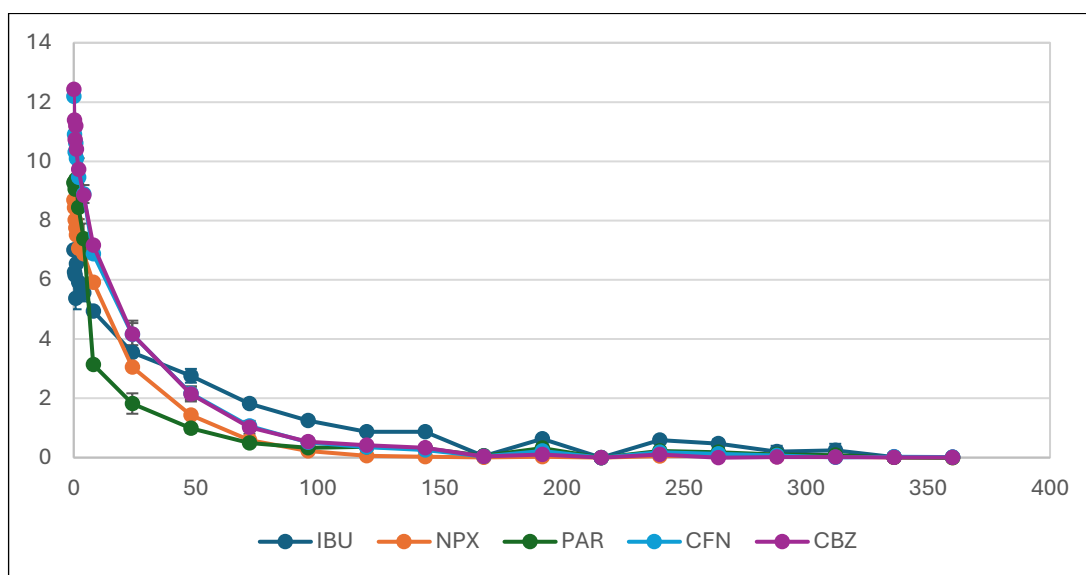


Figura 12: gráfico tiempo vs C_e a una concentración inicial de 50 mg/L hasta 360 h.

A 50 mg/L se observa como todos los fármacos se adsorbieron prácticamente por completo y por igual. Sin embargo, se ven pequeños “peaks”, lo cual se asocia a que existe desorción de algunas moléculas del fármaco.

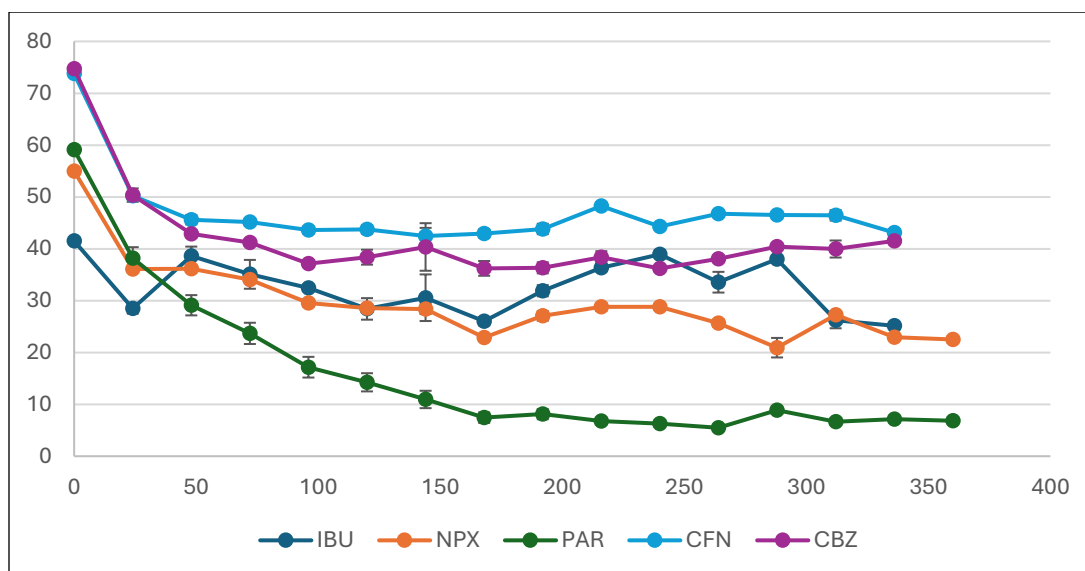


Figura 13: gráfico tiempo vs C_e a una concentración inicial de 300 mg/L hasta 360 h.

Cuando la concentración de la solución aumenta, se observa una clara desorción por parte de todos los fármacos menos del paracetamol, el cual se degrada hasta el final del proceso. Esto permite deducir que existe desorción cuando la enzima comienza a degradar, donde tiene preferencia en fármacos como el paracetamol, naproxeno e ibuprofeno, mientras que la cafeína y la carbamazepina detienen su adsorción luego de las 72 h, presentado un comportamiento de equilibrio.

5.5 Cinéticas de adsorción

En primera instancia, se presenta el ajuste de modelos de cinética cuando la cafeína se encuentra en una solución monocomponente utilizando CAF.

Tabla 10: Parámetros de ajuste modelos cinéticos sistema monocomponente CAF.

Modelo	Parámetro	Concentración, mg/L			
		25	50	100	200
Pseudo primer orden	q_e , mg/g	23,34	44,40	78,31	111,73
	k_1	0,18	0,16	0,14	0,16
	R^2	0,98	0,93	0,94	0,91
Pseudo segundo orden	q_e , mg/g	25,76	49,77	88,66	125,72
	k_2	0,0086	0,0036	0,0019	0,0015
	R^2	0,99	0,95	0,96	0,94

Donde se observa a partir del coeficiente de determinación que el modelo de Pseudo segundo orden es el que mejor se ajusta a los datos experimentales, lo cual es validado a partir de otros estudios cinéticos de cafeína (Bachmann et al, 2020). Además, se presenta gráficamente el ajuste de ambos modelos en la Figura 14.

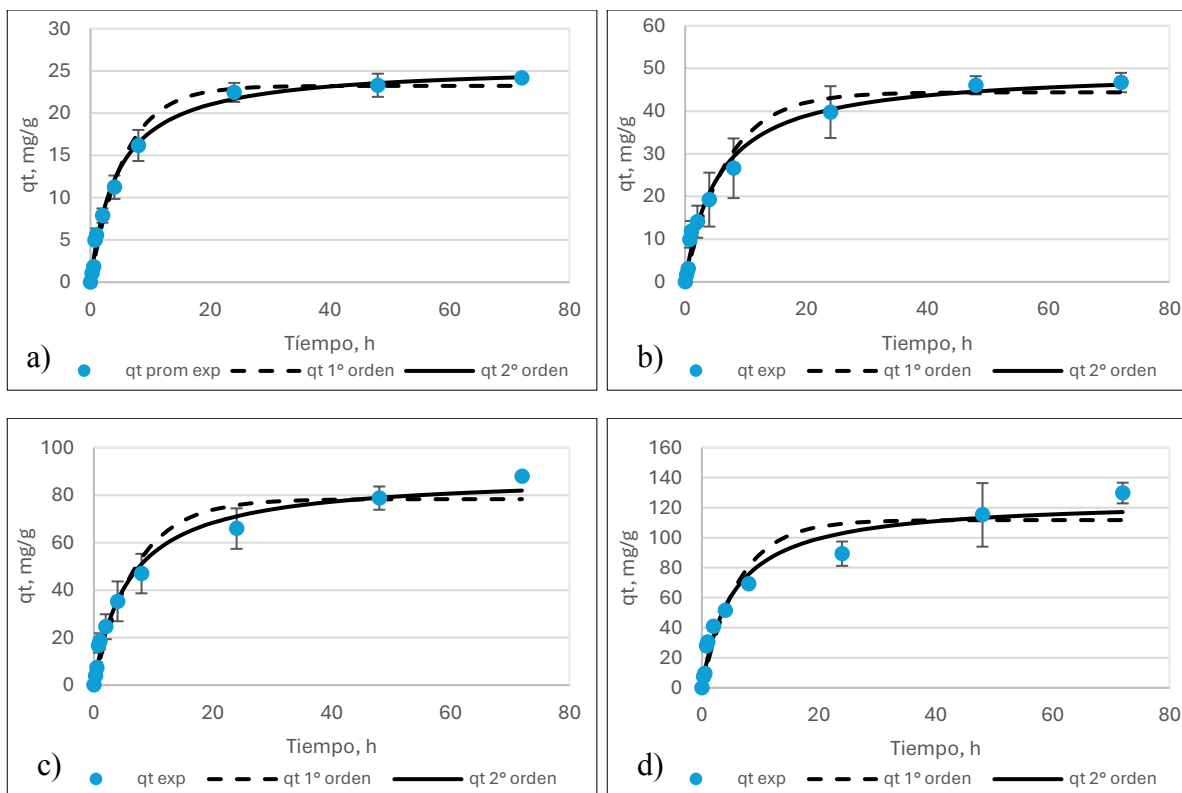


Figura 14: gráfica de modelos de ajuste cinético para, a) 25 mg/L, b) 50 mg/L, c) 100 mg/L y d) 200 mg/L.

Que el modelo de Pseudo segundo orden proporcione un mejor ajuste permite analizar el comportamiento del fármaco desde que se pone en contacto con el CAF hasta el final del proceso. A partir de esto, obtiene que la velocidad de adsorción dependerá de la cantidad de sitios activos disponibles y como estos son llenados por diversas moléculas. Mencionado lo anterior, se infiere que, para mejorar la velocidad y el tiempo de adsorción, y hay que aumentar la cantidad de adsorbente o bien, los sitios activos disponibles para capturar nuevas moléculas. Luego, se realizó un análisis segmentado para una concentración de Cafeína de 50 mg/L cuando esta se encuentra: en una solución monocomponente utilizando CAF, cuando se encuentra en una solución pentacomponente en contacto con 4 fármacos utilizando CAF y cuando se encuentra en una solución pentacomponente en contacto con 4 fármacos utilizando ECAF. Esto con la finalidad de evaluar la velocidad de adsorción en diferentes escenarios.

En primera instancia, se realizó un análisis visual de cinética graficando t vs q_t , y así observar la tendencia de los datos en los 3 experimentos, presentado a continuación en la Figura 15.

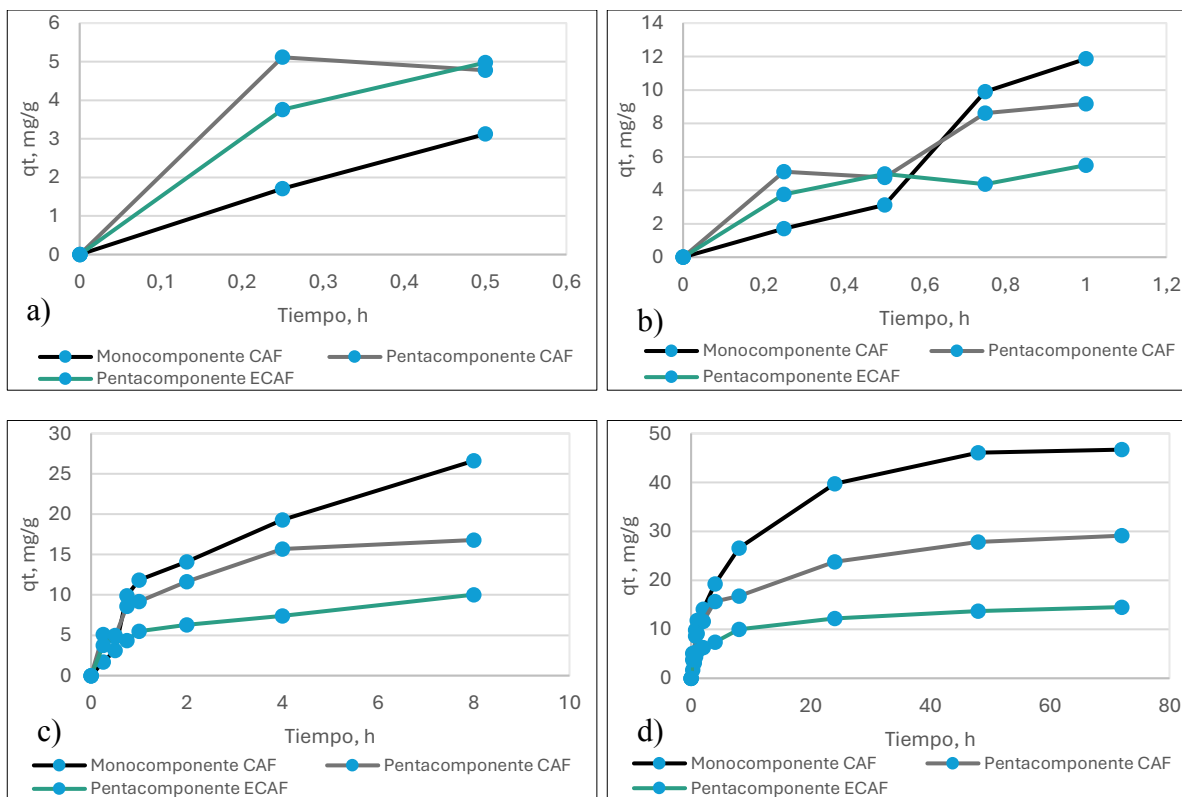


Figura 15: gráficos de análisis segmentado de cinética q_t vs t para concentraciones de 50 mg/L, donde a) 0,5 h, b) 1 h, c) 8 h y d) 72 h.

Se observa como durante los primeros 30 min de del proceso, la velocidad de adsorción de la solución monocomponente es la menor, pero luego de los 45 min, ésta cambia su tendencia y se eleva considerablemente, no obstante, demora más en llegar al equilibrio que los otros 2 experimentos. La velocidad de la adsorción con CAF y ECAF en el sistema pentacomponente es mayor que la del sistema monocomponente durante los primeros 30 min de operación, para después llegar rápidamente al equilibrio, siendo menor la cantidad adsorbida durante las 72 h del sistema con ECAF. Cabe destacar que, de este análisis se infieren resultados coherentes, no es del todo preciso, por lo que es necesario cuantificar las diferencias entre los sistemas.

A raíz de lo mencionado, se utilizó la ecuación 11 correspondiente a la cinética de pseudo segundo orden linealizada, Anexo E con la finalidad de obtener la velocidad de adsorción durante el proceso, la cual corresponde al despeje k_2 del intercepto de la ecuación. Se obtuvieron los siguientes resultados presentados en la Tabla 11.

Tabla 11: parámetros ajuste modelo de pseudo segundo orden de 3 sistemas estudiados para concentraciones de 50 mg/L.

Tiempo, h	Solución	k_2 g/mgh	q_e , mg/g	R^2
0,5	Mono CAF	4,64	3,12	0,81
	Penta CAF	39,82	4,77	0,99
	Penta ECAF	7,48	4,98	0,97
1	Mono CAF	0,021	25,51	0,06
	Penta CAF	1,88	5,33	0,78
	Penta ECAF	0,033	53,47	0,96
8	Mono CAF	0,01	35,21	0,73
	Penta CAF	0,068	18,31	0,98
	Penta ECAF	0,13	10,23	0,96
24	Mono CAF	0,0052	45,66	0,93
	Penta CAF	0,024	24,69	0,98
	Penta ECAF	0,062	12,58	0,98
72	Mono CAF	0,047	14,62	0,99
	Penta CAF	0,012	29,59	0,99
	Penta ECAF	0,0055	35,21	0,99

Para cada tiempo, se obtuvo la pendiente, correspondiente a q_e , y el intercepto el cual corresponde al k_2 . A partir de estos parámetros es posible estimar la velocidad de adsorción para cada caso. Es por ello que, se seleccionó el experimento con mayor k_2 , ya que es quien representa la velocidad de adsorción en el sistema. Se obtuvo que, a los 30 min y 1 h de operación la mayor velocidad de adsorción es para la solución pentacomponente CAF con un k_2 de 39,82 y 1,88 respectivamente. A las 8 y 24 h quien presenta mayor velocidad de adsorción es la solución pentacomponente ECAF con un k_2 de 0,13 y 0,062 respectivamente. Finalmente, a las 72 h de operación, el cual corresponde al tiempo de equilibrio, la mayor velocidad es de la solución monocomponente con un k_2 de 0,047, considerando que, en ese tiempo, se adsorbe considerablemente más cafeína que en los otros 2 sistemas.

6 CONCLUSIONES

Los fármacos cuando se encuentran en contacto en una mezcla multicomponente a concentraciones traza no interaccionan de forma significativa.

La remoción de cafeína disminuye cuando esta se encuentra en contacto con los otros 4 fármacos, ya que estos competirán por los sitios disponibles del carbón activado. Cabe destacar que, la isoterma de la mezcla se ajustó al modelo de Langmuir-Freundlich, definida por el valor de $q_{\max}$ correspondiente a 257,7 mg/g. en CAF. En cuanto al sistema multicomponente con ECAF, también se ajustó al modelo de Langmuir-Freundlich, donde se obtuvieron dos valores de $q_{\max}$, uno a las 72 h, el que corresponde a 111,69 mg/g, y un $q_{\max}$ a las 360 h, resultando un valor de 244,84 mg/g. Esto permite inferir que la Lacasa logra degradar moléculas y liberar espacios.

Finalmente, se obtuvo que el modelo de pseudo segundo orden se ajusta correctamente a los valores experimentales. Esto indica que la velocidad de adsorción de la cafeína depende de la cantidad de sitios disponibles que posee el adsorbente. La velocidad de adsorción en los 3 sistemas cambia a lo largo del tiempo de operación.

Se concluye que la cafeína logra ser removida tanto por el CAF como el ECAF, lo cual indica que el carbón activado es un buen material adsorbente para la cafeína. Sin embargo, la capacidad de remoción dependerá del sistema en que se encuentre esta. Para sistemas monocomponentes, se presentaron valores de q_e mayores, mientras que para sistemas multicomponentes la remoción de cafeína disminuirá considerando que competirá por sitios activos con los demás fármacos.

7 REFERENCIAS

- Almeida-Naranjo, C. E., Aldás, M. B., Cabrera, G., & Guerrero, V. H. (2021). Caffeine removal from synthetic wastewater using magnetic fruit peel composites: Material characterization, isotherm and kinetic studies. *Environmental Challenges*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100343>
- Álvarez, S., Directores, T., Luis, J., Sancho, S., & García Rodríguez, J. (2014). *UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID*.
- Amaringo, F. (2015). *Estudio de la adsorción de una mezcla binaria de colorantes de interés industrial sobre cascarilla de arroz*.
- Bachmann, S. A. L., Calvete, T., & Féris, L. A. (2020). Caffeine removal from aqueous media by adsorption: An overview of adsorbents evolution and the kinetic, equilibrium and thermodynamic studies. *ScienceDirect*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144229>
- Baeza, E. (16 de Noviembre de 2016). *Biblioteca del Congreso Nacional de Chile*. <https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/23747/2/Calidad%20del%20Agua%20Final.pdf>
- Banco Bilbao Vizcaya Argentaria S.A. (14 de Diciembre de 2024). *La contaminación del agua: descubre las causas y consecuencias*. <https://www.bbva.com/es/sostenibilidad/la-contaminacion-del-agua-descubre-las-causas-y-consecuencias/>
- Blair, J., Contreras-Villacura, E., Carvajal, A., & Palma, C. (2021). Oxytetracycline removal by biological/chemical activated mesoporous carbon . *ScienceDirect*, 1387-1811. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2021.111384>
- Borsarelli, D. C. (s.f.). *FaYA - UNSE*. <http://faa.unse.edu.ar/apuntes/fcoqca/Un7FQ1.pdf>
- Calzadilla, W. (2022). Contaminantes emergentes en matrices ambientales acuáticas. Desarrollo de metodologías para el análisis químico y determinación de su prevalencia. <https://repositorio.udec.cl/server/api/core/bitstreams/30fe1eb9-27cc-404d-ac37-b507f9c47fa5/content>
- Chavarría, M. (2016). Determinación de la cinética de degradación de oxitetraciclina mediante trametes versicolor con extracto de tomate.
- Colpas C., F., Tarón D., A., & González C., R. (2017). Área superficial de carbones activados y modificados obtenidos del recurso agrícola *Saccharum officinarum*. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 34(2). <https://doi.org/10.22267/rcia.173402.72>
- Comisión Nacional de Riego, Ministerio de Agricultura. (s.f.). *Yo cuido el agua*. <https://www.cnr.gob.cl/temas-transversales/calidad-de-aguas/>

- Costa, C. S. D., Queiroz, B. G. M., Landers, R., da Silva, M. G. C., & Vieira, M. G. A. (2019). Equilibrium study of binary mixture biosorption of Cr(III) and Zn(II) by dealginated seaweed waste: investigation of adsorption mechanisms using X-ray photoelectron spectroscopy analysis. *Environ Sci Pollut Res* 26, 28470–28480. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2880-7>
- Donoso & Rivera. (2020). *Desafío del Reúso de Aguas Residuales Tratadas en Chile*. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Ep, R. (2013). *Removal of water pollutants by adsorption on activated carbon prepared from olive-waste cakes and by biological treatment using ligninolytic fungi*. Universidad Autonoma de Barcelona.
- Falade, A. O., Mabinya, L. V., Okoh, A. I., & Nwodo, U. U . (2018). Ligninolytic enzymes: Versatile biocatalysts for the elimination of endocrine-disrupting chemicals in wastewater. *MicrobiologyOpen*, Vol. 7, Issue 6. <https://doi.org/10.1002/mbo3.722>
- Geankoplis, C. (1998). *Procesos de transporte y operaciones unitarias, 3era edición*.
- Girish, C. (2017). Various isotherm models for multicomponent adsorption: A review. *International Journal of Civil Engineering and Technology*, 80-86.
- Gómez, E. B. (16 de Noviembre de 2016). *Calidad del Agua*. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile. <https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/23747/2/Calidad%20del%20Agua%20Final.pdf>
- Henriquez, D. (2012). *Presencia de contaminantes emergentes en aguas y su impacto en el ecosistema. Estudio de caso: Productos farmacéuticos en la cuenca del río Biobio, región del Biobio, Chile*.
- Lepoivre, E., Augé, S., Nunzi, F., Cluzeau, P., & Chapel, J.-P (2024). Generalized Beer-Lambert law for evaluating the absorption of heterogeneous sunscreen films. *ChemRxiv*. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2024-072wd>
- Li, S., He, B., Wang, J., Liu, J., & Hu, X. (2019). Risks of caffeine residues in the environment: Necessity for a targeted ecopharmacovigilance program. *ScienceDirect*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125343>
- Lozano, R., Alvarez García, Y., Barral Tafalla, D., & Farré Albaladejo, M. (2007). Cafeína: un nutriente, un fármaco, o una droga de abuso. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 225-238. <https://doi.org/10.20882/adicciones.303>
- Madrigal, A. (1 de Marzo de 2007). *Repositorio UAAAN*. Diseño de filtro de Carbón Activado. <http://repositorio.uaan.mx/xmlui/handle/123456789/42543>

- Melliti, A., Touihri, M., Kofroňová, J., Hannachi, C., Sellaoui, L., Bonilla-Petriciolet, A., & Vurm, R. (2024). Sustainable removal of caffeine and acetaminophen from water using biomass waste-derived activated carbon: Synthesis, characterization, and modelling. *ScienceDirect*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141787>
- Metcalf & Eddy. (1991). *Ingeniería de aguas residuales Volumen 1*. Madrid: McGraw-Hill.
- Mezcua, M. (2004). *Análisis de contaminantes emergentes en aguas superficiales ambientales y residuales urbanas*. Almería: Universidad de Almería.
- Ministerio del Medio Ambiente. (2019). *Informe del estado del medioambiente. Capítulo 5*. Gobierno de Chile.
- Ministerio Secretaría General de la Presidencia. (7 de marzo de 2001). *Decreto 90*. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile. <https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=182637>
- Moussa, Ousmaila Sanda Mamane, Issa Habou, Maman Mousbahou Malam Alma, & Ibrahim Natatou. (2022). Determination of the surfaces functions and of the pH at the point of zero charges of powdered activated carbons produced from the shells of the nucleus of *Balanites aegyptiaca* and *Zizyphus mauritiana*. *World Journal of Advances Research and Reviews*. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2022.16.3.1437>
- Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura [UNESCO]. (2021). *The United Nations World Water Development Report 2021: Valuing Water*.
- Organización Mundial de la Salud & ONU-HABITAT. (2018). *Progresos en el tratamiento y el uso de las aguas residual de manera adecuada*.
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (17 de mayo de 2024). *Agua para consumo humano*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
- Oropesa et al. (2017). Lesiones histopatológicas en peces originadas por la exposición a contaminantes emergentes: recopilando y analizando datos. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 99-108.
- Quadra, G. R., Paranaíba, J. R., Vilas-Boas, J., Roland, F., Amado, A. M., Barros, N., Dias, R. J. P., & Cardoso, S. J. (2020). A global trend of caffeine consumption over time and related-environmental impacts. *Environmental Pollution*. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113343>
- Ramírez & Rivera. (2017). Cafeína como contaminante ambiental. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 136-142.
- Ramos, G. (2023). *Biodegradación mediante hongos contaminantes emergentes: retardantes de llama y antibióticos*. https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2023/289330/Ramos_Giselle_TFM.pdf

- Rivas, C. F., Núñez, O., Longoria, F., & Gonzalez, L. (2014). Isoterma de Langmuir y Freundlich como modelos para la adsorción de componentes de ácido nucleico sobre WO₃. *Saber*, 43-49.
- Rodríguez, C. F., Olivares, C. A., Ariadna, M., González, M., Ojeda González, R. J., Santana, O. D., Juan, J., Rodríguez, S., Susial, P., Miguel, J., & Rodríguez, D. (2015). Eliminación de microcontaminantes orgánicos mediante tratamientos avanzados para un uso potable indirecto de aguas regeneradas.
- Rodriguez, D. J., Serrano, H. A., Delgado, A., & Nolasco y Gustavo Saltiel, D. (2020). *De residuo a recurso*. <https://clmeplus.org/app/uploads/2020/04/146823ovSP.pdf>
- Ryder, G. (2017). *Informe mundial de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos, 2017: Aguas residuales: el recurso no explotado*. UNESCO.
- Sanjay K. S. Patel, Kalia, V. C., Choi, J.-H., Haw, J.-R., Kim, I.-W., & Lee, J. K. (2014). Immobilization of Laccase on SiO₂ Nanocarriers Improves Its Stability and Reusability. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 639-647. <https://doi.org/10.4014/jmb.1401.01025>
- Seolatto, A. A., Martins, T. D., Bergamasco, R., Tavares, C. R. G., Cossich, E. S., & Da Silva, E. A. (2014). Biosorption study of Ni²⁺ and Cr³⁺ by *Sargassum filipendula*: Kinetics and equilibrium. *Brazilian Journal of Chemical Engineering Vol. 31, N 01*, 211-227.
- Shahid, M. K., Kashif, A., Fuwad, A., & Choi, Y.(2021). Current advances in treatment technologies for removal of emerging contaminants from water – A critical review. *ScienceDirect*. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.213993>.
- Srivastava, V. C., Mall, I. D., & Mishra, I. M. (2007). Removal of cadmium(II) and zinc(II) metal ions from binary aqueous solution by rice husk ash. *ScienceDirect*, 172-184. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.06.048>
- Superintendencia de Servicio Sanitario. (2 de Noviembre de 2011). *Tratamiento de aguas servidas*. https://www.siss.gob.cl/586/articles-8006_recurso_12.pdf
- Superintendencia de Servicios Sanitarios. (17 de mayo de 2024). *Sistemas de Tratamiento de Aguas Servidas*. <https://www.siss.gob.cl/586/w3-article-4373.html>
- Torres, A., Rodríguez, H. A., & Ayala, M. (2023). Contaminantes emergentes en México: panorama actual, retos y una posible solución biotecnológica. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 26. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2023.590>
- Tubert & Talanquer. (1997). Sobre adsorción. En T. & Talanquer, *Educación química*, 8(4). Ciudad de México : Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México

- Universidad de Sevilla. (s.f.). Aguapedia. *Manual Del Carbón Activo*.
<http://www.elaguapotable.com/Manual%20del%20carb%C3%B3n%20activo.pdf>
- Wilkinson, J. L., Boxall, A. B. A., Kolpin, D. W., Leung, K. M. Y., Lai, R. W. S., Galbán-Malagón, C., Adell, A. D., Mondon, J., Metian, M., Marchant, R. A., Bouzas-Monroy, A., Cuni-Sanchez, A., Coors, A., Carriquiriborde, P., Rojo, M., Gordon, C., Cara, M., Moermond, M., Luarte, T., ... Teta, C. (2022). *Pharmaceutical pollution of the world's rivers*. Obtenido de PNAS Direct Submission: <https://www.pnas.org/doi/epdf/10.1073/pnas.2113947119>
- Zarazúa-Morín), M. E., Alfaro-Cruz , M. R., & Torres-Guerra, L. M. (10 de enero de 2024). *Medicamentos y sus consecuencias como contaminantes emergentes*. Obtenido de CienciaUANL: <https://cienciauanl.uanl.mx/ojs/index.php/revista/article/view/356>

ANEXOS

Anexo A

A continuación, se presentan las curvas de calibración de los 5 fármacos estudiados.

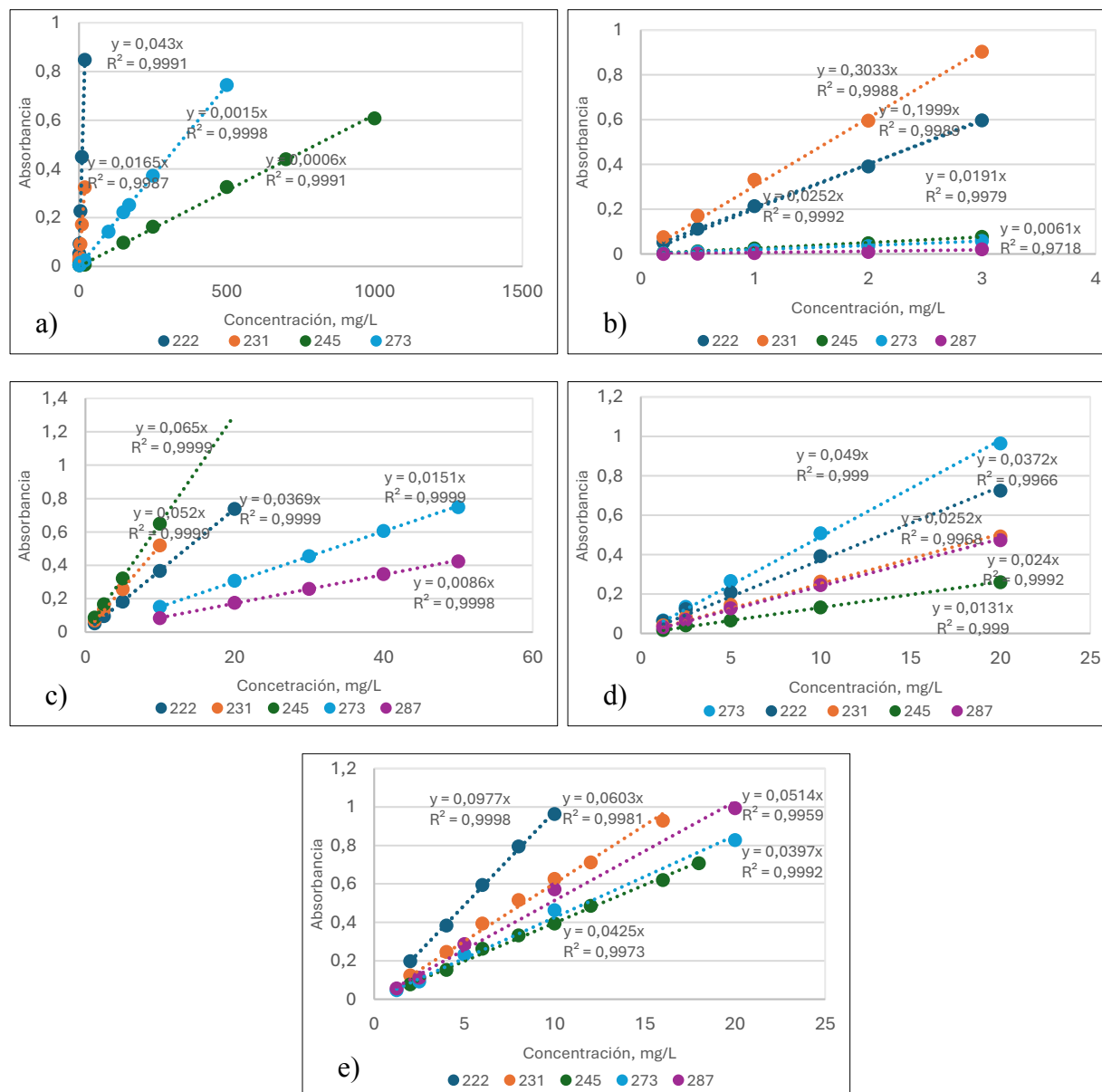


Figura 16: Curva de calibración de a) ibuprofeno, b) naproxeno, c) paracetamol, d) cafeína y e) carbamazepina.

Anexo B

Se presenta la Tabla x con los valores de cada concentración inicial utilizada para el estudio de isoterma utilizando CAF.

Tabla 12: Concentración inicial isoterma CAF.

C inicial mezcla, mg/L	C inicial individual teórica, mg/L
25	5
50	10
75	15
100	20
150	30
200	40
250	50
300	60
400	80

Anexo C

Se presenta en la Figura 17 el ajuste individual de cada fármaco entre la concentración teórica y concentración medida.

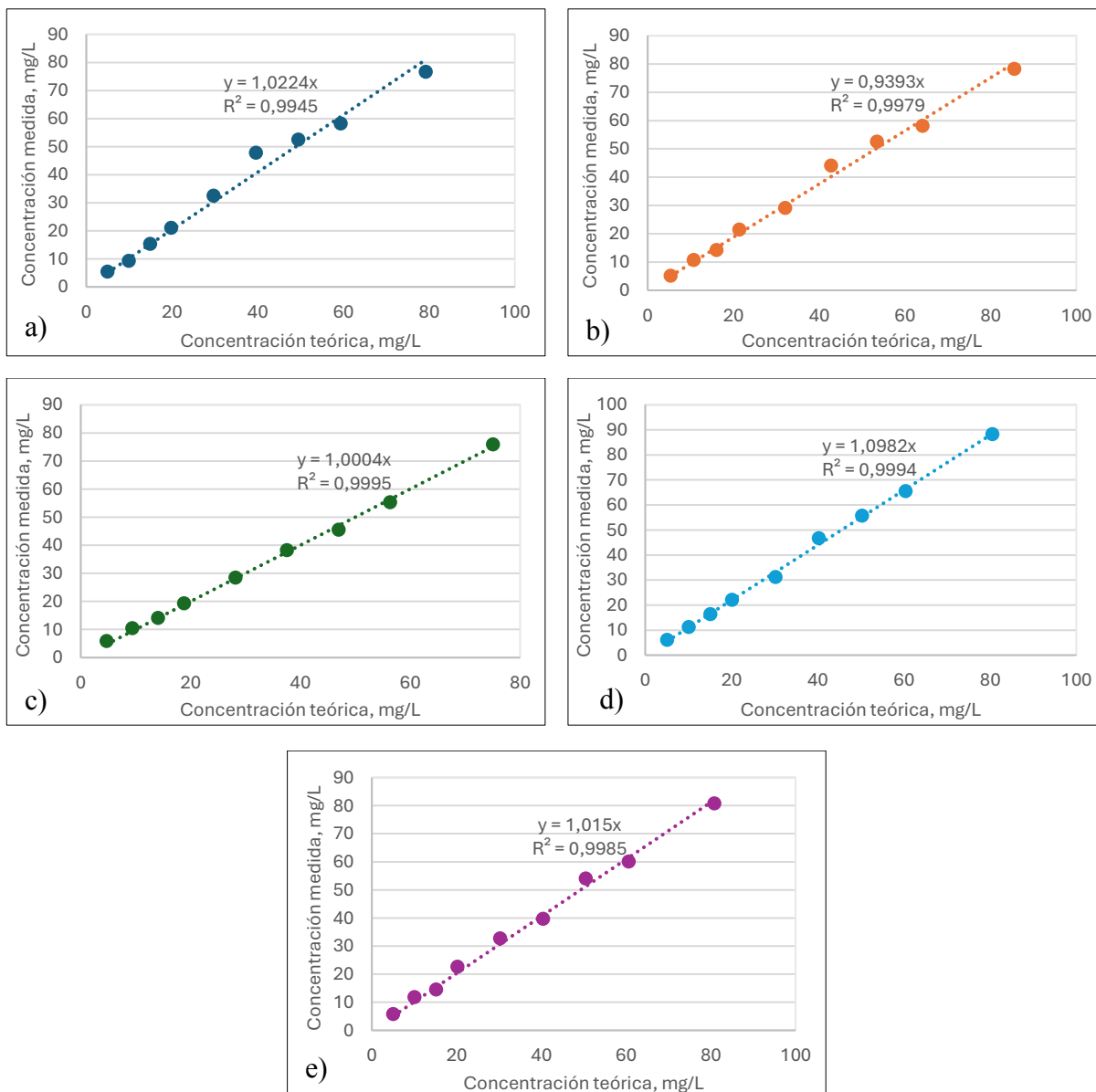


Figura 17: gráficos individuales de concentración teórica vs concentración medida donde a) ibuprofeno, b) naproxeno, c) paracetamol, d) cafeína y e) carbamazepina.

Anexo D

A continuación, se presenta gráficamente el modelo de Langmuir-Freundlich para el sistema multicomponente ECAF a las 360 h de operación.

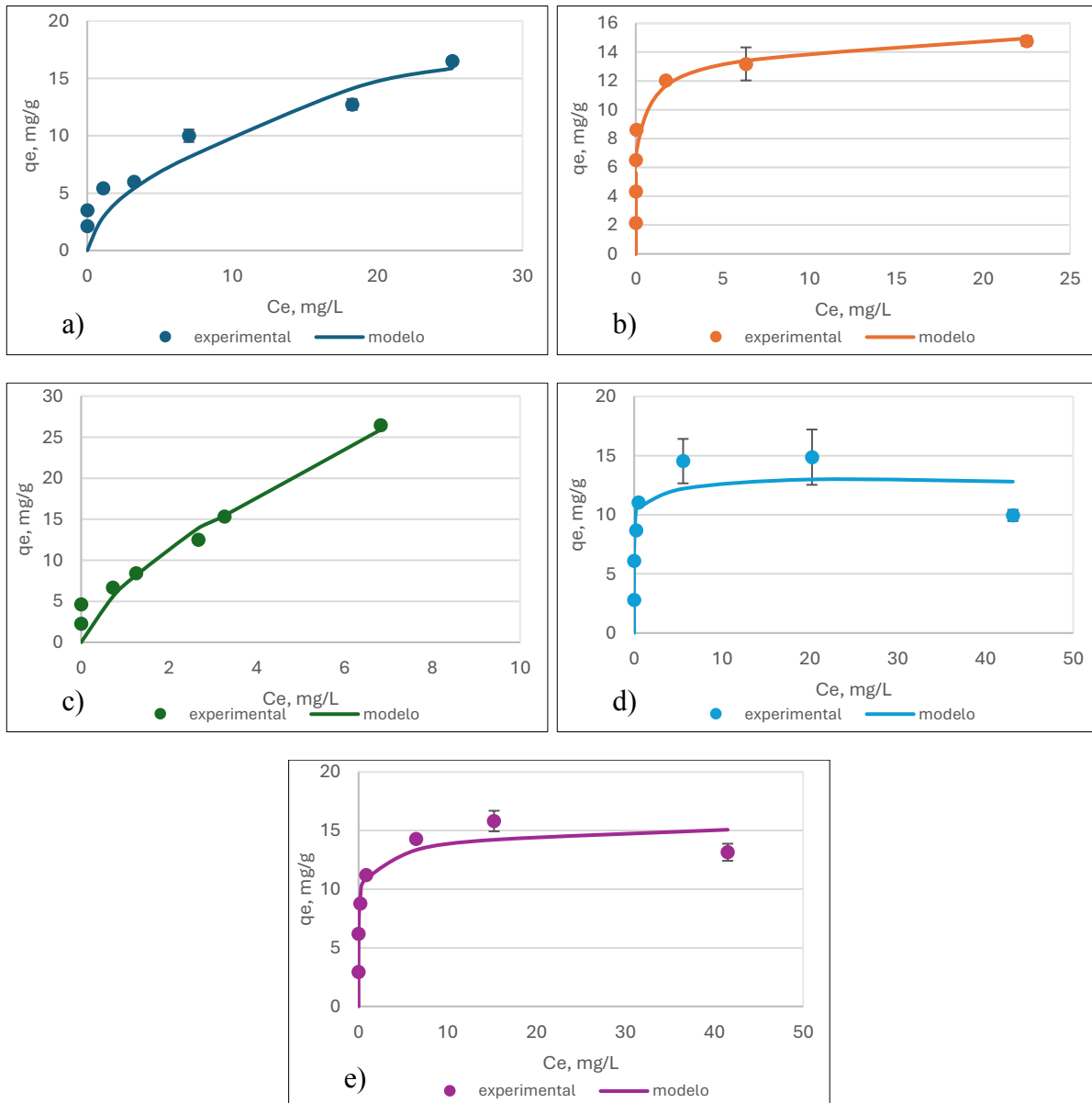


Figura 18: gráficos de ajuste individual del modelo de isoterma Langmuir-Freundlich ECAF 360 h donde, a) ibuprofeno, b) naproxeno, c) paracetamol, d) cafeína y e) carbamazepina.

Anexo E

Linealización gráfica a partir del modelo de Pseudo segundo orden, con la finalidad de obtener los parámetros q_e y k_2 del análisis segmentado.

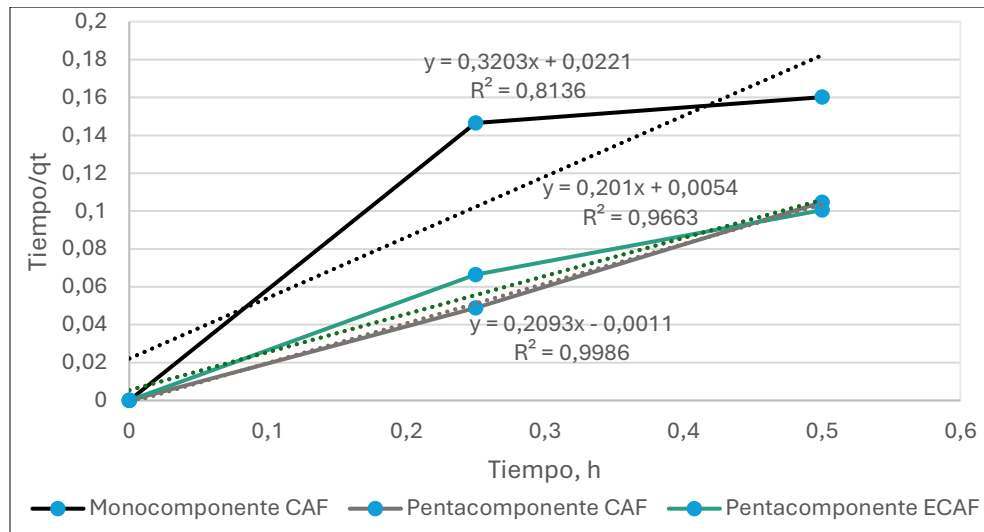


Figura 19: Linealización modelo pseudo segundo orden a los 30 min de operación.

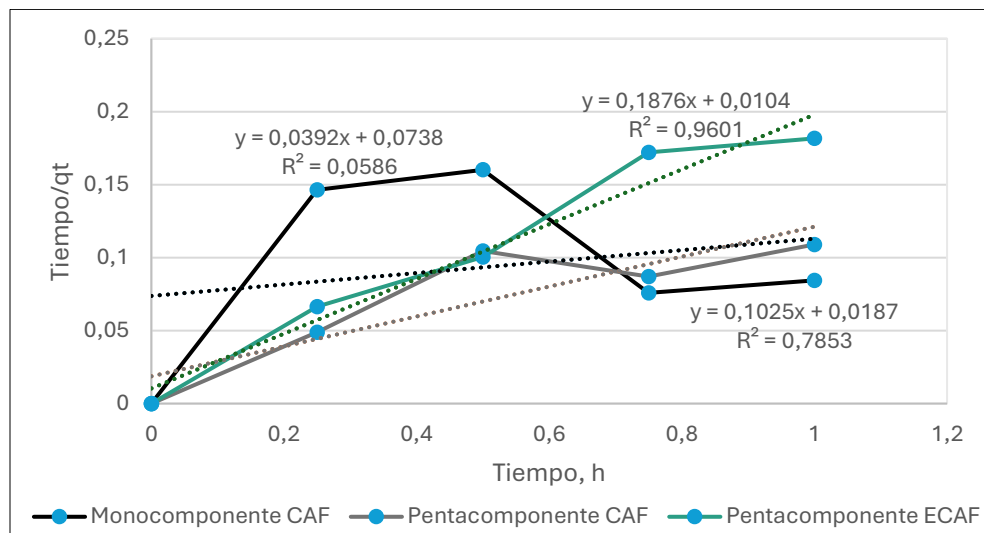


Figura 20: Linealización modelo pseudo segundo orden luego de 1 h de operación.

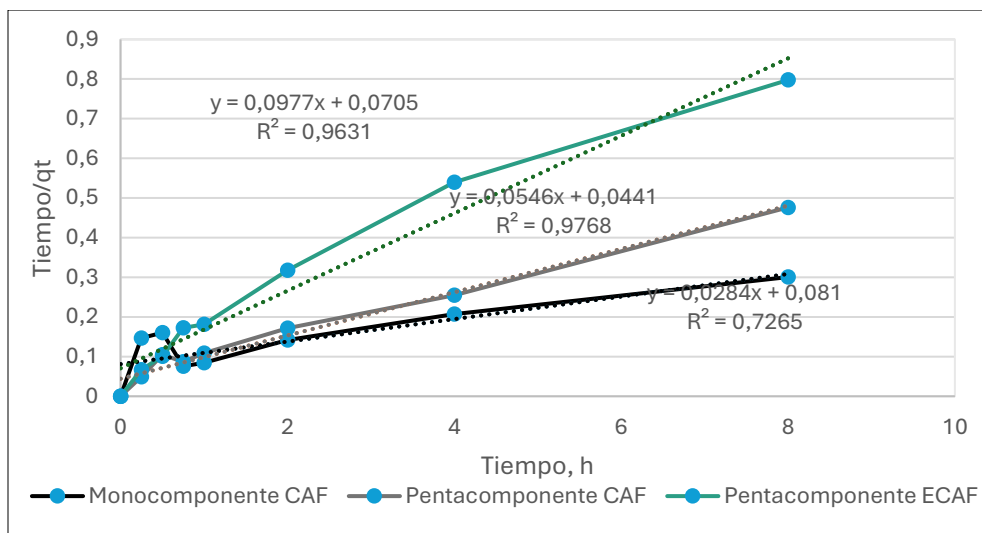


Figura 21: Linealización modelo pseudo segundo orden luego de 8 h de operación.

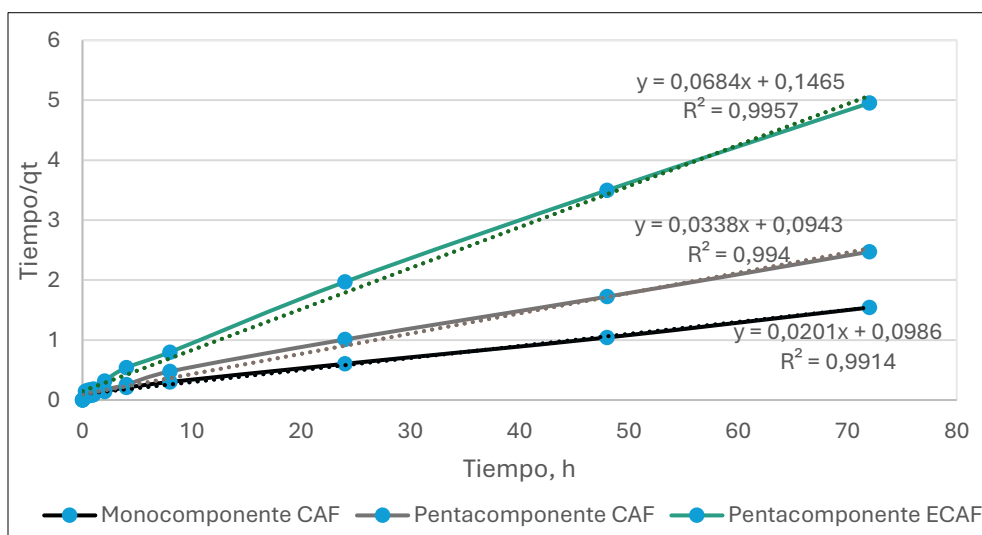


Figura 22: Linealización modelo pseudo segundo orden luego de 72 h de operación.