



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA

**INFLUENCIA DE TRES ANTIBIÓTICOS DE USO VETERINARIO EN LA REMOCIÓN
DE MACRO Y MICRO CONTAMINANTES DE AGUA RESIDUAL PORCÍCOLA**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN INGENIERÍA

PRESENTA:
NANCY ESTEFANIA NACIMBA LOACHAMIN

DIRECTOR DE TESIS:
DR. ULISES DURÁN HINOJOSA
INSTITUTO DE INGENIERÍA

COMITÉ TUTOR:
DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA, INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL
AGUA
DRA. ROCIO J. ALCÁNTARA HERNÁNDEZ, INSTITUTO DE GEOLOGÍA
DRA. LILIANA DELGADILLO MIRQUEZ, UNIVERSIDAD DE IBAGUÉ
DR. DANIEL DE LOS COBOS VASCONCELOS, INSTITUTO DE INGENIERÍA

CDMX, ENERO 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente	Dra. Petia Mijaylova Nacheva
Secretario:	Dr. Daniel de los Cobos Vasconcelos
Vocal:	Dra. Liliana Delgadillo Mirquez
1.er Suplente:	Dra. Rocio Alcántara Hernández
2.do Suplente:	Dr. Ulises Durán Hinojosa

Lugar donde se realizó la tesis:

Instituto de Ingeniería, UNAM.

TUTOR DE TESIS:

Dr. Ulises Durán Hinojosa

Esta investigación fue financiada con la beca de número CVU 928059 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). El trabajo de investigación fue financiado por el proyecto APN2016-2737 del Fondo Institucional (FONIS) para el desarrollo de proyectos de Desarrollo Científico para Atender Problemas Nacionales.

El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM que cuenta con certificado de conformidad otorgado por el organismo acreditado Certificación Mexicana, S.C., por haber implementado y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad de conformidad con los requisitos de la norma internacional ISO 9001:2015 No. de Certificado CMX C SGC 155 2017, válido en el período del 09 de noviembre de 2017 al 09 de noviembre de 2020.



Dedicatoria

A mis padres, Luis y Delia quienes con su amor y ejemplo me mostraron que con esfuerzo y voluntad puedo conseguir todas las metas que me proponga.

A mis hermanos, Andy y Milenka que son una parte fundamental en mi vida y me han enseñado a ver el mundo desde diferentes ángulos, con su alegría y bromas han llenado mi vida.

A mi hermana de corazón, Anita quién nunca me dejó sola pese a la distancia y que ha sido mi maestra de vida.

A mis tíos, primos y primas a quienes no nombro individualmente, ya que mi familia es extensa, pero siempre los llevo presente en mi mente y corazón. Solo les puedo decir que nuestros apellidos gustaron en México porque sonaban diferente, y de los cuales me siento muy orgullosa porque son el recuerdo de mi Amaguaña, de mis raíces.

A todas las mujeres que tengan el interés de estudiar ingeniería para lograr con esta profesión un cambio en sus comunidades.

Agradecimientos

A Dios por siempre bendecirme con en cada paso que he dado.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, al Instituto Mexicano del Tecnología del Agua y al Instituto de Ingeniería por la formación académica y de alta calidad recibida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

Al Dr. Ulises Durán Hinojosa por su paciencia, tiempo, dedicación y guía constante en el desarrollo de este proyecto de investigación.

A la Dra. Petia Mijaylova por su apoyo en la realización de este trabajo, así como sus palabras de motivación, a la Dra. Rocio Alcántara por sus aportes a aumentar mi conocimiento tanto en clases como fuera de ellas y a la Dra. Liliana Delgadillo por considerar este trabajo y apoyar su desarrollo.

Al Grupo de Investigación de Procesos anaerobios (GIPA), en especial al Dr. Adalberto Noyola, Dr. Juan Morgan y Dr. Daniel de los Cobos por el apoyo recibido y las dudas solventadas.

A la Mtra. Margarita Cisneros por su constante apoyo y organización tanto en el cubículo como en el laboratorio a la cual estoy muy agradecida por todas las veces que les dio solución a los inconvenientes a los que me enfrentaba.

Al Laboratorio de Ingeniería ambiental, en especial a las maestras Diana, Denise, Soledad y Tonantzin, a La Dra. Susana Saval y al Ing. Roberto Briones por todo el apoyo recibido tanto en las capacitaciones como en los ensayos de laboratorio su experiencia y experticia fue de gran ayuda para el desarrollo de este proyecto.

A la familia Sandoval-Rodríguez, por considerarme parte de su familia y hacer de mi estadía en Ciudad de México una experiencia inolvidable.

A las grandes amistades que cultive en el IMTA, Ciudad Universitaria, Talleres libres de danza e Instituto de Ingeniería y de las cuales siempre he recibido apoyo y cariño. Me llevo un pedazo de Yucatán, Tabasco, Tamaulipas, CDMX, Oaxaca, Puebla, Chiapas, Morelos, Sonora, Sinaloa, Estado de México, Veracruz, Colombia, Perú, Belice y Cuba en el corazón.

A mis los grandes amigos y amigas que aún conservo de la Escuela Politécnica Nacional, Colegio Técnico Humanístico Experimental Quito, que pese a la distancia siempre estuvieron preocupados por mí y me enviaron siempre sus mejores deseos, grupo excepcional de amigos y compañeros. A las familias de mis amigos quienes siempre han tendido en su casa un lugar para mí. Finalmente, a la familia que construimos los ecuatorianos en México, nos une un sueño y el apoyo constante.

Abstract

The present work evaluates the influence of veterinary antibiotics in the removal of macro and micropollutants from swine wastewater in the potential components of a two phases reactor: i) anaerobic biomass and ii) granular activated carbon. Assays such as specific methanogenic activity (SMA) and biodegradability (BD) were done with acclimated and non-acclimated biomass, using two tetracyclines (tetracycline and oxytetracycline) and a macrolide (tylosin). The removal kinetic models and antibiotic removal rates were also calculated. Sorption assays were done with the granular activated carbon. The doses here used were 0, 15, 30, and 45 µg/L for the SMA and BD assays; while for the sorption assay, the doses were 15, 60, and 100 µg/L. Also, a mixture of the three antibiotics was applied at quantities previously mentioned.

The assays showed that tetracyclines cause inhibitions on methane production when the biomass is without acclimatization, while tylosin inhibits the activity in acclimatized biomass at doses > 30 µg/L. Furthermore, antibiotics mixed had an inhibitory effect similar to that observed to its individually. Hence, it is important citing that inhibitory effects of two tetracyclines and a macrolide were observed in batch assays despite the acclimatization from anaerobic biomass to swine wastewater, showing that micropollutants can affect the treatment of wastewater from pork industry. Moreover, sorption assays showed that granular activated carbon at room temperature is the best sorbent, when the wastewater has pH values close to neutrality (6 and 8). These conditions are import for swine wastewater treatment in a reactor of two phases because only the first phase (anaerobic) need to operate at 37 °C. Consequently, it is recommended that wastewater at the activated carbon module is maintained at room temperature.

The results obtained suggest that a reactor ensembled with these two phases is capable of removing macropollutants such as medium organic matter (as total organic carbon) in the anaerobic phase without significant inhibitory effects by the antibiotics when the biomass is acclimatized. However, a there may be a limited methane production when antibiotics are mixed at swine wastewater the maximum methane production decreasing between 7.9 and 13.5%.

Finally, in the phase with granular activated carbon at room temperature these antibiotics can be removed.

Resumen

El presente trabajo de investigación evalúa la influencia de antibióticos de uso veterinario en la remoción de macro y microcontaminantes en agua residual porcícola en las etapas potenciales de un reactor las cuales son: i) biomasa anaerobia y ii) carbón activado granular. Los ensayos realizados fueron actividad metanogénica específica (AME), biodegradabilidad (BD) con biomasa aclimatada y no aclimatada utilizando dos tetraciclinas (tetraciclina y oxitetraciclina) y, un macrólido (tilosina). También se determinaron los modelos cinéticos de remoción y los porcentajes de eliminación de antibióticos. Los ensayos de sorción se realizaron con carbón activado granular. Las dosis utilizadas fueron 0,15, 30 y 45 $\mu\text{g/L}$ para los ensayos AME y BD y, para los ensayos de sorción fueron 15, 60 y 100 $\mu\text{g/L}$. Además, se aplicó una mezcla de los tres antibióticos las dosis previamente mencionadas.

Los ensayos mostraron que, las tetraciclinas causan inhibición en la producción de metano cuando la biomasa no tiene aclimatación mientras que la tilosina inhibe la actividad en biomasa aclimatada a dosis $> 30 \mu\text{g/L}$. Además, los antibióticos mezclados tuvieron un efecto inhibitorio similar al observado en su individualmente. Por lo tanto, es importante mencionar que se observaron efectos inhibitorios de dos tetraciclinas y un macrólido en los ensayos en lote a pesar de la aclimatación de la biomasa anaerobia a agua residual porcícola, lo que muestra que los microcontaminantes pueden afectar el tratamiento del agua residual de la industria porcina. Por otro lado, los ensayos de sorción muestran que el carbón activado granular a temperatura ambiente (20°C) es el mejor sorbente, cuando el pH del agua residual se mantenga en un rango cercano a la neutralidad (6 y 8). Estas condiciones son importantes para el tratamiento de agua residual porcícola en un reactor de dos etapas porque solo la primera etapa, la anaerobia, necesita operar a 37°C . Consecuentemente, se recomienda que el agua residual porcícola en el módulo con carbón activado se mantenga a temperatura ambiente.

Los resultados muestran que un reactor acoplado por dos etapas es capaz de remover macrocontaminantes (materia orgánica medida como carbono orgánico total) en la fase anaerobia sin efectos inhibitorios significativos causados por los antibióticos cuando la biomasa esta aclimatada. Sin embargo, puede haber una producción limitada de metano cuando los antibióticos se encuentran mezclados en el agua residual porcícola disminuyendo entre el 7.9 y 13.5 % la producción máxima de metano.

Finalmente, en la etapa con carbón activado granular a temperatura ambiente se logra la remoción de estos antibióticos.

Índice

Abstract	vi
Resumen	vii
Índice	viii
Lista de tablas	x
Lista de figuras	xi
CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO	1
1.1 INTRODUCCIÓN	1
1.1.1 Actividad porcícola	1
1.1.2 Aguas residuales porcícolas	2
1.1.3 Antibióticos de uso veterinario	4
1.1.4 Antibióticos el agua residual porcícola	6
1.1.5 Tetraciclinas	9
1.1.6 Tilosina	10
1.1.7 Digestión anaerobia	11
1.1.8 Factores que afectan la digestión anaerobia	12
1.1.9 Ventajas del tratamiento anaerobia del agua residual porcícola	14
1.2 ANTECEDENTES	14
CAPÍTULO 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
2.1 PROBLEMÁTICA	16
2.2 JUSTIFICACIÓN	17
2.3 OBJETIVOS	17
2.3.1 Objetivo general	17
2.3.2 Objetivos Particulares	18
2.4 HIPÓTESIS	18
CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1 METODOLOGÍA	19
3.2 CARACTERÍSTICAS DEL AGUA RESIDUAL	19
3.3 CARACTERÍSTICAS DE LA BIOMASA	20
3.4 PREPARACIÓN DE ANTIBIÓTICOS	20
3.5 ACTIVIDAD METANOGÉNICA ESPECÍFICA	21
3.5.1 Descripción de la prueba AME	21
3.6 BIODEGRADABILIDAD	22
3.7 SORCIÓN	23
3.7.1 Descripción de las pruebas de sorción	24
3.7.2 Cinéticas de sorción	25
3.7.1.1 <i>Pseudo-primer orden</i>	25
3.7.1.2 <i>Pseudo-segundo orden</i>	25
3.7.1.3 <i>Elovich</i>	25
3.7.1.4 <i>Difusión Intraparticular</i>	26
3.7.3 Isotermas de sorción	26
3.7.2.1 Langmuir	26
3.7.2.2 <i>Freundlich</i>	27
3.8 MÉTODOS DE ANALÍTICOS	27

3.8.1	Determinación de cinéticas de reacción	27
3.8.2	Cuantificación de biogás	29
3.8.3	Determinación de carbono orgánico total	29
3.8.4	Cuantificación de antibióticos	30
3.8.5	Determinación de parámetros cinéticos e isothermas de sorción	31
3.8.6	Determinación de la concentración inhibitoria teórica.	31
3.8.7	Análisis estadísticos	31
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		33
4.1	EFFECTO DE LOS ANTIBIÓTICOS EN UN CONSORCIO ANAEROBIO	33
4.1.1	Biomasa sin aclimatación	33
4.1.2	Biomasa aclimatada	42
4.1.3	Análisis cinético de la inhibición de los antibióticos	48
4.1.4	Análisis de componentes principales	49
4.2	SORCIÓN DE ANTIBIÓTICOS	50
4.2.1	Biomasa inactiva	50
4.2.2	Carbón activado granular	56
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		64
REFERENCIAS		66
ANEXOS		75

Lista de tablas

Tabla 1. Clasificación de las granjas porcícolas.	1
Tabla 2. Características del agua residual porcícola en México según el tipo de granja.	3
Tabla 3. Características fisicoquímicas de oxitetraciclina y tetraciclina.	10
Tabla 4. Características fisicoquímicas de la tilosina.	11
Tabla 5. Características fisicoquímicas del agua residual porcícola.	20
Tabla 6. Preparación de dosis de OTC, TCN y TYL a partir de una solución de 10 mg/L.	21
Tabla 7. Composición del medio mineral utilizado en las pruebas AME.	22
Tabla 8. Descripción de los parámetros experimentales para las pruebas de sorción.	24
Tabla 9. Modelos linealizados de las cinéticas de sorción	26
Tabla 10. Modelos linealizados de Isotermas de sorción	27
Tabla 11. Descripción de las curvas de calibración para CT y CI.	30
Tabla 12. Valores de actividad metanogénica específica y biodegradabilidad utilizando distintos sustratos.	37
Tabla 13. Porcentaje de inhibición en la producción máxima de metano en biomasa anaerobia sin aclimatación a ARP.	41
Tabla 14. Valores de actividad metanogénica específica y biodegradabilidad utilizando distintos sustratos.	44
Tabla 15. Porcentaje de inhibición en la producción máxima de metano en biomasa anaerobia con aclimatación a ARP.	47
Tabla 16. Correlaciones existen entre el consumo de carbono y la producción de máxima de metano.	48
Tabla 17. Dosis para inhibición del 50 % de la actividad metanogénica y biodegradabilidad de cada antibiótico.	48
Tabla 18. Dosis para inhibición teórica del 50 % de la actividad metanogénica y biodegradabilidad de cada antibiótico.	49
Tabla 19 Modelos cinéticos para OTC en biomasa anaerobia inactiva.	52
Tabla 20. Modelos cinéticos para TCN en biomasa anaerobia inactiva.	53
Tabla 21. Modelos cinéticos para TYL en biomasa.	54
Tabla 22. Valores de remoción de antibióticos en biomasa inactiva.	55
Tabla 23. Remoción de antibióticos en mezcla en biomasa anaerobia inactiva.	56
Tabla 24. Modelos cinéticos para OTC en carbón activado granular.	57
Tabla 25. Modelos cinéticos para TCN en carbón activado	58
Tabla 26. Modelos cinéticos para TYL en carbón activado	60
Tabla 27. Remoción de antibióticos en carbón activado granular.	62
Tabla 28. Remoción de antibióticos en mezcla en carbón activado granular.	63

Lista de figuras

Figura 1. Usos potenciales de los antibióticos en la cría de animales.	4
Figura 2. Formas de acción de los antibióticos en bacterias	6
Figura 3. Rutas de exposición de los antibióticos de uso veterinario en el medioambiente	7
Figura 4. Proceso de digestión anaerobia.	12
Figura 5. Planteamiento metodológico.	19
Figura 6. Descripción de los antibióticos utilizados en las pruebas para conocer el efecto inhibitorio en la producción de metano.	21
Figura 7. Descripción de la biomasa utilizada en los ensayos de BD y AME.	23
Figura 8. Descripción de las pruebas de sorción.	24
Figura 9. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC, TCN, TYL y MIX usando como sustrato glucosa:	34
Figura 10. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC y TYL usando como sustrato H ₂ y CO ₂ .	34
Figura 11. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC, TCN, TYL y MIX usando como sustrato ácido acético.	35
Figura 12. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC, TCN, TYL y MIX usando como sustrato agua residual porcícola.	36
Figura 13. Porcentajes de inhibición de las actividades metanogénica resultantes de la aplicación de antibióticos de uso veterinario en biomasa anaerobia sin aclimatación a ARP con diferentes sustratos.	39
Figura 14. Remoción de COT (%) y producción de metano (mL) en biomasa sin aclimatación a ARP y expuesta a antibióticos.	40
Figura 15. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC, TCN, TYL y MIX usando como sustrato ácido acético en biomasa aclimatada.	42
Figura 16. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC, TCN, TYL y MIX usando como agua residual porcícola en biomasa aclimatada.	43
Figura 17. Porcentajes de inhibición de las actividades metanogénica resultantes de la aplicación de antibióticos de uso veterinario en biomasa anaerobia con aclimatación a ARP con diferentes sustratos.	45
Figura 18. Remoción de COT (%) y producción de metano (mL) en biomasa aclimatada a ARP y expuesta a antibióticos.	46
Figura 19. Análisis de componentes principales (ACP) de las cinéticas de actividad metanogénica acetoclástica (a) y biodegradabilidad (b) de biomasa anaerobia. El óvalo rosa engloba a los resultados de los ensayos con biomasa no aclimatada y el óvalo azul engloba los de biomasa aclimatada. Para este análisis se emplearon la dosis, la actividad metanogénica, la producción máxima de metano y la remoción de COT.	50
Figura 20. Capacidad de sorción de OTC en biomasa anaerobia inactiva.	51
Figura 21. Capacidad de sorción de TCN en biomasa anaerobia inactiva.	52

Figura 22. Capacidad de sorción de TYL en biomasa anaerobia inactiva.	54
Figura 23. Isotherma hallada para TCN en biomasa inactiva (Modelo de Freundlich).	55
Figura 24. Capacidad de sorción de OTC en carbón activado granular.	57
Figura 25. Capacidad de sorción de TCN en carbón activado granular	59
Figura 26. Capacidad de sorción de TYL en carbón activado granular	61
Figura 27. Isotherma hallada para TCN en carbón activado granular (Modelo de Freundlich)	62

CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

1.1 INTRODUCCIÓN

1.1.1 Actividad porcícola

La cría de cerdos ha mostrado un ritmo constantemente creciente en México desde la década de los años cuarenta que esta actividad empezó como de traspatio o rústica hasta los años setenta que se convirtió en una de las actividades más importantes en el país. En la actualidad se ha mostrado un incremento en la producción de carne en canal porcino del 6.7 % a finales del 2019 con respecto al 2018, representando alrededor del 45% del consumo nacional aparente. En 2019 el volumen de carne en canal porcino fue de 153 mil 803 toneladas, concentrando la producción en seis estados, Jalisco (20 %), Sonora (18 %), Puebla (12 %), Yucatán (9 %), Veracruz (9 %) y Guanajuato (8 %) (OCDE, 2019; SIAP, 2020).

Esta actividad ha ido en crecimiento, ya que el cerdo es un animal omnívoro, de fácil domesticación, alta fertilidad y rápido crecimiento. Los tipos de granja que se han instaurado en México se pueden observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de las granjas porcícolas.

Tipos de granja				
<i>Etapas de crecimiento</i>	Pie en cría	Productoras de lechones	Ciclo completo	Engorda
<i>Tamaño</i>	Pequeñas (<2500 puercos)	Medianas (2500 a 7999 puercos)	Grandes (≥ 8000 puercos)	
<i>Implementación de tecnología</i>	Tecnificada	Semi-tecnificada	Traspatio	

Fuente: (Escalante-Estrada y Garzón-Zuñiga, 2015; Garzón-Zuñiga y Buelna, 2014; SIAP, 2018)

Cabe mencionar que, el aumento de la demanda de carne conlleva un acelerado ritmo de producción. Este aumento ha desencadenado un impacto ambiental que se deriva principalmente del modelo de crianza de animales de granja el cual se basa en sistemas de alimentación ricos en granos (maíz, sorgo), pastas proteicas (soya, canola), subproductos agroindustriales como salvado de trigo, pulido de arroz, granos de cervecería húmedos, granos secos de destilería, melaza de caña, además de forrajes fibrosos henificados.) (OCDE, 2019). Así mismo, existe una concentración desproporcionada de animales en un área reducida, que es consecuencia de la tecnificación de esta actividad (Losada-Espinosa *et al.*, 2017). Finalmente, el inadecuado o incluso la ausencia de un plan del manejo de residuos y otras acciones hacen que las granjas porcinas sean altamente contaminantes para el agua, suelo y aire (Pérez, 2006).

A los impactos antes mencionados se suman el uso de antibióticos, hormonas y otros productos para promover el crecimiento acelerado de los animales y que

sirven como profilácticos y terapéuticos. Las enfermedades más comunes en los cerdos son las relacionadas con el sistema digestivo y respiratorio (Losada-Espinosa *et al.*, 2017); siendo la tilosina y las tetraciclinas (TCs) los fármacos aprobados para uso en porcinos (SAGARPA, 2016).

1.1.2 Aguas residuales porcícolas

En México se estima que una unidad de producción animal (UPA) con un peso de 100 kg genera aproximadamente de 17 a 63 litros diarios de agua residual porcícola (heces, orina, agua de lavado, etc.). Este volumen varía dependiendo de la etapa de crecimiento, el número de cerdos existentes y su peso, así como de la disponibilidad de agua y el tipo de tecnología utilizada para su ahorro, entre otros factores (Drucker *et al.*, 2004; Méndez Novelo *et al.*, 2009)

Estudios realizados previamente en el estado de Yucatán, donde la actividad porcícola es importante, estimaron que entre 17.9 % (datos generados según los porcentajes de tratamiento de la Comisión Nacional del agua (2006) y el 50.7 % (según la metodología de (Drucker *et al.*, 2004)) de las aguas residuales provenientes de esta actividad no son tratadas. Esta problemática se ha observado en otros estados, como en Michoacán donde de 33 granjas el 9.1 % no trataba el agua generada y las que contaban con tratamiento no se encontraban en buen estado (Pérez, 2001).

En 2019, se reportó que el 33.9 % de las aguas no municipales no se someten a ningún tratamiento (Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), 2019). Esto es un indicativo de que un porcentaje considerable de las aguas residuales porcícolas tampoco son tratadas y de que la problemática persiste.

El agua residual porcícola no tratada constituye una gran problemática para el medio ambiente ya que contienen altas concentraciones de materia orgánica, sólidos disueltos y en suspensión, turbidez, color y microorganismos patógenos (De Victorica-Almeida *et al.*, 2008). Estos contaminantes pueden llegar a generar una alta carga orgánica medida como Demanda Química de Oxígeno (DQO) similar incluso a la de una población 3,929,990 personas (considerando que el agua residual doméstica tenga una DQO de 500 mg/L y un flujo de 200 L/hab/d, y el efluente de agua residual porcícola sea 8,361.68 m³/d con una DQO de 392,999 kg/d) (Méndez Novelo *et al.*, 2009).

En la Tabla 2 se puede observar las características del agua residual porcícola en México según el tipo de granja y se puede observar que ésta presenta alta cantidad de materia orgánica, nutrientes y coliformes que pueden afectar significativamente si no son tratadas.

Tabla 2. Características del agua residual porcícola en México según el tipo de granja.

Tipo de granja	Parámetros					Referencia
	DBO ₅ (mg/L)	DQO (mg/L)	NTK (mg/L)	PT (mg/L)	CF (NMP/100 mL)	
Tecnificada	15,061	40,498	1,048 ^b	430	9.20E+10	(Escalante-Estrada y Garzón-Zuñiga, 2015)
Semi-tecnificada	5,500	32,621	881 ^b	19	3.30E+11	
Traspatio	590	900	-	-	8.80E+05	
Pequeña ^a	1,173-2,318	2,146-4,119	-	-	-	(De Victorica-Almeida <i>et al.</i> , 2008)
Pequeña	996-11,697	3,478 – 16,888	524-1,179	27.4-214	7.90E+05-1.50E08	(Garzón-Zúñiga y Buelna, 2014)
Mediana	1,657-9,613	3,339 – 38,544	405-2,033	28.6-180.1	1.10E+08-9.30E+08	
Grande	6,092-15,061	34,310 – 40,498	1,048-1,666	97.6-430.1	4.70E+07-1.60E+09	
Maternidad ^c	-	11,000-55,000	-	-	-	(Gonzalez-Tineo <i>et al.</i> , 2020)
Engorda	-	11,500	1,400	-	-	(Vázquez Borgues, 2002)
Engorda	995-9,613	3,478-35,497	524-2,033	27.4-180.1	1.00E+07-9.20E+08	(García-Sánchez, 2015)

NTK: Nitrógeno total Kjeldahl; PT: Fósforo total; CF: Coliformes fecales

a productora de lechones; b: valores de nitrógeno total; c: entra dentro de la clasificación de granja de ciclo completo.

Los efluentes tratados o sin tratamiento de las granjas porcícolas, generalmente son emitidos a terrenos agrícolas, a cuerpos receptores propiedad de la nación o al alcantarillado municipal (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo [CIAD], 2004; De La Mora-Orozco *et al.*, 2018; Méndez Novelo *et al.*, 2009; Pérez, 2001). Por otro lado, los sistemas lagunares anaerobios son los tratamientos que han sido generalmente usados (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo [CIAD], 2004). Sin embargo, las lagunas requieren de extensas áreas para su implementación y para que exista una degradación completa de la materia orgánica y de otros parámetros necesarios para cumplir con la NOM-001-ECOL-1996. Esta norma establece los límites máximos permisibles (LMP) de contaminantes en las descargas de aguas residuales a aguas y bienes de la nación. Así mismo, la NOM-002-ECOL-1996 que establece los LMP de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipio (SAGARPA, 2016).

Sin embargo, el hecho de tener estos sistemas de tratamiento no garantiza que se cumplan los LMP ya que se ha observado que con los sistemas de tratamiento que no operan bien no logran remover ni el 80 % de la carga orgánica (Pérez, 2001).

Otros sistemas que han funcionado con mayor eficiencia y con requerimientos de área menores son los digestores anaerobios de líquidos y sólidos. Estos reactores ofrecen una mayor degradación de la carga orgánica ya que se degrada tanto la fase líquida como de la sólida. Los reactores anaerobios de flujo ascendente también son considerados óptimos para la remoción de la carga orgánica. Resultando más eficaces los trenes que tratamiento que integren digestores anaerobios y reactores de flujo ascendente (Escalante-Estrada y Garzón-Zuñiga, 2015).

1.1.3 Antibióticos de uso veterinario

El uso de fármacos veterinarios o de uso animal pueden ser ingeridos, inyectados e incluso aplicados tópicamente. Estos son utilizados a niveles terapéuticos principalmente para tratar enfermedades y prevenir infecciones. Sin embargo, también se utilizan en dosis subterapéuticas para aumentar la eficiencia de la alimentación y promover el crecimiento en animales productores de alimentos, como los cerdos (Barceló *et al.*, 2012) (ver Figura 1).

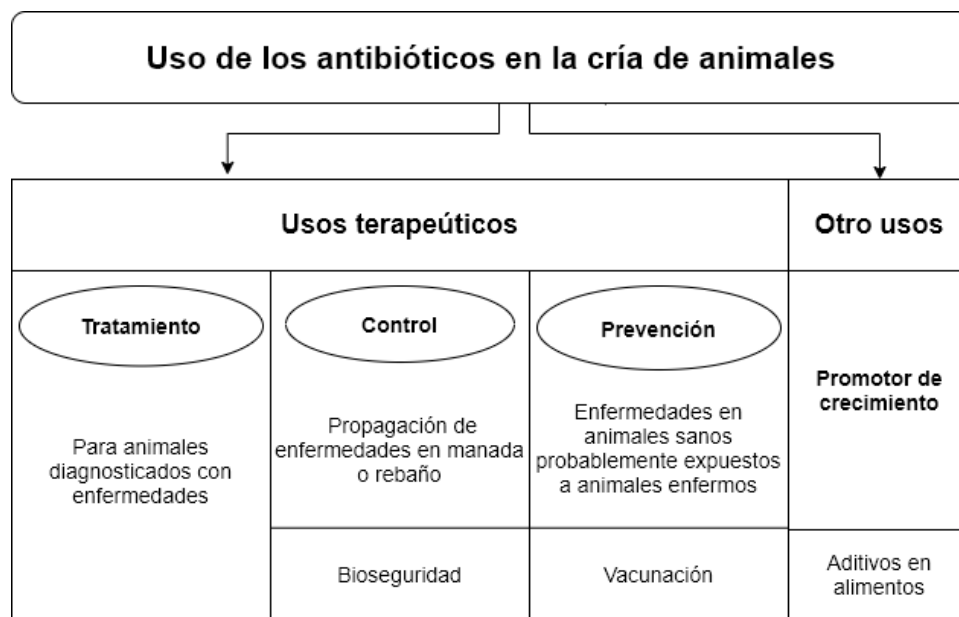


Figura 1. Usos potenciales de los antibióticos en la cría de animales.

Fuente:(Cheng, Ngo, Guo, Chang, Nguyen, Liu, Shan, *et al.*, 2020)

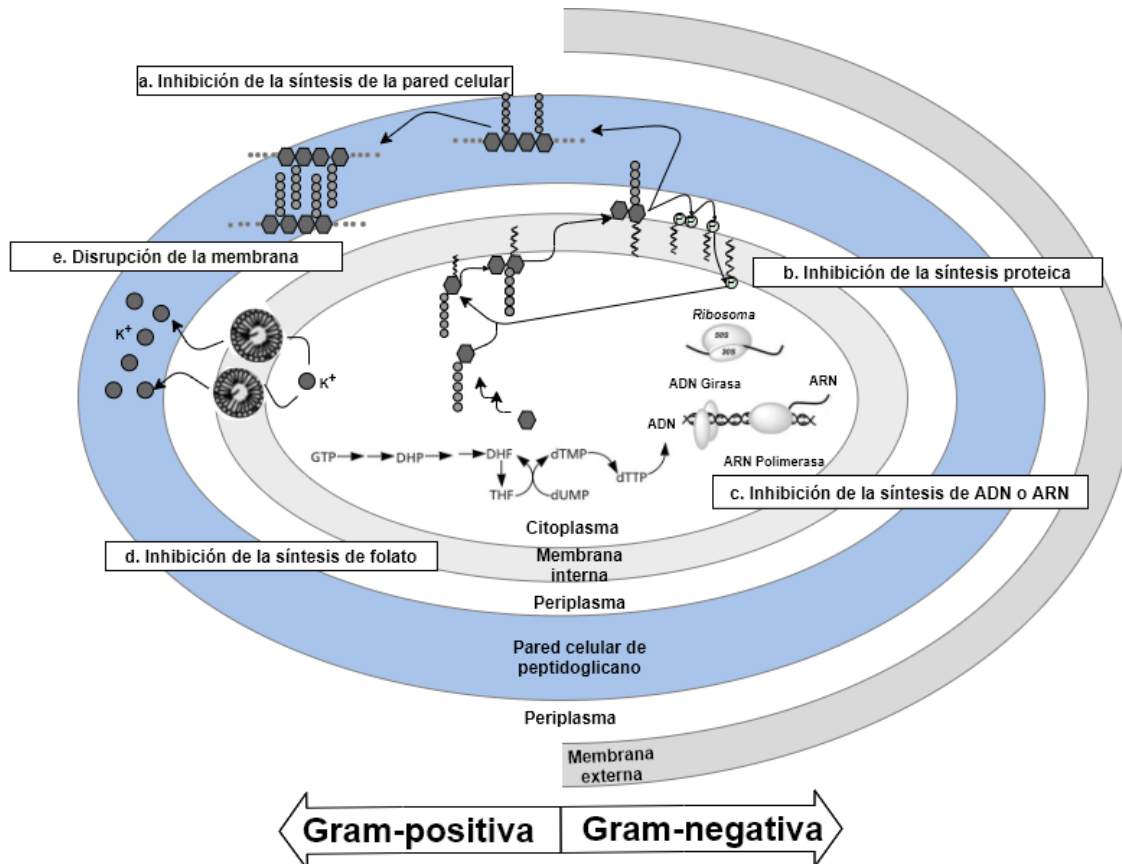
En la medicina veterinaria los antibióticos que se administran típicamente son las tetraciclinas, las sulfonamidas, los aminoglucósidos, los β-lactámicos y los macrólidos (Thiele-Bruhn, 2003; Walsh y Wencewicz, 2016). Sin embargo, en los alimentos para los cerdos los antibióticos más utilizados son las tetraciclinas y un

macrólido en particular, tilosina (Cheng, Ngo, Guo, Chang, Nguyen, Liu, Shan, *et al.*, 2020; Van Cuong *et al.*, 2016).

Los antibióticos o también llamados antimicrobianos producen acciones bacteriostáticas (detener el crecimiento de las bacterias) o bactericidas (provocar la muerte de bacterias). Estos pueden ser naturales o (semi) sintéticos, generados por varias especies de microorganismos. Generalmente, éstos son compuestos formados por moléculas grandes, complejas, polares y no polares con uno o más grupos ionizables lo que hace que su persistencia en el medioambiente sea elevada tanto en su forma original como en sus metabolitos.

Los mecanismos de acción de los antibióticos se observan en la Figura 2. Y se describen a continuación:

- a) **Inhibición de la síntesis de la pared celular:** la pared celular bacteriana es crucial para la resistencia de estos organismos a cambios de presión osmótica. Por lo que, algunos antibióticos como los β -lactámicos interfieren con los pasos de reticulación extracelular y debilitan la resistencia mecánica de la capa de peptidoglicano.
- b) **Inhibición de la síntesis proteica:** la generación de proteínas es necesaria pues, llevan a cabo diversas funciones en la célula (supervivencia, crecimiento y división). Por tanto, el bloqueo de la biosíntesis proteica puede conllevar a la muerte celular. Este proceso se puede lograr tanto en la subunidad ribosómica pequeña donde actúan antibióticos como las tetraciclinas o en la subunidad grande como lo hacen algunos macrólidos.
- c) **Inhibición de la síntesis de ADN o ARN:** la interferencia con la replicación del ADN o la transcripción del ADN en ARN también debe ser bactericida afectando la síntesis de estos ácidos nucleicos. Los modos de acción pueden ser desde obstruir la replicación del ADN llevada a cabo por la enzima ADN girasa (fluoroquinolonas) hasta bloquear la transcripción del ADN en ARN (rifamicina).
- d) **Inhibición de la síntesis de folato:** ésta se logra afectando la vía para construir y reciclar la forma de la enzima del ácido fólico vitamínico que sirve para la generación de dTMP, uno de los cuatro componentes básicos para la biosíntesis de ADN.
- e) **Disrupción de la membrana:** en las bacterias la membrana constituye barrera para evitar la salida incontrolada de iones y moléculas pequeñas dentro y fuera de las células. Es por eso que, el modo de acción de algunos antibióticos es alterar la integridad de la membrana.



GTP: trifosfato de guanosina; **DHP:** dihidropteroato; **DHF:** dihidrofolato; **THF:** tetrahidrofolato; **dTMP:** ácido timidílico; **dUMP:** ácido desoxiurílico; **dTTP:** trifosfato de deoxitimidina.

Figura 2. Formas de acción de los antibióticos en bacterias

Fuente:(Walsh y Wencewicz, 2016).

1.1.4 Antibióticos el agua residual porcícola

El agua residual porcícola cruda mantiene altas cantidades de sólidos que pueden interferir en su posterior tratamiento, motivo por el cual generalmente se instala un separador de sólidos gruesos al inicio de los sistemas de tratamiento. Sin embargo, los sólidos suspendidos totales (SST) pueden ser tratados en un reactor tipo UASB ya que mantienen un contacto íntimo con la biomasa, la cantidad de SST que pueden ser tratados en este tipo de reactores dependerá de las condiciones operativas del reactor (temperatura, tasa de carga orgánica, tiempo de retención hidráulico y velocidad de flujo ascendente). En general, el aumento del tiempo de retención hidráulico a contribuidos a la remoción eficiente de SST porque esto aumenta la retención de sólidos orgánicos (De Victorica-Almeida *et al.*, 2008; Del´Arco Ramires y Alves de Oliviera, 2014; Mahmoud *et al.*, 2003) .

Además, es importante mencionar que los desechos sólidos (estiércol y sólidos gruesos) son previamente separados antes de la limpieza de cada nave y son dispuestos en suelo agrícola o para la generación de biogás que posteriormente puede ser quemado o usado para la producción de energía. Esta última opción

es la más recomendable por generar menor impacto sobre la concentración de gases de efecto invernadero (Ramírez-Islas *et al.*, 2020).

Los desechos de la actividad porcícola no solo tienen altas cargas orgánicas, sino que también microcontaminantes, como lo son los antibióticos. Se estima que entre el 17 % al 76 % de los antibióticos administrados, pueden ser excretados en su forma química original o como metabolitos por vía urinaria y heces fecales (Kümmerer, 2009). Por tanto, los antibióticos de uso veterinario se han convertido en un contaminante de importancia pues, en la mayoría de los casos, éstos son emitidos por descarga directa, por los efluentes de las plantas de tratamiento, escorrentía e incluso lixiviación de las tierras de cultivo (contaminadas por desechos porcinos que contienen antibióticos) (ver Figura 3).

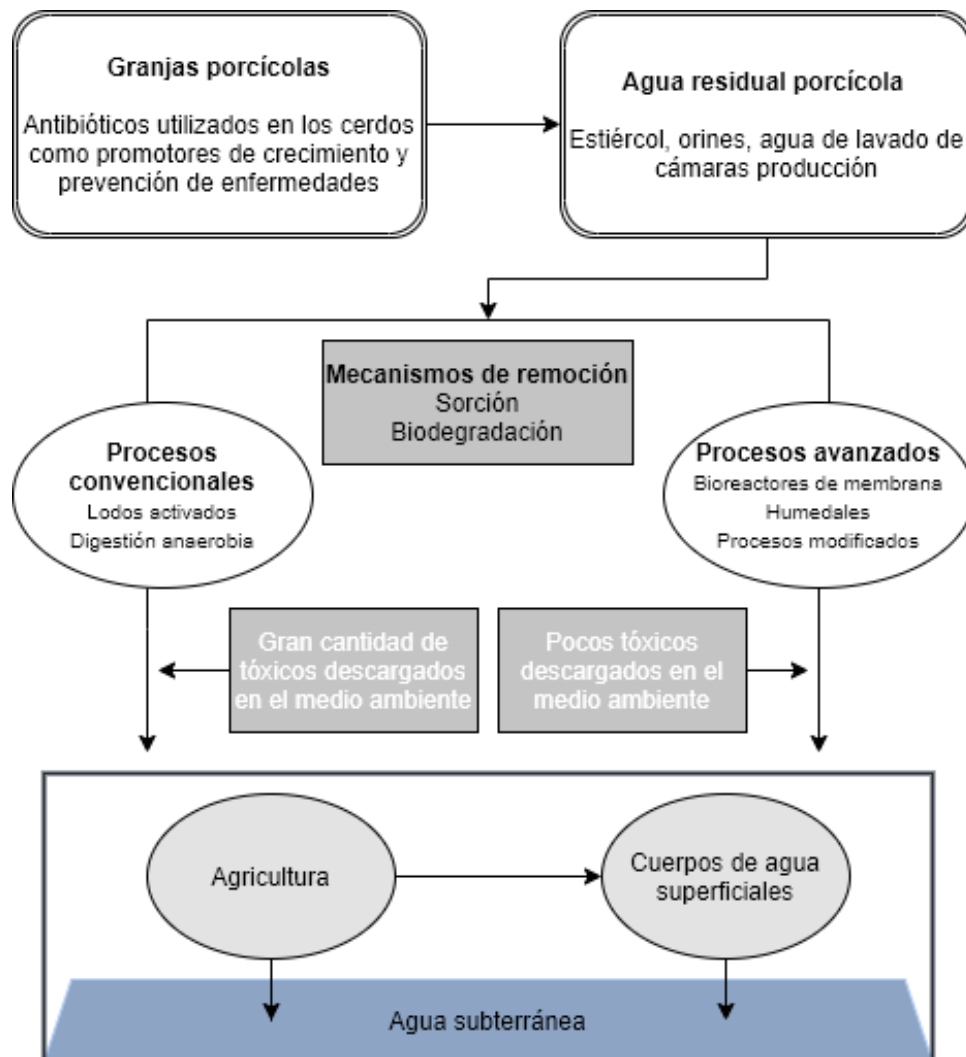


Figura 3. Rutas de exposición de los antibióticos de uso veterinario en el medioambiente

Fuente: (Cheng *et al.*, 2018).

Cabe mencionar que, los procesos convencionales utilizados para la remoción de contaminantes de del agua residual porcícola no son completamente útiles para remover microcontaminantes. Por otro lado, los procesos avanzados remueven con mayor eficiencia nutrientes y otros contaminantes como antibióticos y hormonas , tal es el caso de los humedales que contemplan interacciones físicas, químicas y biológicas entre la vegetación, los sustratos, los suelos, los microorganismos y el agua, por tanto, pueden tener lugar varios procesos de remoción: adsorción en los sustratos, absorción de la planta, fitovolatilización, liberación de exudados, bombeo de oxígeno a la rizosfera y degradación microbiana, eliminando de manera eficiente materia orgánica, nutrientes y otros compuestos. Los procesos modificados por su parte son adaptaciones realizadas a los procesos aerobios, anaerobios y de membrana existentes, tal es el caso de reactor discontinuo de secuenciación intermitente aireado (Intermittently aerated sequencing batch reactor, IASRB), filtro biológico aireado (Biological Aerated filter, BAF) en combinación con lagunas aerobias y anaerobias, biorreactor de membrana con biopelícula (BF-MBRS), sistemas de dos etapas combinando sistemas convencionales con carbón activado entre otros (Cheng, Ngo, Guo, Chang, Nguyen, Liu, Wei, *et al.*, 2020).

Los fármacos se han convertido en una problemática porque el modelo de crianza de cerdos en un inicio se inclinó por usar antibióticos desproporcionadamente en los alimentos para cerdos jóvenes (Du y Liu, 2012; Kirchhelle, 2018).

Se ha observado que la mayoría de los antibióticos presentes en el agua residual porcícola se encuentra en la fase sólida (98.5 %) siendo la fase líquida la que tiene la menor fracción de antibióticos (1.5 %) (Wang *et al.*, 2019). Pese a que, el porcentaje de antibióticos en la fracción líquida es menor sigue siendo significativo pues, se ha evidenciado que las granjas porcícolas son una fuente importante de genes de resistencia a antibióticos en los ríos circundantes y que éstos podrían viajar lejos con el flujo de agua (Yang *et al.*, 2019). Consecuentemente, esto podría significar riesgos agro-ecológicos y posibles impactos en la seguridad alimentaria y la salud pública.

La presencia y persistencia de los antibióticos en los ambientes acuáticos ha desencadenado varios efectos pese a encontrarse en bajas dosis, ejerciendo una presión selectiva sobre las comunidades bacterianas autóctonas. Esta presión no sólo representa una amenaza para los organismos acuáticos, sino que también contribuye al desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos (BRA) y genes resistentes a los antibióticos (ARG). La dispersión de los ARG depende del fármaco y del tipo de bacterias ya que pueden ser significativamente diferentes entre especies o incluso entre cepas. Los ARG se pueden compartir fácilmente y persistir en reservorios ambientales como los sedimentos de ríos. Además, si a esta problemática se le suma que al descargar desechos porcinos cerca de estos reservorios de ARG, la comunidad bacteriana que se desarrolla es potencialmente patógena, esto constituye una problemática incluso para la salud pública (Hoelzer *et al.*, 2017; Xiong *et al.*, 2015).

Como se mencionó anteriormente, algunas bacterias resistentes a antibióticos pueden ser potencialmente patógenas y zoonóticas, e incluso llegar a los alimentos. Esta dispersión se ha observado en el noreste de México donde el agua de riego contenía cepas diarreicas de *Escherichia coli*, de las cuales, el 90 % fueron resistentes a al menos un agente antimicrobiano; 51% fueron resistentes a al menos dos; y el 17% fueron resistentes a múltiples fármacos, poniendo en riesgo la salud humana y de otras especies (Canizalez-Roman *et al.*, 2019). Incluso, se ha hallado bacterias resistentes a antibióticos en animales cuyo hábitat está alejado del continente. Este es el caso de los pingüinos antárticos *Adélie* (*Pygoscelis adeliae*), donde se ha encontrado específicamente genes resistentes a tetraciclina. Cabe destacar que, estos efectos no son inmediatos y tampoco se puede garantizar que al discontinuar el uso de los antimicrobianos, los efectos provocados decaigan significativamente (Rahman *et al.*, 2015).

En plantas acuáticas como *Lemna gibba* y *Lemna minor* las tetraciclinas han mostrado tener efectos tóxicos a concentraciones por debajo de 5 mg/L, lo cual se atribuye a la quelación de nutrientes metálicos en las soluciones de crecimiento y siendo la toxicidad directa la que menos influye. En microalgas como *Microcystis aeruginosa* y *Selenastrum capricornutum* también se han observado efectos tóxicos causados por la presencia de tetraciclinas y macrólidos (Brain *et al.*, 2008). Estos efectos adversos pueden afectar el equilibrio de los sistemas acuáticos debido a que especies como las microalgas son la base de la cadena alimentaria.

1.1.5 Tetraciclinas

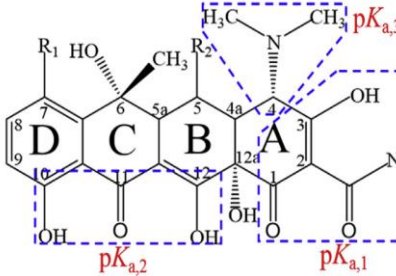
Las tetraciclinas naturales son producidas por diferentes especies de *Streptomyces* (Voje Petković *et al.*, 2017). Las primeras tetraciclinas (clortetraciclina y oxitetraciclina) se descubrieron en la década de 1940. Son una familia de antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas en las bacterias (Gram positivas y Gram negativas), que se unen irreversiblemente a la subunidad 30S de los ribosomas, bloqueando la unión de la transferencia de aminoacilo al ADN (Brain *et al.*, 2008; Chopra y Roberts, 2001)..

Las tetraciclinas son compuestos anfóteros, caracterizados por tres valores de pKa. Son relativamente estables en ácidos, pero no en bases, y forman sales en ambos medios (Thiele-Bruhn, 2003).

Este grupo de antibióticos fue ampliamente usado en la cría de animales de granjas pues, su uso fue extensivo llegando a estar presente en la mayoría de los alimentos mixtos para cerdos, terneros y aves de corral jóvenes (Kirchhelle, 2018). Dentro del grupo de las tetraciclinas, los más usados en la actividad porcícola son la tetraciclina y oxitetraciclina (Massé *et al.*, 2014; Van Cuong *et al.*, 2016; Van Epps y Blaney, 2016).

En la Tabla 3 se puede observar las características de la TCN y OTC.

Tabla 3. Características fisicoquímicas de oxitetraciclina y tetraciclina.

Tetraciclinas											
Antibiótico	Oxitetraciclina (OTC)	Tetraciclina (TCN)									
Fórmula molecular	$C_{22}H_{24}N_2O_9$	$C_{22}H_{24}N_2O_8$									
Nombre químico	4-dimetilamino-1,4, 4a,5, 5a,6,11,12a-octahidro-3,5,6,10,12,12a-hexahidroxí-6-metil-1,11-dioxonaftacen-2-carboxamida	-									
Peso molecular (g/mol)	460.439	444.444									
Estructura química	 <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">Tetraciclinas</th> <th style="text-align: center;">R₁</th> <th style="text-align: center;">R₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">TCN</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">OTC</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">OH</td> </tr> </tbody> </table>		Tetraciclinas	R₁	R₂	TCN	H	H	OTC	H	OH
Tetraciclinas	R₁	R₂									
TCN	H	H									
OTC	H	OH									
Modo de acción	Inhibición de la síntesis proteica de las bacterias previniendo su crecimiento.										
Log K_{ow}	-1.2	-1.3									
pK_a	pK _{a1} =3.22, pK _{a2} = 7.46; pK _{a3} =8.94	pK _{a1} =3.32, pK _{a2} = 7.78; pK _{a3} =9.58									

pK_a= Constante de disociación.

K_{ow}= Coeficiente de partición octanol/agua. Si Log K_{ow} <1 la sustancia es soluble en agua, si Log K_{ow} > 1 la sustancia es sorbible en lodo.

Fuente: (N. Chen *et al.*, 2019; Hernandez, 2013; Nasseh *et al.*, 2020)

1.1.6 Tilosina

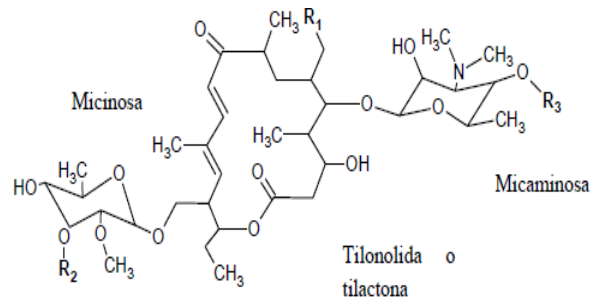
Los antibióticos macrólidos son compuestos bacteriostáticos que se unen reversiblemente al ARNr 23S en la subunidad del ribosoma 50S e inhiben la síntesis de proteínas dirigida por ARNm.

La tilosina fue obtenida en 1959 de un filtrado de cultivo de *Streptomyces fradie*, el cual se aisló de una muestra de tierra de Tailandia. Se utiliza en medicina veterinaria para tratar enfermedades respiratorias y disentería, además en algunos países esta aceptada como promotor de crecimiento. Su espectro antimicrobiano ha sido descrito como esencialmente Gram-positivo. La tilosina consiste principalmente de tilosina (factor A), aunque pueden estar presentes diferentes cantidades de desmicosina (factor B), macrocina (factor C) y relomicina (factor D) dependiendo de la fuente de manufactura (ver Tabla 4). Sin embargo, la mayor parte de la actividad biológica reside en la tilosina factor A,

pero la mayor parte de la tilosina que se encuentra en los residuos de los cerdos es como factor D (Lewicki, 2006).

Tabla 4. Características fisicoquímicas de la tilosina.

	Macrólido
Antibiótico	Tilosina (TYL)
Fórmula molecular	$C_{46}H_{77}NO_{17}$
Peso molecular (g/mol)	916.112



Estructura química

Compuesto	R1	R2	R3
Tilosina (Factor A)	-CHO	-CH ₃	(Micarosa)
Desmicosina (Factor B)	-CHO	-CH ₃	-H
Macrocina (Factor C)	-CHO	-H	
Relomicina (Factor D)	-CH ₂ OH	-CH ₃	

Modo de acción	Inhibición de la síntesis proteica en las bacterias y en ocasiones puede producir muerte celular.
Log K _{ow}	1.6
pK _a	7.7

Fuente: (Hernandez, 2013; Lewicki, 2006)

1.1.7 Digestión anaerobia

La digestión anaerobia consigue aprovechar hasta el 90 % de la energía contenida en el sustrato transformándolo a metano, a su vez se convierte en una fuente de energía alternativa (Noyola *et al.*, 2013).

La digestión anaerobia (DA) comprende cuatro pasos interdependientes en los que los microorganismos responsables de una etapa específica proporcionan compuestos intermedios para la siguiente etapa (ver Figura 4). La estructura y la dinámica de esta comunidad microbiana son importantes para mantener el proceso bien equilibrado. Las principales fases dentro del proceso anaerobio se describen a continuación.

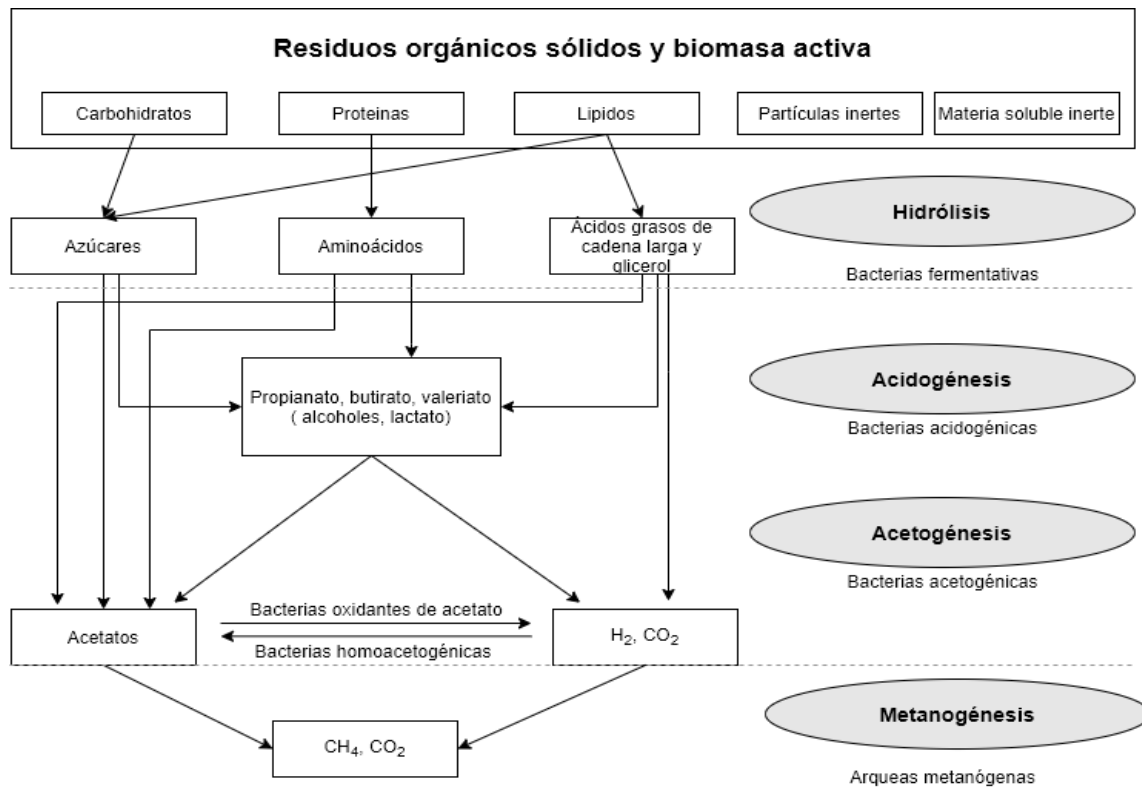


Figura 4. Proceso de digestión anaerobia.

Fuente: (Kothari *et al.*, 2014; Y. Li *et al.*, 2019)

- **Hidrólisis** Etapa donde la materia orgánica (azúcares, proteínas, lípidos, etc.) se hidroliza en micromoléculas, como oligosacáridos (mono o di) y aminoácidos, que son más fáciles de absorber por las bacterias fermentativas para formar ácidos grasos volátiles.
- **Acidificación.** Proceso que transforma las micromoléculas en ácidos grasos volátiles (AGVs) y alcoholes;
- **Acetogénesis.** Etapa de formación del ácido acético, dióxido de carbono e hidrógeno por la transformación de los AGVs o alcoholes. Asimismo, los ácidos grasos de cadena larga y glicerol se convierten en hidrógeno y acetato por bacterias acetogénicas. Además, dentro de este proceso el ácido acético también puede obtenerse a través del consumo de hidrógeno y dióxido de carbono por las bacterias homoacetogénicas a través de la vía de Wood-Ljungdahl.
- **Metanogénesis.** Es un proceso de transferencia de electrones donde se consume ácido acético o hidrógeno para transformarse en metano por la acción de arqueas (Castellano-Hinojosa *et al.*, 2018; Y. Li *et al.*, 2019; Noyola *et al.*, 2013).

1.1.8 Factores que afectan la digestión anaerobia

Dentro de cada una de las fases de la digestión anaerobia se ha observado que en diferente grado existen factores y sustancias que contribuyen al bajo rendimiento o inestabilidad del proceso anaerobio. Los factores que afectan

directamente la eficiencia del proceso anaerobio comúnmente son el pH, la temperatura, la composición de nutrientes, la concentración de sólidos volátiles y la concentración de ácidos volátiles (García-Sánchez, 2015). Además, existen sustancias que son consideradas tóxicas ya que pueden inactivar a los microorganismos encargados de la generación de metano (ver Cuadro 1).

Cuadro 1. Sustancias tóxicas comunes que influyen en la generación de metano.

<p>Amoniaco En dosis: 4,051–5,734 mg NH₃-N/ L</p>	<p>Este compuesto se genera por la degradación biológica de la materia nitrogenada, principalmente de las proteínas y urea. Se ha sugerido que el amoniaco libre (NH₃) es la principal causa de inhibición afectando posiblemente a los metanógenos que son los menos tolerantes a este compuesto y los más propensos a detener su crecimiento por la presencia de amoniaco.</p>
<p>Sulfuro En dosis: 50-400 mg H₂S/L</p>	<p>En procesos anaerobios las bacterias reductoras de sulfato (BRS) reducen el sulfato a sulfuro. La inhibición en la producción de metano se debe competencia por sustratos orgánicos e inorgánicos (las BRS pueden competir con metanógenos, acetógenos o microorganismos fermentativos) o por la toxicidad del sulfuro en algunos grupos de bacterias.</p>
<p>Iones metálicos ligeros En dosis: Na⁺: 3,500-5,500 mg/L K⁺: > 400mg/L Mg²⁺:400-700 mg/L Ca²⁺:2,500-8,000 mg/L Al³⁺: >1,000 mg/L</p>	<p>Están presentes en los procesos anaerobios debido a que pueden liberarse por la descomposición de la materia orgánica (como la biomasa) o agregarse como productos químicos para el ajuste del pH. En concentraciones moderadas estimulan el crecimiento microbiano, pero las cantidades excesivas ralentizan el crecimiento o pueden causar inhibición o toxicidad severas.</p>
<p>Metales pesados</p>	<p>Los metales pesados identificados como particularmente preocupantes incluyen cromo, hierro, cobalto, cobre, zinc, cadmio y níquel, estos no son biodegradables pueden acumularse y son tóxicos.</p>
<p>Compuestos orgánicos En dosis: <i>Pentaclorofenol PCP</i>: 0.5- 10 mg/L <i>Cloroformo</i>: 0.01 mg/L <i>Compuestos orgánicos policlorados (C₄Cl₆, C₂Cl₆, C₂Cl₄)</i>: >3.3 mg/L</p>	<p>La acumulación de contaminantes apolares son adsorbidos en las superficies de los sólidos y pueden acumularse en altos niveles en los digestores anaerobios. En las membranas bacterianas estos compuestos pueden alterar los gradientes iónicos y eventualmente causar lisis celular.</p>

Fuente: (Y. Chen *et al.*, 2008).

Otras sustancias como detergentes, solventes, plaguicidas, herbicidas, insecticidas y fungicidas también logran inhibir el proceso de digestión anaerobia. Incluso los contaminantes emergentes como los antibióticos pueden causar una reducción en la producción de biogás y / o el contenido de metano. La inhibición de los procesos anaerobios es diferente en cada caso debido a la diferencia en la composición de los consorcios anaerobios, la composición de los desechos de casa sitio, así como los métodos y condiciones experimentales. Los antibióticos como la clortetraciclina y la oxitetraciclina en dosis de 10, 50 y 100 mg/L han mostrado ser inhibidores de la actividad metanogénica específica como de la producción de metano. Otros estudios también muestran que la presencia de tetraciclina en bajas dosis (250 µg/L) dentro de sistemas biológicos anaerobios inhibe la remoción de macrocontaminantes y muestra un efecto negativo en la generación de CH₄ y CO₂. Otro tipo de antibiótico como la tilosina (macrólido), ha mostrado un efecto de inhibición en la producción de metano en un 49% a concentraciones ≥ 10 µg/L (García-Sánchez, 2015; Lu *et al.*, 2016).

1.1.9 Ventajas del tratamiento anaerobia del agua residual porcícola

La digestión anaerobia ofrece ventajas tanto económicas como ambientales ya que es un proceso adaptable a las diferentes necesidades de las granjas porcícolas (tamaño, tecnología, etc.). Estas ventajas son:

- Disminución de vectores que pueden transmitir enfermedades.
- Reducción de malos olores.
- Producción energética a través del biogás.
- Disminución de patógenos (como coliformes fecales)
- Constituye una barrera para la emisión de contaminantes al medio ambiente.
- El efluente se puede utilizar como fertilizante en la agricultura evitando el uso de compuestos sintéticos.

Además, el tratamiento anaerobio es sugerido para aguas residuales que contienen una gran cantidad de materia biodegradable como es el caso de aquellas procedentes de la industria porcícola.

1.2 ANTECEDENTES

En México, el uso de antibióticos durante crianza de cerdos está permitido, y solo se suspende entre 2 o 30 días antes de sacrificar al animal (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo [CIAD], 2004). Estas sustancias son suministradas generalmente, mediante polvos orales, geles y soluciones inyectables.

Además, los antibióticos también son usados como promotores de crecimiento y se ha encontrado que la cantidad de antibióticos utilizada en el alimento para la

cría de cerdos es de 286.6 mg/kg, valor que depende del modelo de crianza de cada país (Van Cuong *et al.*, 2016).

La tetraciclina (TCN), oxitetraciclina (OTC) y la tilosina (MIX) son antibióticos de uso permitido para la crianza de cerdos en México (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo [CIAD], 2004; SAGARPA, 2016). Lo cual implica la presencia de estos antibióticos de uso veterinario en el agua residual de granjas dedicadas a la cría de cerdos, y a que una fracción de estos se excreta. Se estima que en animales el nivel de excreción de antibióticos es de 25 % para TCN, 21 a 23 % para OTC y 40 a 60 % para TYL (Massé *et al.*, 2014).

Se ha demostrado la presencia de estos antibióticos veterinarios en las aguas residuales porcícolas de algunos de los estados de la república mexicana, como: Puebla, Morelos, Sonora, Campeche y Yucatán. La tilosina (TYL) estuvo presente en concentraciones de 56 a 86 µg/L en la etapa de gestación y reproducción y, la oxitetraciclina (OTC) se ha encontrado en concentraciones de 140 a 1427 µg/L (Díaz-Quiroz *et al.*, 2018; García-Sánchez *et al.*, 2013; León-Aguirre *et al.*, 2019). Este rango de concentración muestra el uso desmedido de los antibióticos, dificultando el tratamiento con las alternativas convencionales existentes, por lo tanto, es necesario analizar los efectos que pueden causar en sistemas de tratamiento las bajas concentraciones de estos contaminantes y así proponer alternativas que eviten la entrada de estos compuestos al medio ambiente.

Estudios realizados mediante ensayos de lotes con microorganismos mesófilos metanogénicos con OTC, TCN y TYL muestran que existe inhibición de la producción de metano en porcentajes variables (Álvarez *et al.*, 2010; Zeynep Cetecioglu *et al.*, 2012; García-Sánchez, 2015). Sin embargo, las concentraciones utilizadas estaban en el rango de mg/L, las cuales son superiores a las que se han reportado en agua residual porcícola. Por ello, es necesario evaluar a los antibióticos de uso veterinario en condiciones acordes a lo aproximado a la realidad.

CAPÍTULO 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1 PROBLEMÁTICA

En México, la actividad porcícola ha crecido en las últimas décadas, ya que el consumo per cápita de carne de cerdo aumentó 50% desde los años 90 y la perspectiva es que el consumo continuará aumentando (OCDE, 2019). El aumento de esta actividad también incrementa el uso de antibióticos y su presencia en el agua residual porcícola ya que las tendencias en las cargas totales estimadas de antibióticos siguen directamente las tendencias de producción animal (Van Epps y Blaney, 2016).

Las tetraciclinas y los macrólidos son de los grupos más utilizados en la cría de cerdos (Van Cuong *et al.*, 2016; Van Epps y Blaney, 2016). Dentro de estos antibióticos las tetraciclinas son las más persistentes en el estiércol de los animales ya que su vida media puede llegar a ser de 100 días mientras que para los macrólidos es de 21 días (Massé *et al.*, 2014).

Dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas, los antibióticos en agua residual, éstos pueden persistir en el ambiente, bioacumularse o implicar el aumento de bacterias resistentes, incluidos los microorganismos patógenos transmitidos por los alimentos. Estos contaminantes microbiológicos pueden tener efectos tóxicos y poner en riesgo la salud humana y la seguridad alimentaria (Barceló *et al.*, 2012; Canizalez-Roman *et al.*, 2019; Tejada *et al.*, 2014), ya que el agua residual porcícola puede migrar por escorrentía y/o lixiviación a otros ecosistemas, por ejemplo, al reutilizarse para la irrigación de tierras de cultivo (Cheng, Ngo, Guo, Chang, Nguyen, Liu, Shan, *et al.*, 2020). Además, en la mayoría de los casos la presencia de antibióticos en el agua residual carece de una regulación en la mayoría de los países.

Como una manera de integrar la remoción de los microcontaminantes a los procesos de tratamiento del agua residual se han explorado procesos fisicoquímicos como los de oxidación avanzada; ozonización (O_3 reacciona con compuestos que contienen anillos aromáticos, enlaces insaturados y grupos amino, logrando hasta el 90% de remoción); el foto-Fenton ($Fe^{3+}/H_2O_2/UV$) que remueve fármacos en un tiempo de exposición corto; el dióxido de cloro ya que puede oxidar a una amplia gama de antibióticos (Patiño *et al.*, 2014; Quintana *et al.*, 2014). Sin embargo, pese a sus eficiencias, el uso de estos métodos es limitado por el costo que representan.

En el caso de granjas porcícolas el tratamiento debe contemplar la remoción tanto de macrocontaminantes como de microcontaminantes. Los modelos de crianza promueven el uso desmedido de antibióticos, los cuales deben ser removidos en los sistemas de tratamiento de agua residual para evitar que lleguen continuamente al ambiente y se bioacumulen en organismos superiores (Rahman *et al.*, 2015). Los reactores anaerobios son los utilizados preferentemente para tratar este tipo de agua con alta carga de materia orgánica y se observado que

solo una parte de los antibióticos puede ser removida mediante este proceso (Stone *et al.*, 2010). Por ello, es necesario conocer y tener pautas sobre la influencia de estos antibióticos, que son considerados inhibidores, en las tecnologías anaerobias utilizadas para este tipo de agua (Z. Cetecioglu *et al.*, 2013).

2.2 JUSTIFICACIÓN

El agua residual porcícola se caracteriza por su alto contenido en materia orgánica, nitrógeno y fósforo, por lo que requiere de un sistema de tratamiento de que permita la eliminación eficiente de estos macrocontaminantes antes de su descarga al sistema de drenaje municipal o a cuerpos de agua. Aunado a esto, recientemente se ha observado la presencia de otros contaminantes que son denominados emergentes, los cuales son en su mayoría antibióticos y/o hormonas, que se encuentran en bajas concentraciones en estas aguas residuales. Desafortunadamente en algunos países el estudio sobre este tipo de contaminantes está limitado por su escasa regulación, ya que en los sistemas convencionales de tratamiento no se ha contemplado su detección ni su remoción, tal es el caso de México donde se conoce poco sobre su dinámica, transporte y efectos sobre los ecosistemas. Además, en los sistemas de tratamiento de agua residual convencionales la remoción de este tipo de contaminantes es poco eficiente o nula.

Los sistemas de tratamiento de agua residual porcícola más ampliamente usados por su eficiencia en la remoción de materia orgánica son procesos anaerobios. Sin embargo, existen sustancias como los antibióticos de uso veterinario que pueden resultar tóxicos y repercutir en el funcionamiento de estos sistemas.

Son escasos los estudios sobre el efecto y la manera en que son eliminados los antibióticos. Por lo que es necesario realizar estudios sobre la influencia de los antibióticos de uso de veterinario en tecnologías eficientes de tratamiento de agua residual porcícola, para obtener criterios de operación y lograr una remoción conjunta de micro y macrocontaminantes de manera efectiva, dando como resultado un efluente de calidad para su reúso.

Por lo tanto, la presente propuesta está enfocada en evaluar la influencia de tres antibióticos, solos y en mezcla: tetraciclina (TCN), oxitetraciclina (OTC) y tilosina (TYL), tanto en la eliminación en condiciones anaerobias como por sorción. Para ello se estudió el efecto de estos tres antibióticos en la actividad metanogénica específica y la biodegradabilidad del agua residual porcícola, de un lodo granular anaerobio, y la remoción de estos mediante sorción tanto con biomasa inhibida como con carbón activado.

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 Objetivo general

Determinar los mecanismos de remoción de tres antibióticos de uso veterinario, dos tetraciclinas y un macrólido, mediante ensayos de biodegradabilidad y

cinéticas de sorción para proponer un sistema de remoción de macro y microcontaminantes de agua residual porcícola.

2.3.2 Objetivos Particulares

1. Determinar la influencia de tres antibióticos de uso veterinario sobre la actividad metanogénica específica y su biodegradabilidad usando biomasa sin aclimatación y con aclimatación en agua residual porcícola en ensayos por lote.
2. Obtener las constantes cinéticas e isothermas de sorción para los tres antibióticos usando biomasa anaerobia y carbón activado en ensayos por lote.
3. Establecer los parámetros para el funcionamiento de un reactor para agua residual porcícola de dos etapas.

2.4 HIPÓTESIS

La remoción de macrocontaminantes y tres antibióticos de uso veterinario se puede lograr mediante la biodegradación anaerobia y por sorción en carbón activado, lo que permitirá la implementación de un sistema híbrido de dos etapas para tratamiento de agua residual porcícola.

CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 METODOLOGÍA

En la Figura 5 se presenta el planteamiento metodológico que se presenta para el trabajo.

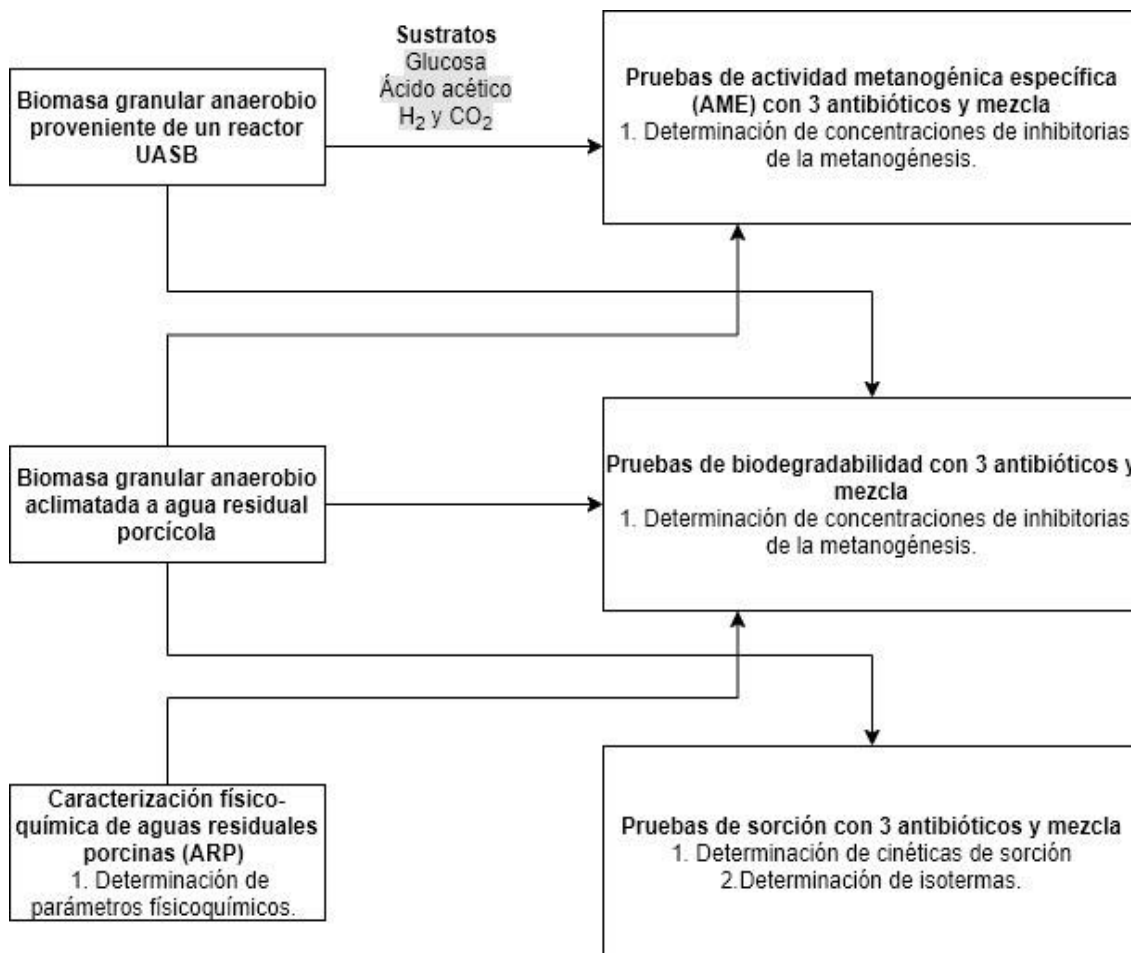


Figura 5. Planteamiento metodológico.

3.2 CARACTERÍSTICAS DEL AGUA RESIDUAL

El agua residual porcícola (ARP) que fue utilizada para la prueba de biodegradabilidad se recolectó en Bacum, Estado de Sonora de una granja porcícola que tiene alrededor de 2,000 a 3,000 cerdos entre lechones y cerdos en etapa de maternidad.

Las características físicoquímicas del agua se detallan en la Tabla 5, donde se observa que el agua utilizada para cada ensayo tiene diferentes características, estas diferencias se deben a que en el primer ensayo con biomasa anaerobia sin aclimatación (BASA) el agua corresponde a 9 muestreos de agua residual analizados, por lo cual se presenta el rango en el que se observó cada lote. El

segundo ensayo con biomasa anaerobio aclimatada (BAA) el agua residual se colectó únicamente en un lote. En ambas muestras se puede observar que la materia orgánica y los sólidos se encuentran en concentraciones altas, lo cual es recurrente en el agua residual de este tipo, indicando así que el tratamiento anaerobio es viable para este tipo de agua.

Tabla 5. Características fisicoquímicas del agua residual porcícola.

Parámetros	Ensayo BASA*	Ensayo BAA
	Concentración (g/L)	
<i>Demanda Química de Oxígeno (DQO)</i>	11 - 55	36.5
<i>Carbono orgánico Total</i>	-	2.124
<i>Nitratos (NO₃⁻)</i>	0 - 0.13	0.208
<i>Nitritos (NO₂⁻)</i>	0 - 0.2	0.045
<i>Amonio (NH₄⁺)</i>	0.4 - 2.1	-
<i>Nitrógeno total (NT)</i>	-	2.124
<i>Sólidos Totales (ST)</i>	12 - 42.5	18.37
<i>Sólidos Totales Volátiles (SVT)</i>	11.8 - 32.5	11.66
<i>Sólidos Disueltos Totales (SDT)</i>	-	2.02

* Datos proporcionados por el Instituto Tecnológico de Sonora

BASA: biomasa anaerobia sin aclimatación

BAA: biomasa anaerobia aclimatada

3.3 CARACTERÍSTICAS DE LA BIOMASA

La biomasa anaerobia sin aclimatación (BASA) utilizada como inóculo en los ensayos de AME y biodegradabilidad fue obtenida de un reactor UASB utilizado para el tratamiento de aguas residuales de la Cervecería Cuauhtémoc Moctezuma de la Cd. de México. Las concentraciones de sólidos suspendidos volátiles del inóculo fueron de 34.04 g/L (glucosa / H₂ y CO₂) y 21.07 g/L (ácido acético / ARP).

La biomasa anaerobia aclimatada (BAA), con la cual se inocularon las botellas en los ensayos AME y biodegradabilidad, fue adaptada con agua residual porcícola en un reactor híbrido en su etapa anaerobia en un periodo 120 semanas, obteniendo una remoción de materia orgánica medida como DQO del 99.1%. Este inóculo tuvo una concentración SSV de 57.04 g/L.

3.4 PREPARACIÓN DE ANTIBIÓTICOS

Los antibióticos utilizados fueron tetraciclina, oxitetraciclina y tilosina en bajas dosis (ver Figura 6). Las soluciones se prepararon a una concentración de 5 g/L a partir de antibióticos comerciales disueltos en alcohol etílico (96 % v/v) y en cada experimento fueron utilizadas para la preparación de nuevas soluciones a 10 mg/L aforadas con agua ultrapura tipo I (Milli-Q®) y así llegar a las dosis necesarias (ver Tabla 6). En el caso de la mezcla de antibióticos para alcanzar la concentración deseada se colocaron concentraciones iguales de oxitetraciclina, tetraciclina y tilosina.

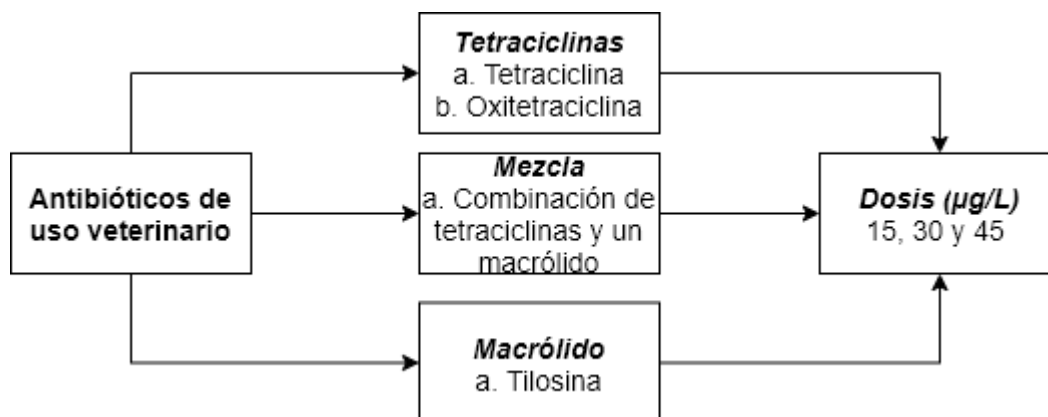


Figura 6. Descripción de los antibióticos utilizados en las pruebas para conocer el efecto inhibitorio en la producción de metano.

Tabla 6. Preparación de dosis de OTC, TCN y TYL a partir de una solución de 10 mg/L.

Parámetro	Concentración (µg/L)			
	0 (Ctrl)	15	30	45
Volumen de antibiótico (µL)	0	30	60	90

3.5 ACTIVIDAD METANOGÉNICA ESPECÍFICA

La prueba de actividad metanogénica específica (AME) ha sido utilizada para determinar la actividad de un consorcio anaerobio en varios procesos anaerobios y su potencial para convertir sustratos complejos en metano. De esta forma a partir de cantidades conocidas de biomasa bajo condiciones establecidas y un sustrato definido se puede evaluar la máxima producción de metano por unidad de biomasa en un periodo de tiempo (Hussain y Dubey, 2017; Torres Lozada y Pérez, 2010).

3.5.1 Descripción de la prueba AME

Para la realización de esta prueba la relación entre sustrato/biomasa fue de 0.4 mg C/mg SSV. Cada experimento fue realizado en botellas serológicas ámbar de 60 mL selladas con tapón de hule y aluminio, las cuales contenían 16 ml de medio mineral a pH 7 (ver Tabla 7). Previamente cada botella fue esterilizada a 15 psi y 120 °C durante 15 minutos y purgada con una mezcla de mezcla de N₂ - CO₂ (80% - 20%, v/v) (ver Figura 6).

Tabla 7. Composición del medio mineral utilizado en las pruebas AME.

Reactivos	Composición	Cantidad*
Solución mineral 1	K ₂ HPO ₄	50 mL
Solución mineral 2	KH ₂ PO ₄ , (NH ₄) Cl, NaCl, MgCl ₂ · 6H ₂ O, CaCl ₂ · 2H ₂ O	50 mL
Solución de oligoelementos	Ácido nitrilotriacético, MgSO ₄ · 7H ₂ O, MnSO ₄ · 2H ₂ O, NaCl, FeSO ₄ · 7H ₂ O, CoSO ₄ , CaCl ₂ · 2H ₂ O, ZnSO ₄ , CuSO ₄ · 5H ₂ O, AlK (SO ₄) ₂ , H ₃ BO ₃ , Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	10 mL
Solución de vitaminas	Biotina, ácido fólico, piridoxina HCL, tiamina HCL, riboflavina, ácido nicotínico, D.L. pantotenato de calcio, vitamina B12, ácido p-aminobenzóico, ácido lipoico	10 mL
Resarzurina	(0.1% p/v-agua destilada)	1.0 mL
Extracto de levadura	-	1.0 g
Peptona de caseína	-	1.0 g
Bicarbonato de sodio	-	3.0 g
Solución de FeSO₄ · 7H₂O	-	1.0 mL
Solución de NiCl₂	-	10 mL
Cisteína	-	0.5 g

El montaje de los experimentos se llevó a cabo en una cámara de ambiente anaerobio marca Coy (llenada con N₂ únicamente). En el experimento general cada botella fue abierta para añadir el inóculo, el sustrato específico, la solución reductora (sulfuro de sodio, Na₂S; 0.4 mL) y las dosis de antibióticos, dejando un espacio libre de cabeza de aproximadamente 40 mL. Finalmente, las botellas se colocan en una incubadora a una temperatura de 37 ± 2 ° C para luego medir la cantidad de metano producido. Cada experimento se realizó por duplicado con un control positivo y otro negativo (ver Figura 7).

Los sustratos específicos fueron ácido acético, glucosa y una mezcla de H₂ -CO₂, los dos inicialmente mencionados se prepararon a una concentración de 1 g C/L y el último fue añadido mediante un equipo Manifold en una proporción 80 % (CO₂) y 20% (H₂).

Además, como parte de las condiciones necesarias para el experimento, inóculo fue dejado al vacío durante las 24 horas previas a la realización de los experimentos.

3.6 BIODEGRADABILIDAD

La prueba de biodegradabilidad (BD) constituye una variante de la descrita anteriormente y ha sido utilizada para evaluar la susceptibilidad de un efluente a ser tratado vía anaerobia. Además, se pueden conocer las velocidades de reacción, tiempos de latencia, los posibles efectos inhibitorios y las máximas eficiencias de remoción esperadas durante el tratamiento del efluente (Moreno Andrade y Buitrón Méndez, 2002).

En estos experimentos se utilizó 16 mL de agua residual porcícola (como sustrato y medio) y 4 mL de biomasa anaerobia en cada botella (ver Figura 7). Cabe mencionar que, tanto las condiciones anaerobias como la incubación se llevaron a cabo en las mismas condiciones que la AME y también se cuantificó la cantidad de metano producido. Cada experimento se realizó por duplicado con un control positivo y otro negativo.

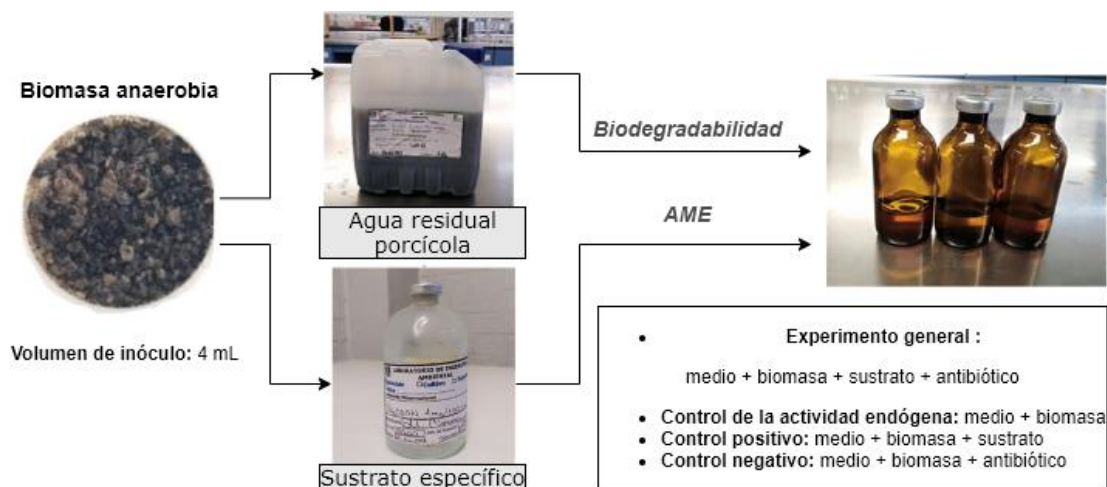


Figura 7. Descripción de la biomasa utilizada en los ensayos de BD y AME.

Cabe mencionar que, dentro dos experimentos fueron desarrollados previamente, pero bajo las mismas condiciones que se han mencionado con anterioridad. Por tanto, fueron considerados en el análisis de datos.

3.7 SORCIÓN

Los ensayos de sorción fueron realizados utilizando dos materiales biomasa anaerobia aclimatada inactiva y carbón activado (ver Figura 8).

Para corroborar que no existiera actividad metanogénica, la biomasa fue sometida a una prueba de actividad metanogénica específica con tres diferentes tratamientos:

- ✓ Tratamiento A: esterilización a 15 psi y 120 °C durante 30 minutos.
- ✓ Tratamiento B: inhibición de la biomasa anaerobia con aplicación de azida sódica (1% NaN_3 m/v) durante 48 horas.
- ✓ Tratamiento C: inhibición con NaN_3 (Tratamiento A) y esterilización (Tratamiento B).

El tratamiento que no mostró producción de metano (inhibición efectiva) fue la combinación entre esterilización con adición de azida sódica (ver Anexo 1). Por tanto, se puede decir que la biomasa está inactivada. Por otro lado, el carbón activado granular fue sometido a un proceso de limpieza (para evitar sólidos finos) con agua destilada, tipo II.

Los equipos utilizados fueron un agitador modelo New Brunswick™ Excella® E5 y un cromatógrafo de ultra alta resolución (UPLC).

Los análisis de las isothermas se realizaron con una muestra representativa de cada ensayo.

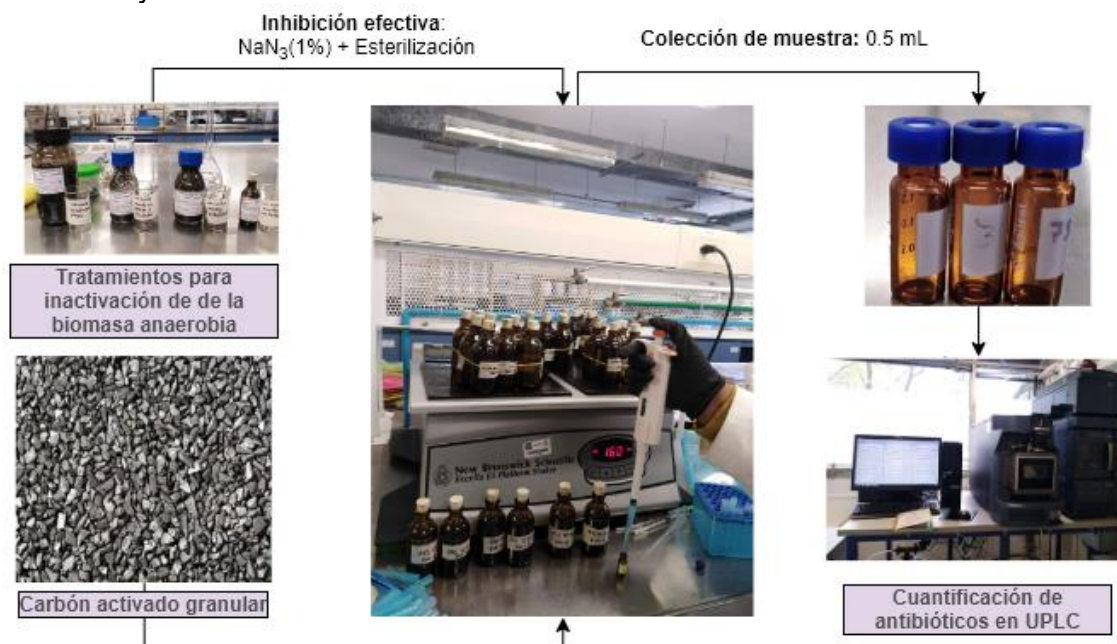


Figura 8. Descripción de las pruebas de sorción.

3.7.1 Descripción de las pruebas de sorción

Los experimentos se llevaron a cabo en botellas serológicas ámbar de 60 mL selladas, en las cuales se colocó agua tipo I a pH ajustado con H₂SO₄ y Na HCO₃.

A continuación, se describen los parámetros utilizados para las pruebas de sorción (ver Tabla 8).

Tabla 8. Descripción de los parámetros experimentales para las pruebas de sorción.

Parámetros	Unidades	Biomasa anaerobia (57.04 g SSV/L)	Carbón activado granular (Porosidad de 0.2 cm ³ /g y tamaño de poro entre 2 y 50 nm)
Dosis de antibiótico	µg/L		15, 60 y 100
Cantidad	g		0.05
Temperatura	° C		20 y 37
pH			6 y 7
Tiempo	Horas		1, 2, 4, 10 y 24
Agitación	RPM		160
Volumen de reacción	L		0.05

3.7.2 Cinéticas de sorción

El proceso de sorción depende íntimamente en los otros parámetros experimentales, como el pH, fuerza iónica, temperatura, concentración de soluto, dosis de sorbente, y la textura de los sorbentes (área específica). Por lo tanto, el tiempo de contacto donde el proceso de sorción se acerca a un verdadero equilibrio debe ser determinado de acuerdo con estos parámetros. Los modelos utilizados se han aplicado ampliamente para iones metálicos, tintes, herbicidas, aceites, sustancias orgánicas y antibióticos en soluciones acuosas (Qiu *et al.*, 2009; Shi *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2009).

3.7.1.1 Pseudo-primer orden

Lagergren presentó la expresión del pseudo primer orden, donde la velocidad de sorción está basada en la capacidad de sorción (Qiu *et al.*, 2009), y se puede representar de la siguiente forma:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_e - q_t)$$

k_1 : constante de velocidad de sorción ($\frac{1}{h}$)

q_e : cantidad sorbida en el equilibrio ($\frac{\mu g}{g}$)

q_t : cantidad sorbida en el tiempo ($\frac{\mu g}{g}$)

t : tiempo (h)

3.7.1.2 Pseudo-segundo orden

Esta ecuación supone que el sorbato se sorbe en dos sitios activos de la biomasa (Pinzón-Bedoya y Vera Villamizar, 2009). A continuación, se detalla la ecuación que sigue:

$$q_t = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + k_2 q_e t}$$

k_2 : constante de velocidad de sorción ($\frac{g}{\mu g \cdot h}$)

q_e : cantidad sorbida en el equilibrio ($\frac{\mu g}{g}$)

q_t : cantidad sorbida en el tiempo ($\frac{\mu g}{g}$)

t : tiempo (h)

3.7.1.3 Elovich

La ecuación de Elovich ha sido utilizada principalmente para describir la cinética de quimisorción, donde se supone que los sitios activos del sorbente son heterogéneos (Pinzón-Bedoya y Vera Villamizar, 2009; Qiu *et al.*, 2009).

$$\frac{dq_t}{dt} = ae^{-bq_t}$$

a : velocidad inicial de sorción ($\frac{\mu g}{g \cdot h}$)

b : constante de desorción del sistema ($\frac{\mu g}{g}$)

q_t : cantidad sorbida en el tiempo ($\frac{\mu g}{g}$)

t : tiempo (h)

3.7.1.4 Difusión Intraparticular

Este modelo hallado por Weber-Morris se basa en que el mecanismo de difusión intraparticular en el interior de los poros de la partícula de sorbente está basada en que el sorbente posee una estructura porosa homogénea. Se ha utilizado para diferentes contaminantes incluyendo antibióticos (Andrade, 2018; Pinzón-Bedoya y Vera Villamizar, 2009; Shi *et al.*, 2011).

$$q_t = k_i \sqrt{t}$$

K_i : constante de difusión intraparticular ($\frac{\mu g}{g \cdot h^{0.5}}$)

En la Tabla 8., se detallan las ecuaciones linealizadas de los últimos dos modelos descritos anteriormente.

Tabla 9. Modelos linealizados de las cinéticas de sorción

Modelo	Ecuación	Referencia
Pseudo-primer-orden	$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - K_1 t$	(Moussout <i>et al.</i> , 2018)
Pseudo-segundo-orden	$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t$	(Chang y Ren, 2015)
Elovich	$q_t = a \ln(t) + b$	(Rath <i>et al.</i> , 2019)
Int. particular	$q_t = k_i \sqrt{t}$	(Pinzón-Bedoya y Vera Villamizar, 2009)

3.7.3 Isotermas de sorción

3.7.2.1 Langmuir

El modelo de sorción de Langmuir supone que la sorción máxima corresponde a una monocapa saturada de moléculas de soluto en la superficie sorbente, sin interacción entre las moléculas de sorbidas (Andrade, 2018; Hameed *et al.*, 2008; K. Li *et al.*, 2013). La ecuación que sigue se muestra a continuación:

$$q_e = \frac{q_m k_1 C_e}{1 + k_1 C_e}$$

q_e : cantidad de sorbato sorbido en el equilibrio $(\frac{\mu g}{g \cdot h})$

k_1 : constante de afinidad entre el sorbente y el sorbato $(\frac{L}{\mu g})$

q_m : capacidad máxima de sorción en la monocapa del sorbente $(\frac{\mu g}{g})$

C_e : concentración del sorbato en el equilibrio $(\frac{\mu g}{L})$

3.7.2.2 Freundlich

El ajuste al modelo de Freundlich establece que los sitios activos del sorbente se encuentran distribuidos de manera heterogénea sobre la superficie y la intensidad de sorción dependerá de cuantos de estos sitios hayan sido ocupados (Andrade, 2018; Shi et al., 2011).

$$q_e = K_F C_e^{1/n}$$

q_e : cantidad de sorbato sorbido en el equilibrio $(\frac{\mu g}{g})$

K_F : constante de Freundlich, capacidad de sorción $(\frac{\mu g}{g})(\frac{L}{\mu g})^{1/n}$

n : magnitud de la fuerza conductora de sorción o la heterogeneidad de la superficie del sorbente (adimensional)

C_e : concentración del sorbato en el equilibrio $(\frac{\mu g}{L})$

Tabla 10. Modelos linealizados de Isotermas de sorción

Modelo	Ecuación	Referencia
Langmuir	$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_m} + \frac{1}{k_l q_m C_e}$	(Hameed et al., 2008; Shi et al., 2011)
Freundlich	$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e$	(Hameed et al., 2008)

3.8 MÉTODOS DE ANALÍTICOS

3.8.1 Determinación de cinéticas de reacción

La actividad metanogénica específica y la biodegradabilidad se determinó de acuerdo con los siguientes pasos:

- Obtención del número de moles de metano (CH₄) por obtención de la curva de calibración.
- Determinación del factor de corrección (FC) en función del volumen (V) de cada reactivo, de acuerdo con las siguientes ecuaciones:

Ecuación 1: $Fase\ líquida = V_{Medio\ o\ ARP} + V_{Nas} + V_{Biomasa\ anaerobia} + V_{Sustrato}$

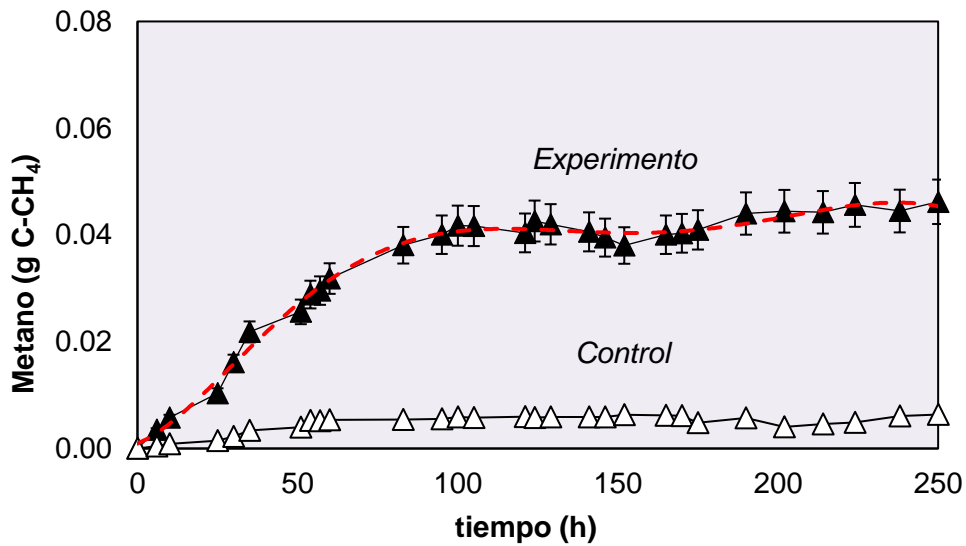
Ecuación 2: $Fase\ gaseosa = V_{Botella} - Fase\ líquida$

Ecuación 3: $FC = \frac{Fase\ gaseosa}{V_{Inyección}}$

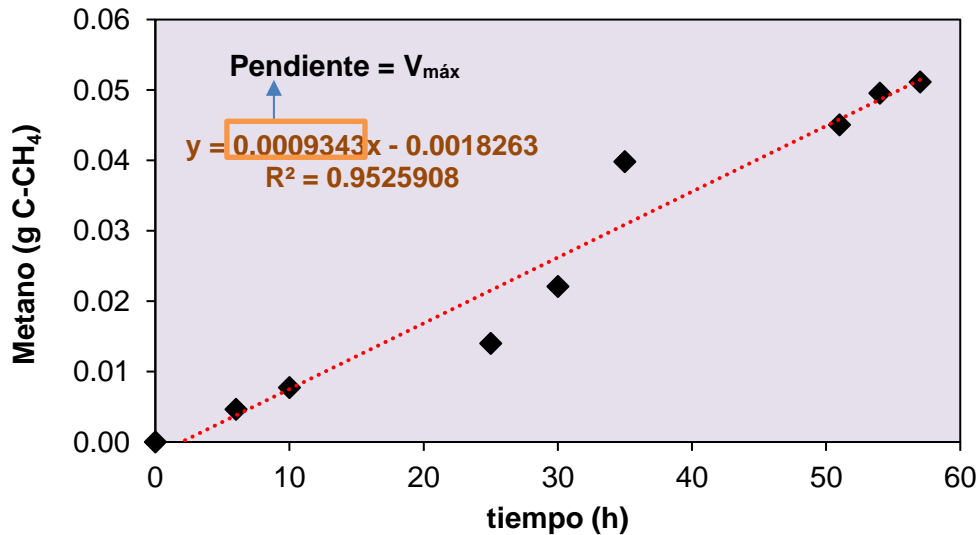
- Construcción de la gráfica metano, expresado como gC-CH₄, en función del tiempo en horas (ver Gráfica 1).
- Determinación de la pendiente que es la velocidad máxima (V_{máx}) de producción de metano (ver Gráfica 2).

Un ejemplo de lo detallado anteriormente se muestra a continuación:

Ejemplo 1.



Gráfica 1. Generación de metano.



Gráfica 2. Curva correspondiente a la velocidad máxima de producción de metano ($V_{\text{máx}}$).

- Determinación de AME o BD:

Ecuación 4:

$$AME \text{ o } BD = \frac{V_{\text{máx}} \left[\frac{\text{gC-CH}_4}{\text{hrs}} \right]}{SSV [\text{g}]} * 24 = X \left[\frac{\text{gC-CH}_4}{\text{g SSV} \cdot \text{d}} \right]$$

3.8.2 Cuantificación de biogás

Para la cuantificación y detección del metano se utilizó un cromatógrafo de gases equipado con un detector de conductividad térmica (Fisher Gas Partitioner model 1200) tanto para el ensayo de AME como para el de BD. Durante el periodo de tiempo que duró cada cinética, se tomaron 500 μL de muestra de cada botella con una jeringa una pressure-lock.

La columna utilizada fue de Porapak Q (5 \AA), y el gas acarreador fue helio grado cromatográfico.

Las condiciones óptimas para el cromatógrafo de gases fueron: a) Tiempo de corrida de 1.5 min; b) Flujo del gas acarreador 25 mL/min; temperatura del horno de 120 $^{\circ}\text{C}$, temperatura del inyector de 130 $^{\circ}\text{C}$ y temperatura del detector de 150 $^{\circ}\text{C}$.

La curva de calibración de metano fue de 0.0 hasta 0.03 mmoles (ver Anexo 2).



Fotografía 1. Equipo Fisher Gas Partitioner e inyección de muestra.

Los valores obtenidos en moles a partir de cromatógrafo se transformaron a litros mediante la ecuación 5.

Ecuación 5: $V = \frac{nRT}{P}$

V : litros de CH_4

n : moles de CH_4

R : constante de los gases ideales ($0.08205746 \frac{\text{atm} \cdot \text{L}}{\text{mol} \cdot \text{K}}$)

T : temperatura a la que se realizaron los experimentos (310.15 K)

P : presión atmosférica Ciudad de México (0.771 atm)

3.8.3 Determinación de carbono orgánico total

El carbono orgánico total (COT) se obtiene de la resta del Carbono Total (CT) y Carbono Inorgánico (CI). El CT se calcula mediante un detector de infrarrojo no dispersivo (NDIR), que cuantifica el dióxido de carbono resultante de una combustión de carbono (orgánico e inorgánico) por oxidación catalítica a 720° C (19.5 – 23.5% vol. de oxígeno) y, el CI contempla elementalmente el dióxido de carbono disuelto (carbonatos y bicarbonatos), obtenido de la acidificación de la muestra con ácido fosfórico, analizado por el NDIR. El equipo utilizado fue un Analizador de Carbono para líquidos (Shimadzu, modelo TOC-L CSH).

Las muestras fueron tomadas al finalizar las cinéticas de AME y BD, las cuales se filtraron con un filtro de membrana con una apertura de 0.45 µm.

Las curvas de calibración para cada parámetro se realizaron a partir de soluciones de 1000 (mg/L) (ver Tabla 11 y Anexo 3).

Tabla 11. Descripción de las curvas de calibración para CT y CI.

Parámetro	Reactivos	Rango	R ²
Carbono Total (CT)	Biftalato de potasio	0-1000 [mg/L]	0.9978
Carbono Inorgánico (CI)	Bicarbonato de sodio y carbonato de sodio	0-1000 [mg/L]	0.9995

Para la obtención de la fracción orgánica se utiliza la Ecuación 6:

$$\text{Ecuación 6: } COT = CT - CI$$

El porcentaje de remoción de COT se calculó con base en la Ecuación 7.

$$\text{Ecuación 7: \% Remoción de COT} = \frac{COT_{inicial}(\frac{mg}{L}) - COT_{final}(\frac{mg}{L}) \cdot 100}{COT_{inicial}(\frac{mg}{L})}$$

3.8.4 Cuantificación de antibióticos

La determinación de antibióticos se realizó por cromatografía líquida de ultra rendimiento (ultra performance liquid chromatography, UPLC) UPLC-MS/MS.

El método que se utilizó combina la cromatografía líquida con espectrometría de masas. Esta técnica analítica combina la capacidad de separación física de la cromatografía de líquidos con la capacidad de detección selectiva y confirmación de la identidad molecular del espectrómetro de masas. Por esta razón cuanta con alta sensibilidad y es capaz de detectar varios compuestos sin que sea una limitante limitada la volatilidad o la estabilidad térmica de los analitos.

Equipo utilizado: UPLC Acquity con detector Xevo TQD con modo de ionización por electropray (ESI+).

Cromatografía.

- Columna: Acquity BEH C18, 1.7 mcm, 2.1 x 50 mm.
- Fase móvil A: ácido fórmico 0.2 % en agua

- Fase móvil B: ácido fórmico 0.2 % en acetonitrilo.
- Tiempo de corrida 5.0 min
- Volumen de inyección: 10 µL
- Flujo: 0.3 mL/min.
- Gradiente: 0-0.5 min: 100 % A, Cl; 0.5-1.0 min: 75 % A, C6; 1.0-2.0 min: 55 % A, C8; 2.0-2.5 min 30 % A, C3; 2.5-3.0 min: 100 % A, C6; 3.0-5.0 min: 100 % A, Cl.

Espectrometría.

- Detección: MRM.
- Tilosina. Transición de cuantificación: 916.4384 > 100.9588; Cono 70 V, EC 56 V. Límite de detección (LD): 1.60 µg/L; Límite de cuantificación (LC): 4.85 µg/L.
- Tetraciclina. Transición de cuantificación: 445.4000 > 410.2000; Cono 22 V, EC 20 V. LD: 5.17 µg/L; LC: 10.64 µg/L.
- Oxitetraciclina. Transición de cuantificación: 461.2000 > 426.0800 Cono 22 V; EC 19 V. LD: 15.83 µg/L; LC: 47.97 µg/L.

3.8.5 Determinación de parámetros cinéticos e isothermas de sorción

Los parámetros de las cinéticas e isothermas de sorción fueron determinados de acuerdo con las ecuaciones detalladas en las Tablas 7 y 8, respectivamente. Y los ajustes se realizaron con la utilización del paquete Solver.

Para conocer la concentración de los antibióticos en al finalizar las 24 horas se utilizó la Ecuación 8.

$$\text{Ecuación 8: } q \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{(C_{\text{inicial}} - C_{\text{final}}) V}{m}$$

C_0 : concentración inicial del antibiótico ($\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$)

C_f : concentración final del antibiótico ($\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$)

V : concentración final del antibiótico (L)

m : masa del sorbent utilizada en los ensayos (g)

La remoción de cada sorbete se calculó mediante la Ecuación 9.

$$\text{Ecuación 9: } \% \text{ Remoción de antibiótico} = \frac{C_{\text{inicial}} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right) - C_{\text{final}} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right)}{C_{\text{inicial}} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right)} \times 100$$

3.8.6 Determinación de la concentración inhibitoria teórica.

La concentración inhibitorio-teórica se calculó con base a la Ecuación 9. Forma simplificada de la ecuación de Fountoulakis *et al.* (2008).

$$\text{Ecuación 9: } CI_{50} = (1 - 0.5^{\frac{1}{n}}) \cdot CI_{100}$$

n : constante

CI : concentración inhibitoria

3.8.7 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos realizados se hicieron en programa estadístico RStudio (ver Anexo 4).

Coeficiente de correlación: Un coeficiente de correlación, mide el grado de relación o asociación existente generalmente entre dos variables aleatorias. El coeficiente de correlación de Spearman es un coeficiente no paramétrico alternativo al coeficiente de correlación de Pearson. Esta es una técnica no paramétrica es libre de distribución probabilística. Los supuestos son menos estrictos, permite ciertos desvíos del patrón normal. La manifestación de una relación causa-efecto es posible sólo a través de la comprensión de la relación natural que existe entre las variables y no debe manifestarse sólo por la existencia de una fuerte correlación (Restrepo y González, 2007).

Análisis de Componentes Principales Es un análisis estadístico y constituye una de las técnicas multivariantes más conocidas y eficaz para reducir la dimensión d una matriz de datos de alta dimensión. Las componentes principales capturan secuencialmente la máxima variabilidad entre las columnas de X , lo que garantiza que haya una mínima pérdida de información. Además, permite transformar las variables originales, en general correlacionadas, en nuevas variables no correlacionadas, facilitando la interpretación de los datos.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EFECTO DE LOS ANTIBIÓTICOS EN UN CONSORCIO ANAEROBIO

4.1.1 *Biomasa sin aclimatación*

Las pruebas de actividad metanogénica específica y de biodegradabilidad (que es una variante de la primera) constituyen una herramienta útil para evaluar el comportamiento del lodo en presencia de compuestos inhibidores, como los antibióticos de estudio, y para observar los cambios en la actividad de la biomasa anaerobia (Hussain y Dubey, 2017).

Al evaluar la producción de metano para sustratos diferentes y con tres antibióticos de uso veterinario se observó que utilizando glucosa con la biomasa anaerobia sin adaptación a agua residual porcícola, no hay un efecto significativo cuando se aplicó tetraciclina (TCN) y la mezcla (MIX). A diferencia de cuando se aplicó oxitetraciclina (OTC) y tilosina (TYL), ya que la generación de metano inició lentamente a partir de las 100 horas y se alcanzó la máxima producción de metano aproximadamente a las 200 horas (ver Figura 9). Sin embargo, se observó que con dosis de 30 µg OTC/L y 45 µg TYL/L, la generación de metano es aún mayor que el ensayo control (Ctrl). Es importante resaltar que en esta cinética la producción endógena de metano (sin sustrato) después de 305 horas de llevado a cabo el experimento fue incluso mayor a la que se registró al utilizar glucosa como sustrato (ver Anexo 4). Por lo tanto, el sustrato glucosa no fue utilizado completamente limitando la actividad de los microorganismos, y es posible que este haya sido el motivo del mayor efecto inhibitorio de la TCN y del MIX, 100 % y 97.2 % respectivamente. Posiblemente la inhibición en la generación de metano puede deberse a que las tetraciclinas afectan la riqueza y diversidad de las comunidades de bacterias ya que estos antibióticos son de amplio espectro tanto para Gram positivas como para Gram negativas, incluyendo a las que intervienen en la digestión anaerobia, incluso bacterias del género *Clostridium* (necesarias para la hidrólisis de la materia orgánica), ya que este grupo de antibióticos inhiben el crecimiento de péptidos y tienen efecto en la síntesis de proteínas, lo que finalmente conduce a la muerte de las bacterias (Ke *et al.*, 2014; Yin *et al.*, 2016). Además, se observó que la toxicidad individual se mantiene en la mezcla. Sin embargo, no se observó el mismo efecto con la oxitetraciclina lo que muestra que el efecto inhibitorio se puede relacionar con el impacto de la tetraciclina en la hidrólisis de la materia orgánica, ya que en estudios realizados se ha observado que la tetraciclina no genera efectos negativos en la abundancia de arqueas metanogénicas por lo cual, el efecto inhibitorio no estaría relacionado con la metanogénesis (Bai *et al.*, 2019) .

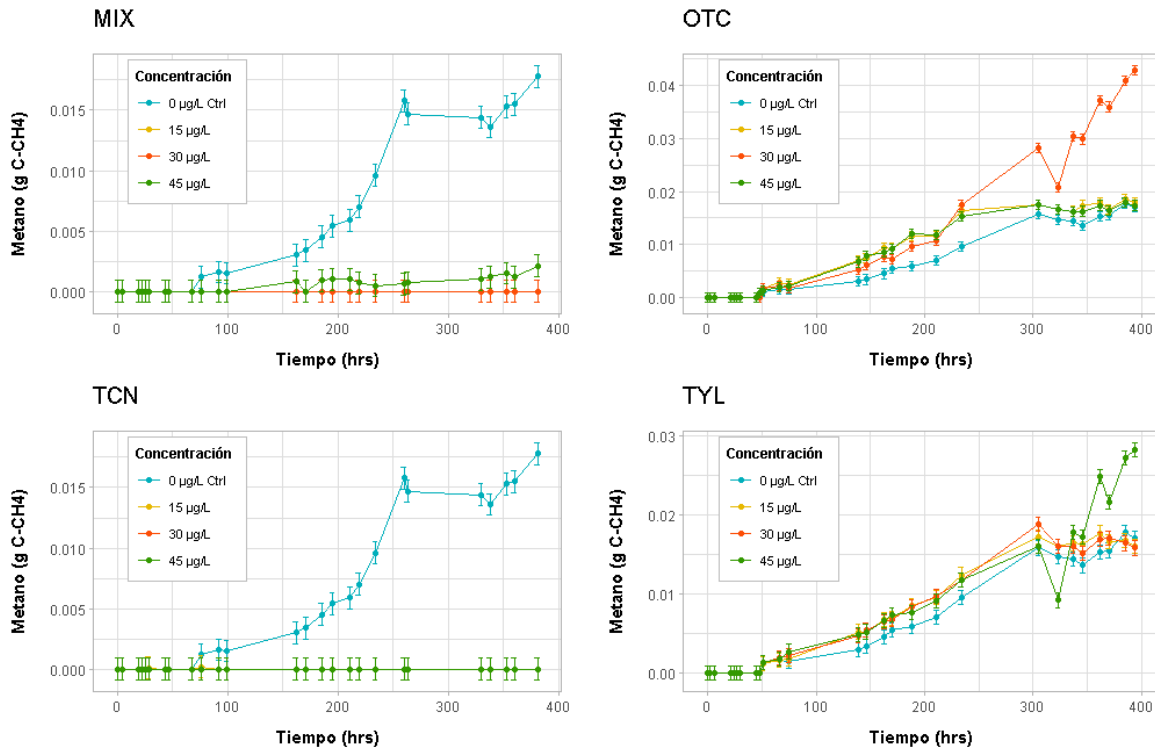


Figura 9. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC, TCN, TYL y MIX usando como sustrato glucosa:

Utilizando como sustrato H_2 y CO_2 se empieza a generar metano a partir de las primeras horas ya que la máxima producción de metano se alcanzó a las 30 horas para los dos antibióticos aplicados. Esto se debe a que este sustrato es considerado al igual que el ácido acético un precursor del metano (Colleran *et al.*, 1992) y no se observa diferencias significativas al aplicar cada antibiótico (ver Figura 10). En este caso se utilizaron únicamente OTC y TYL ya que, el ensayo con glucosa mostraba una inhibición total con TCN y MIX.

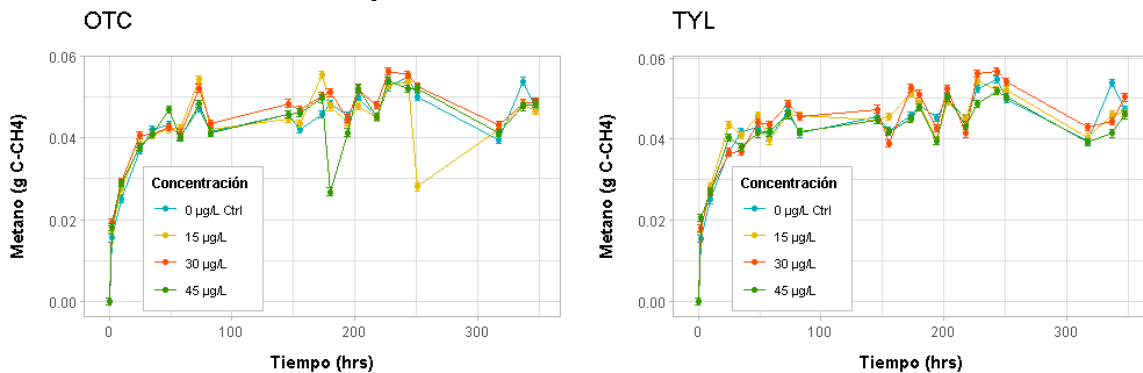


Figura 10. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC y TYL usando como sustrato H_2 y CO_2 .

Cuando es utilizado el ácido acético como sustrato se observa que entre mayor sea el tiempo de adaptación a las tetraciclinas (OTC y TCN) el efecto inhibitorio es menor. Pues, en presencia de estos antibióticos la generación de metano fue poco

significativa hasta las 50 horas, pero después de este tiempo se observa un incremento exponencial hasta las 150 horas. La TYL requirió un periodo de adaptación de 25 horas con dosis de 30 y 45 $\mu\text{g/L}$. Posterior a este periodo la producción máxima de metano fue similar a la del ensayo control, indicando que no hay inhibición en presencia del macrólido.

Cuando los antibióticos están en mezcla (MIX) la generación de metano empieza al igual que el ensayo sin antibióticos y va decayendo a partir de las 25 horas. Indicando que las tetraciclinas son las responsables de la inhibición la actividad metanogénica acetoclástica (ver Figura 11).

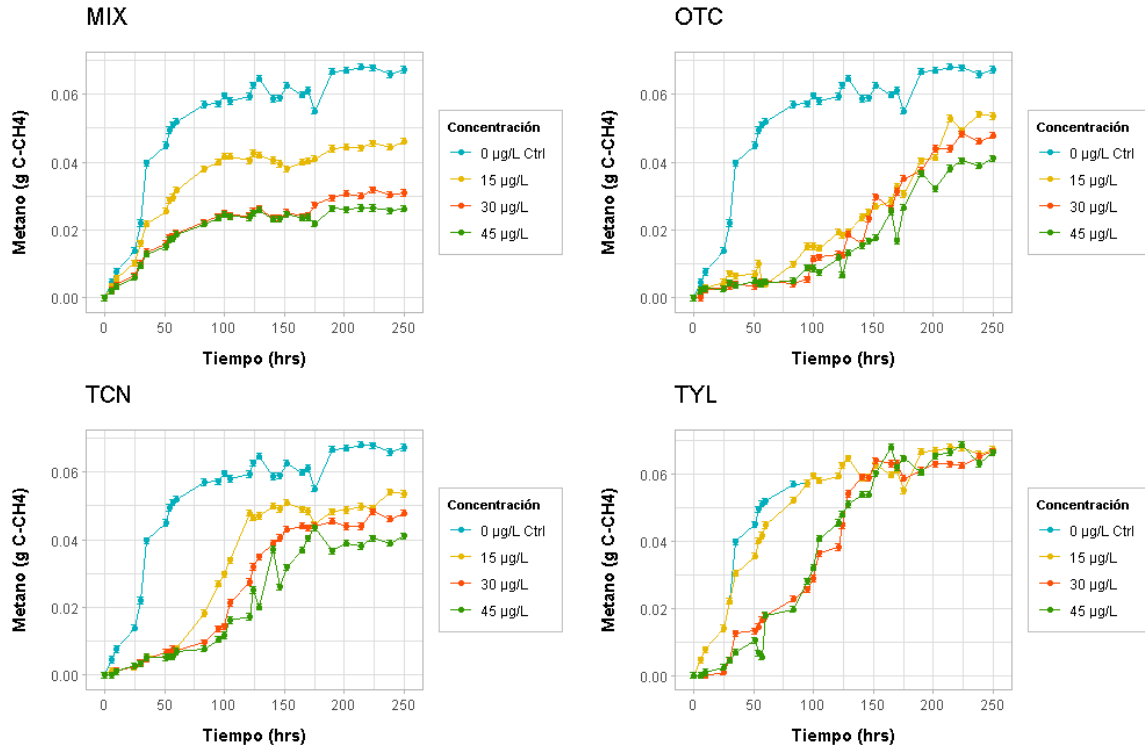


Figura 11. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC, TCN, TYL y MIX usando como sustrato ácido acético.

En el ensayo de biodegradabilidad con agua residual porcícola (ARP) se observa que cuando se aplica OTC, TCN el MIX a una dosis de 45 $\mu\text{g/L}$ la generación de metano es poco significativa hasta las 50 horas de llevado a cabo el experimento. Y la TYL no mostró cambios significativos para esta biomasa. Estos datos son similares a los observados cuando el sustrato utilizado es ácido acético.

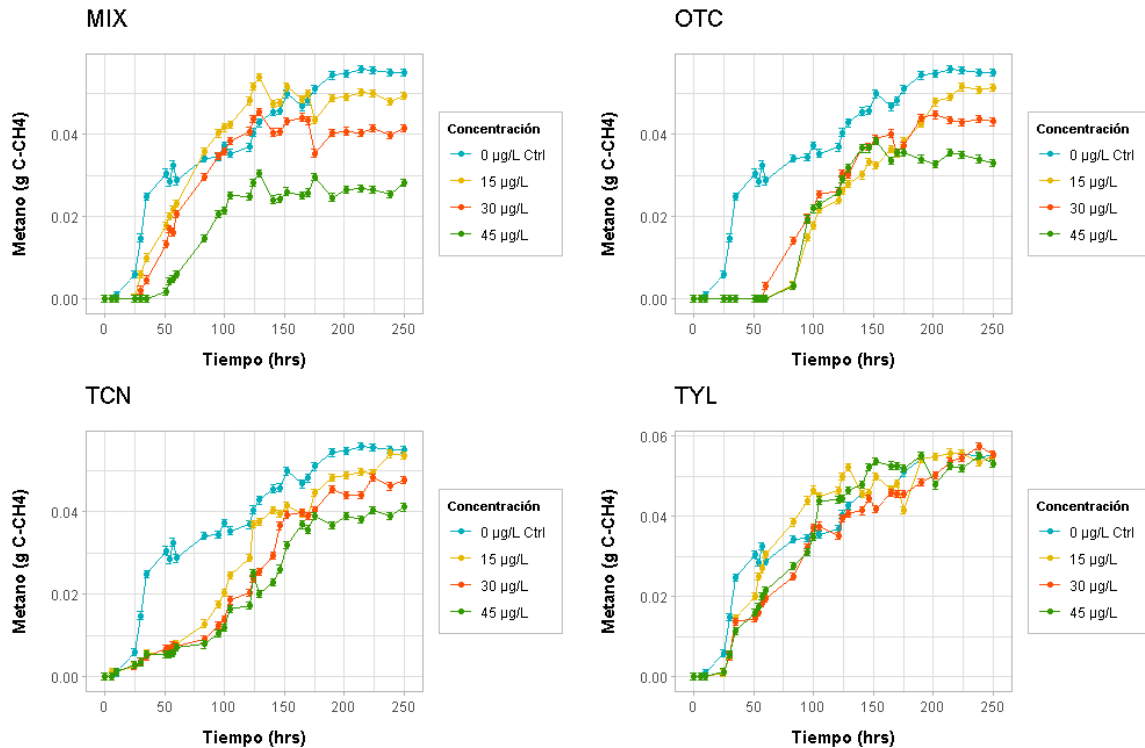


Figura 12. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC, TCN, TYL y MIX usando como sustrato agua residual porcícola.

En la Tabla 12 se muestran los valores de actividad metanogénica donde se observa que en los ensayos control usando H_2 y CO_2 , ácido acético y agua residual porcícola muestra similitud con un promedio de 0.1870 ± 0.0236 g C- CH_4 /g SSV·d. Estos valores están dentro de los reportados que están en el rango de 0.04875 y 0.151875 g C- CH_4 /g SSV·d (Gonzalez-Tineo *et al.*, 2020; Hussain y Dubey, 2017). El valor obtenido en el ensayo control es similar (0.0102 g C- CH_4 /g SSV·d) a los reportados en la literatura (0.0131 g C- CH_4 /g SSV·d) (Tay *et al.*, 2001). Además, la evaluación con varios sustratos muestra que tanto glucosa como ARP son los que menor velocidad máxima de producción de metano alcanzan, lo cual también repercute cuando se adiciona antibióticos ya que utilizando como sustrato glucosa la velocidad máxima de producción de metano disminuye a 0.0000 g C- CH_4 /g SSV·d con 15, 30 y $45 \mu\text{g/L}$ de TCN y MIX, es decir, el consorcio anaerobio deja de tener la capacidad de convertir el sustrato en metano. Este efecto también se puede observar con el ácido acético pues, las velocidades máximas de producción de metano decaen a medida que la dosis de antibiótico aumenta siendo 0.0454 y 0.0628 g C- CH_4 /g SSV·d las menores velocidades alcanzadas por la adición de $45 \mu\text{g/L}$ de OTC y MIX. En la biodegradabilidad se observan efectos similares ya que las velocidades máximas de producción de metano también se ven afectadas por las tetraciclinas cuando se aplica la dosis de $45 \mu\text{g/L}$, indicando así que la susceptibilidad del efluente cuando es tratado por vía anaerobia es alta cuando las tetraciclinas son adicionadas tanto individualmente como en mezcla con un macrólido.

Tabla 12. Valores de actividad metanogénica específica y biodegradabilidad utilizando distintos sustratos.

S	A	Concentración (µg/L)							
		0		15		30		45	
		\bar{y}	s^2	\bar{y}	s^2	\bar{y}	s^2	\bar{y}	s^2
AME (g C- CH₄/g SSV·d)									
Glucosa	OTC			0.0127 ± 0.0008	0.0139 ± 0.0013	0.0132 ± 0.0008			
	TCN	0.0102 ± 0.0001		0.0000 ± NA	0.0000 ± NA	0.0000 ± NA			
	TYL			0.0120 ± 0.0005	0.0124 ± 0.0001	0.0108 ± 0.0006			
	MIX			0.0000 ± NA	0.0000 ± NA	0.0008 ± NA			
H ₂ - CO ₂	OTC			0.1909 ± 0.0075	0.1912 ± 0.0036	0.1882 ± 0.0002			
	TYL	0.2000 ± 0.0084		0.2016 ± 0.0138	0.1704 ± 0.0115	0.1773 ± 0.0085			
Ácido acético	OTC			0.0732 ± 0.0023	0.0634 ± 0.0083	0.0454 ± 0.0071			
	TCN	0.2072 ± 0.00549		0.0994 ± 0.0011	0.0952 ± 0.0049	0.0860 ± 0.0020			
	TYL			0.1209 ± 0.0019	0.1168 ± 0.0057	0.1112 ± 0.0072			
	MIX			0.0837 ± 0.0005	0.0628 ± 0.0003	0.0628 ± 0.0006			
BD (g C- CH₄/g SSV·d)									
Agua residual porcícola	OTC			0.0580 ± 0.0011	0.0561 ± 0.0083	0.0761 ± 0.0005			
	TCN	0.1539 ± 0.00497		0.0996 ± 0.0045	0.0944 ± 0.0062	0.0751 ± 0.0013			
	TYL			0.1455 ± 0.0062	0.0913 ± 0.0002	0.0947 ± 0.0004			
	MIX			0.1237 ± 0.0028	0.1131 ± 0.0071	0.0905 ± 0.0011			

S: sustrato

A: antibiótico

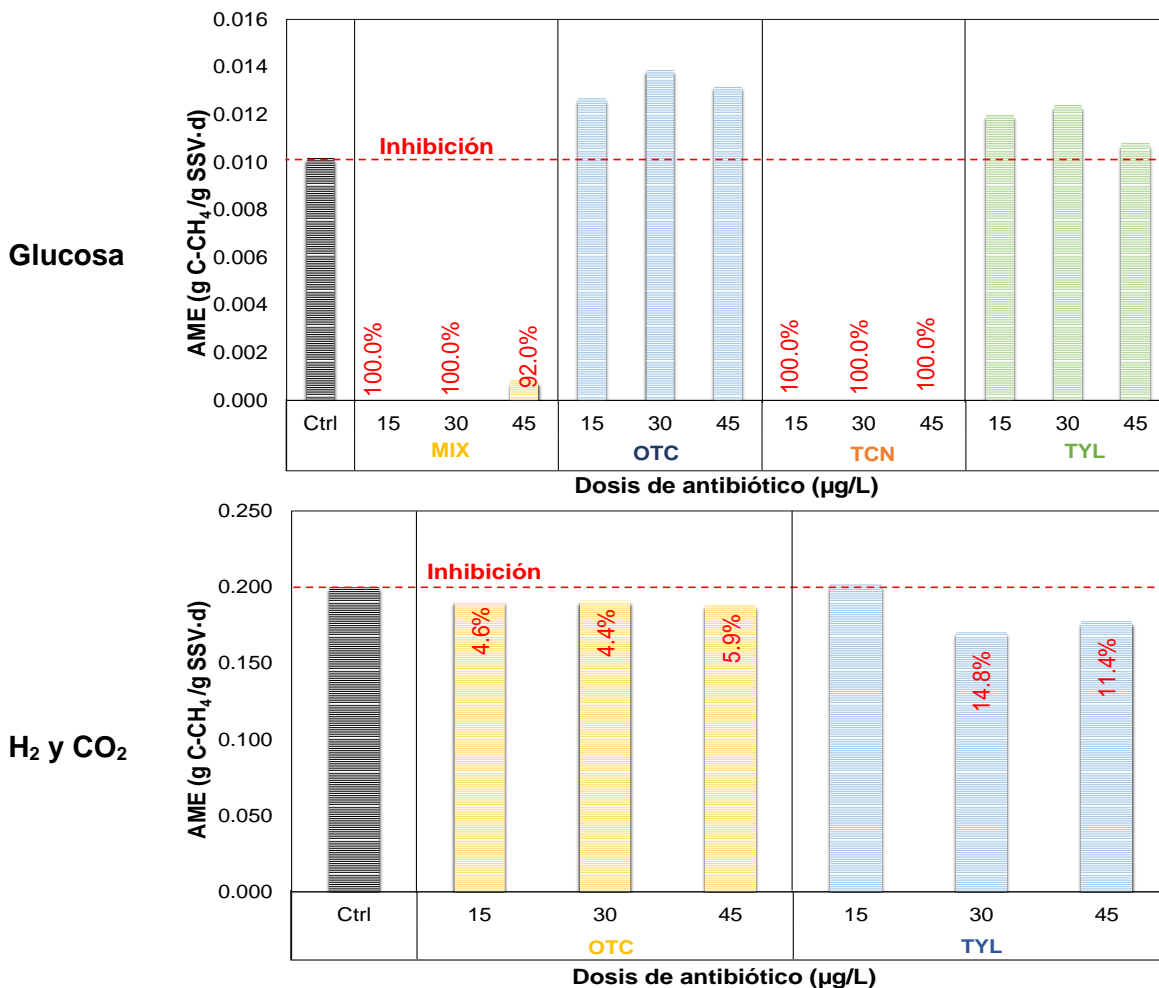
NA: no aplica porque la réplica es menor a la cantidad observada

A partir de los ensayos control se obtuvo el porcentaje de inhibición de la actividad metanogénica específica y la biodegradabilidad (ver Figura 13). La inhibición de la actividad metanogénica causada por la presencia de antibióticos puede estar relacionada con la afinidad de estos por los sólidos en suspensión, particularmente de las tetraciclinas, la permanencia de estos antibióticos en la fase sólida dificulta su biodegradación ya que provoca que la fracción disponible en la fase líquida sea baja durante el tratamiento anaerobio (Álvarez *et al.*, 2010).

Se ha observado que la presencia de TCN y OTC tanto individualmente como en mezcla causa efectos negativos en la generación de metano, lo cual podría deberse a que las tetraciclinas tienden a acumularse en sistemas agua-sedimento y, son muy persistentes en los residuos de los animales de granja (Boxall *et al.*, 2004; Q. Chen *et al.*, 2017). También se ha observado que las tetraciclinas causan efectos negativos en sistemas anaerobios (Gao *et al.*, 2018), cuando se encuentran en dosis de 8500 µgTCN/L, ya que llegan incluso a parar la actividad metabólica en un reactor anaerobio y disminuyen en un 91.7 % la producción de biogás (Z. Cetecioglu *et al.*, 2013). Otros estudios muestran que las tetraciclinas pueden inhibir la producción de metano tanto en reactores anaerobios en continuo como en lote, sin embargo, (Arikan *et al.*, 2006) reportan que con una dosis de 204.4 mg TCN/L se inhibe hasta un 62 % la producción de metano. En dosis más bajas 250 µg TCN/L la tetraciclina tuvo un efecto negativo en la generación de CH₄ y CO₂ en un reactor continuo (Lu *et al.*, 2016). En el caso de la oxitetraciclina, la inhibición de generación

de metano puede llegar a ser de 45.2 % a una concentración de 10 mg/L y en mezcla con otra tetraciclina (10 mg/L de clortetraciclina) bajo condiciones anaerobias y mesofílicas, en residuos porcinos con un inóculo de cervecera (Álvarez *et al.*, 2010). Otro estudio mostró que con concentraciones menores a 40 µg/L hubo inhibición de la producción de metano en un 10 % usando un inóculo de lechería bajo condiciones anaerobias y mesofílicas (Andriamanohiarisoamanana *et al.*, 2020). Sin embargo, estas concentraciones inhibitorias son superiores a las utilizadas en el presente estudio lo que muestra que los antibióticos de uso veterinario pueden inhibir la producción de metano incluso a concentraciones < 50 µg/L.

Los efectos inhibitorios en la biomasa no aclimatada se pueden atribuir a que algunos antibióticos pueden limitar la producción de los AGVs y como se ha observado este proceso puede influir en las rutas de degradación (Bai *et al.*, 2019; Lins *et al.*, 2015)



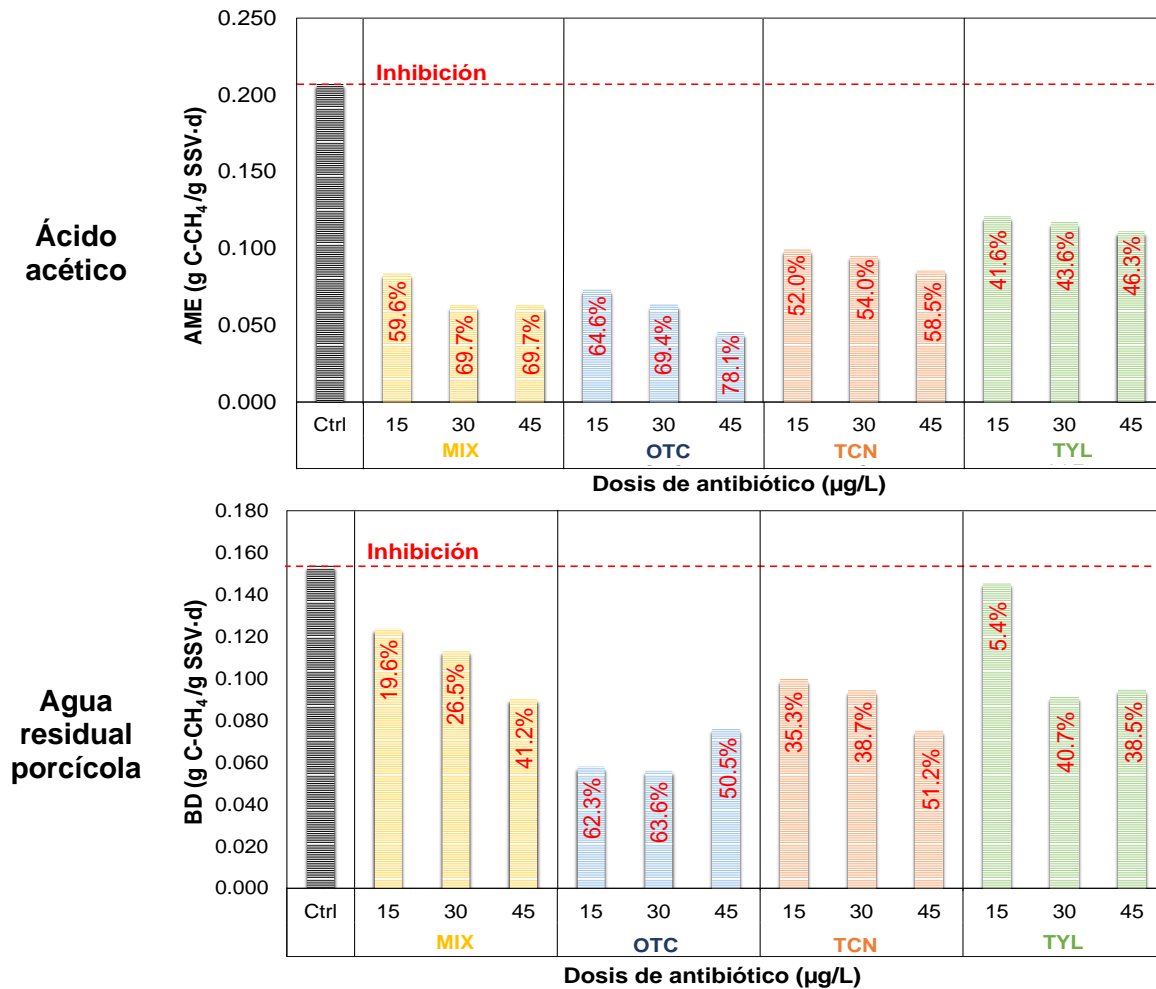


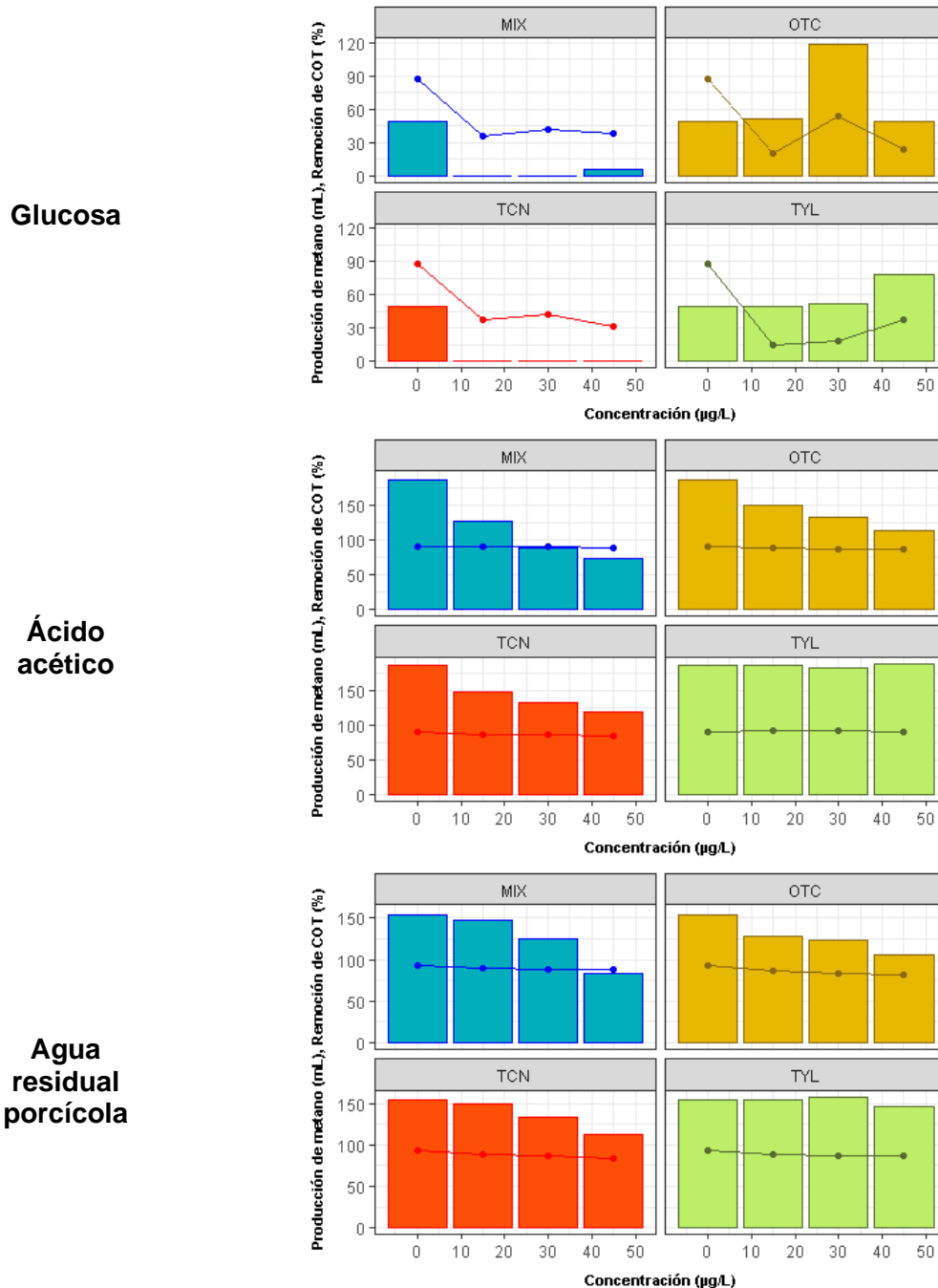
Figura 13. Porcentajes de inhibición de las actividades metanogénica resultantes de la aplicación de antibióticos de uso veterinario en biomasa anaerobia sin aclimatación a ARP con diferentes sustratos.

La Figura 14 muestra la relación entre la producción máxima de metano y el consumo de carbono orgánico total (COT), donde se observa que el consumo de COT fue superior al 90% en todos los ensayos control para todos los sustratos utilizados, pero hubo diferencias significativas para cada antibiótico.

En el caso de TCN y MIX pese a que no hay generación de metano el consumo de carbono está en el rango de 30 a 40 %, lo cual puede ser un indicador de parte de la biomasa se puede mantener activa e incluso puede generar resistencia a este antibiótico y posteriormente no mostrar ningún efecto inhibitorio (Z. P. Zhang *et al.*, 2007).

Además, la TCN ha mostrado que inhibe la remoción de macrocontaminantes, como la materia orgánica medida como DQO, en condiciones anaerobias y mesofílicas, según estudios realizados (Z. Cetecioglu *et al.*, 2013; Lu *et al.*, 2016) en agua residual sintética.

Por otro lado, con OTC y TYL la remoción de COT cuando el sustrato es glucosa está bajo el 50 % pero los valores máximos de metano obtenidos fueron iguales o superiores a los del ensayo control, mostrando que estos antibióticos pueden tener un efecto favorecedor en la producción máxima de metano.



Remoción de COT (%)
 Producción de metano^a (mL)
^a Valores convertidos de acuerdo a la Ecuación 5.

Figura 14. Remoción de COT (%) y producción de metano (mL) en biomasa sin aclimatación a ARP y expuesta a antibióticos.

La producción máxima de metano se observa en la Tabla 13. Cuando los sustratos fueron ácido acético y ARP la presencia de tetraciclinas reduce entre 20.5 a 35.9 % la máxima producción de metano en comparación con el control, siendo el efecto más notorio cuando se aplica la mezcla de antibióticos que logra inhibir hasta el 61 % la máxima producción de metano en una dosis de 45 µg/L. Este comportamiento es diferente cuando se utiliza tilosina, ya que no se observó cambios significativos en la producción máxima de metano.

El efecto inhibitorio se acentúa más cuando el sustrato utilizado es glucosa pues se llega a inhibiciones hasta del 100 %. Por otro lado, con H₂ y CO₂ no se observó cambios significativos en los antibióticos analizados. Este contraste se debe a que la glucosa es un sustrato que conlleva otras etapas para su degradación y el segundo sustrato es un precursor del metano.

Tabla 13. Porcentaje de inhibición en la producción máxima de metano en biomasa anaerobia sin aclimatación a ARP.

Dosis (µg/L)	Antibiótico	[%]			
		Glucosa	Ácido acético	ARP	H ₂ y CO ₂
15	OTC	-	20.5	16.6	-
	TCN	98.9	20.5	3.3	SD
	TYL	0.5	-	-	0.2
	MIX	100.0	32.1	3.6	SD
30	OTC	-	29.1	19.9	-
	TCN	98.9	29.1	13.7	SD
	TYL	-	1.9	-	-
	MIX	100.0	53.1	18.9	ND
45	OTC	-	39.6	31.2	1.2
	TCN	100.0	35.9	26.5	SD
	TYL	-	-	5.1	5.1
	MIX	87.9	61.0	45.5	SD

Los porcentajes que no se muestran en la tabla se debe a que no hubo inhibición en la producción máxima de metano.

SD: sin datos debido a que el experimento no se realizó con esos antibióticos.

Las actividades metanogénicas específicas y las biodegradabilidades halladas muestran que la TCN y la OTC en biomasa anaerobia granular sin adaptación a agua residual porcícola afectan tanto la velocidad como la producción máxima de metano, es decir, las tetraciclinas muestran un efecto inhibitorio. Por tanto, las tetraciclinas también son responsables del efecto inhibitorio cuando los antibióticos están en mezcla ya que el macrólido no mostró efectos inhibitorios individualmente en la mayoría de los sustratos utilizados.

Los experimentos realizados en agua residual porcícola muestran que las tetraciclinas son el grupo que más afecta la producción de metano y en menor proporción la tilosina.

El macrólido no mostró inhibición significativa en la producción de metano, este comportamiento también ha sido observado en un reactor anaerobio por lotes en serie (ASBR, por sus siglas en inglés) donde el inóculo fue biomasa que no ha tenido contacto con ARP pero el reactor fue alimentado con ARP y posteriormente se le aplicó una dosis de 1.6 mg TYL/L (Angenent *et al.*, 2008).

4.1.2 Biomasa aclimatada

Los experimentos con biomasa anaerobia aclimatada a agua residual porcícola se realizaron con ácido acético y agua residual porcícola ya que los resultados obtenidos anteriormente entre estos dos sustratos fueron semejantes, es decir, el efecto inhibitorio que pudieran tener los antibióticos en un agua residual porcícola real se puede observar también con ácido acético.

La actividad metanogénica específica con ácido acético como sustrato comienza en las primeras horas y alcanza la máxima producción de metano a partir de las 50 horas para OTC, TCN y MIX. El antibiótico que influyó en la generación de metano fue tilosina con dosis de 30 y 45 $\mu\text{g/L}$ y la mezcla de antibióticos (MIX) cuando la dosis fue de 45 $\mu\text{g/L}$ (ver Figura 15). Existen evidencias de que este macrólido inhibe la degradación de los ácidos grasos volátiles como el butírico y propiónico. Al igual que las tetraciclinas la tilosina tiene un amplio espectro de actividad contra los organismos Gram positivos, pero una gama limitada de organismos Gram negativos, lo que afecta únicamente a las bacterias responsables de la producción de los ácidos grasos volátiles (Yin *et al.*, 2019; X. Zhang *et al.*, 2019).

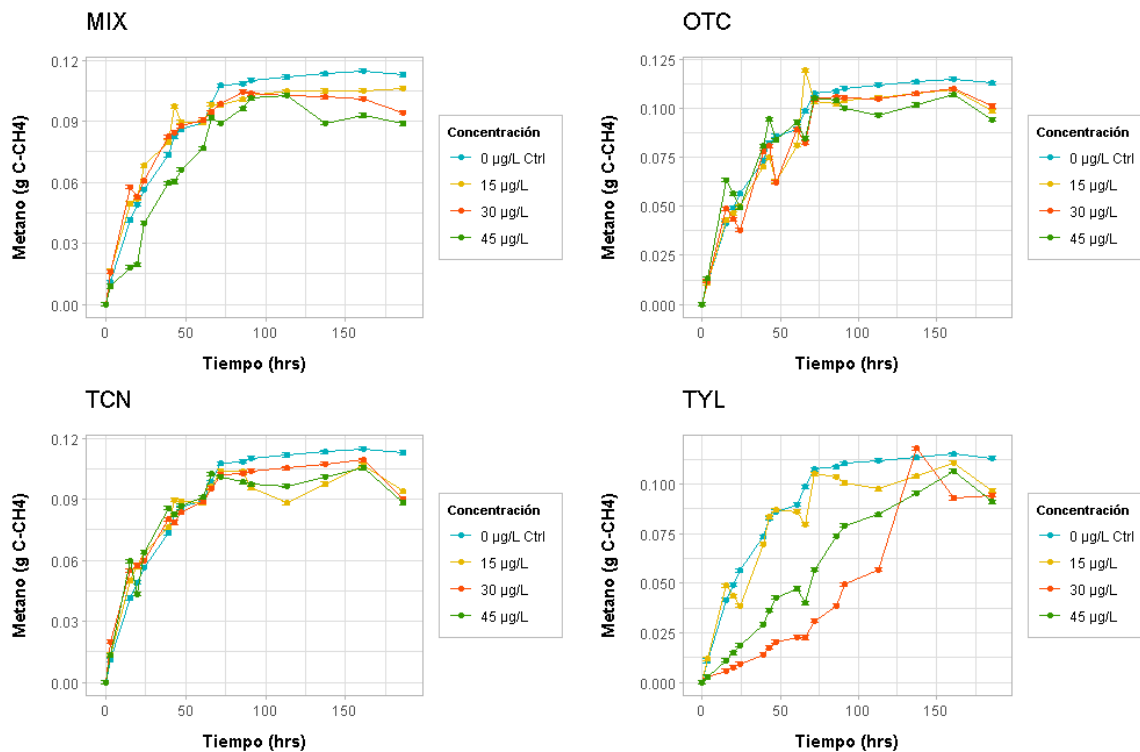


Figura 15. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC, TCN, TYL y MIX usando como sustrato ácido acético en biomasa aclimatada.

Por otro lado, el experimento de biodegradabilidad con biomasa aclimatada se observa que la máxima producción de metano a partir de las 150 horas, pero muestra el mismo comportamiento que al utilizar ácido acético ya que el macrólido sigue siendo el antibiótico que tiene un efecto inhibitorio en la generación de metano. Sin embargo, también se observa este efecto, aunque en menor grado cuando los antibióticos están en mezcla (ver Figura 16).

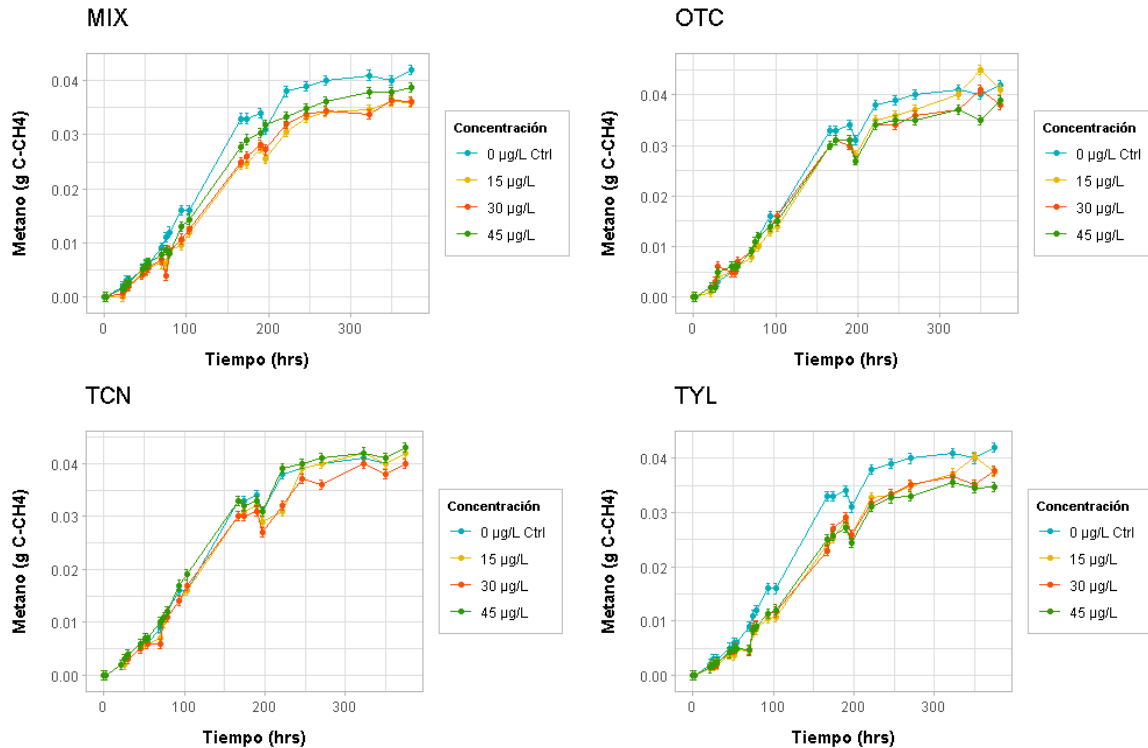


Figura 16. Evolución de la producción de metano en presencia de antibióticos de uso veterinario OTC, TCN, TYL y MIX usando como agua residual porcícola en biomasa aclimatada.

Por otro lado, los valores obtenidos de AME con ácido acético como sustrato y de biodegradabilidad se muestran en la Tabla 14. Se observó el valor de la AME sin antibióticos es de 0.1021 ± 0.0043 gC- CH₄/g SSV•d menor al encontrado en el ensayo con biomasa no aclimatada 0.2072 ± 0.0056 gC- CH₄/g SSV•d. En el caso del valor de BD (0.0225 ± 0.0015 gC- CH₄/g SSV•d) este es superior al encontrado con biomasa sin aclimatación (0.1539 ± 0.0067 gC- CH₄/g SSV•d), en la literatura se han reportado valores menores (0.0637 gC- CH₄/g SSV•d) utilizando biomasa aclimatada a ARP (García-Sánchez, 2015). Sin embargo, se observó inhibición de la producción de metano en ambos casos.

Tabla 14. Valores de actividad metanogénica específica y biodegradabilidad utilizando distintos sustratos.

S	A	Concentración (µg/L)							
		0		15		30		45	
AME (gC- CH ₄ /g SSV•d)									
		\bar{y}	s^2	\bar{y}	s^2	\bar{y}	s^2	\bar{y}	s^2
Ácido acético	OTC			0.1487 ± 0.0150		0.1300 ± 0.0082		0.1282 ± 0.0062	
	TCN	0.1431 ± 0.0043		0.1329 ± 0.0068		0.1248 ± 0.0088		0.1351 ± 0.0082	
	TYL			0.1323 ± 0.0058		0.0935 ± NA		0.0832 ± 0.0062	
	MIX			0.1958 ± 0.0047		0.1371 ± NA		0.1353 ± 0.0073	
BD (gC- CH ₄ /g SSV•d)									
		\bar{y}	s^2	\bar{y}	s^2	\bar{y}	s^2	\bar{y}	s^2
Agua residual porcícola	OTC			0.0207 ± 0.0011		0.0201 ± 0.0010		0.0217 ± 0.0001	
	TCN	0.0225 ± 0.0015		0.0202 ± 0.0022		0.0174 ± 0.0005		0.0220 ± 0.0008	
	TYL			0.0169 ± 0.0016		0.0170 ± 0.0013		0.0172 ± 0.0007	
	MIX			0.0163 ± 0.0027		0.0168 ± 0.0003		0.0184 ± 0.0001	

S. sustrato

A: antibiótico

NA: no aplica porque a réplica es menor a la cantidad observada

Se puede observar que la mayor inhibición la actividad metanogénica se dio con la tilosina, cuando la biomasa está aclimatada (ver Figura 17). En el caso de la actividad metanogénica acetoclástica la inhibición puede deberse a que la tilosina es un macrólido que actúa como inhibidor de síntesis de proteínas de microorganismos Gram positivos, y se ha reportado que las arqueas metanogénicas acetoclásticas (*Methanosaeta*, *Methanosarcina*, y *Methanotherix*) presentan una estructura celular similar a estas bacterias, lo que puede llevar a un comportamiento similar frente a la tilosina (Khelaifia y Drancourt, 2012); Para la biodegradabilidad, la inhibición en la producción de metano posiblemente se deba a que estos antibióticos inhiben a los microorganismos acidogénicos responsables de la producción y aprovechamiento de los ácidos grasos volátiles (Bai *et al.*, 2019; Z. Zhang *et al.*, 2018).

Los valores de inhibición encontrados coinciden con los reportados por García L (2015) que a dosis de 10 y 50 µg/L inhibe la AME 49 % y 63 %, respectivamente. La disminución de la generación de metano por la presencia de este macrólido se ha observado en ensayos en lote pero las dosis varían entre 1.67 mg/L a 167 mg/L en un reactor ASRB (Shimada *et al.*, 2008).

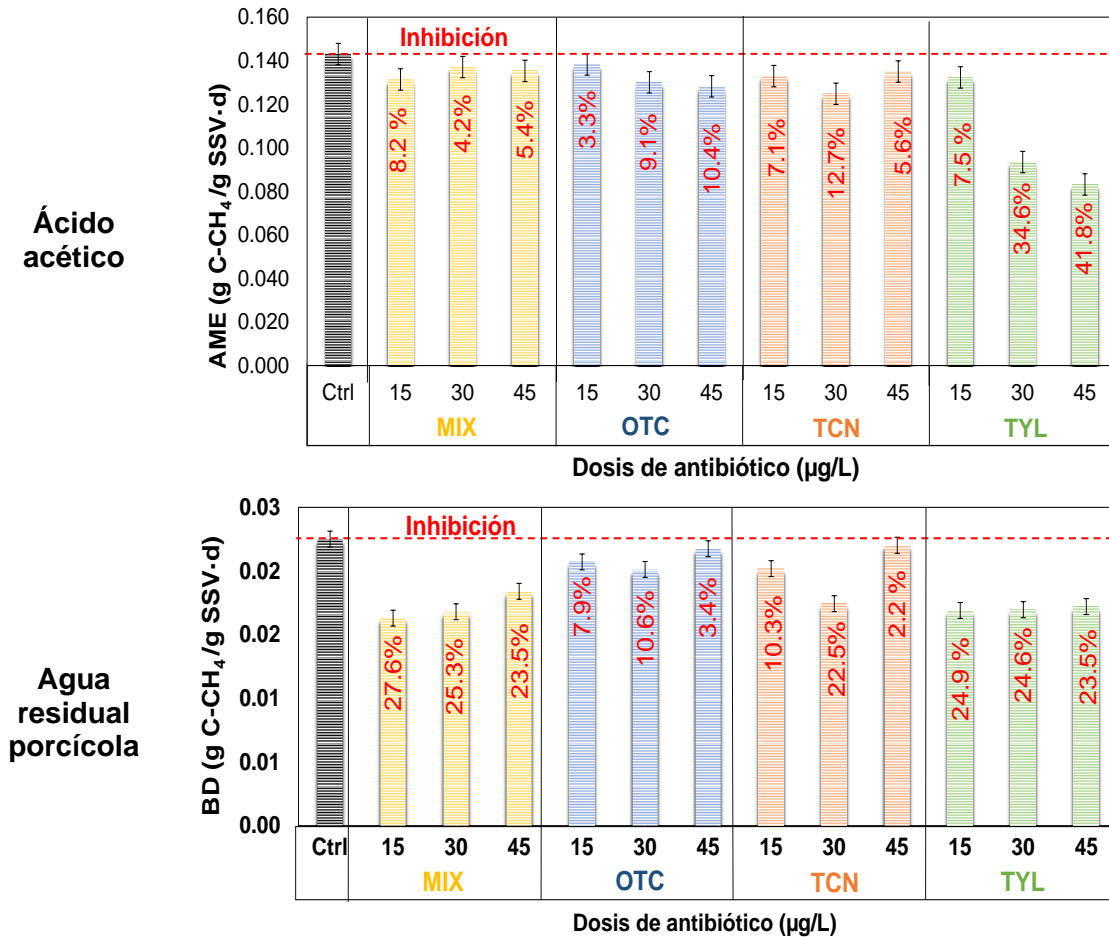


Figura 17. Porcentajes de inhibición de las actividades metanogénica resultantes de la aplicación de antibióticos de uso veterinario en biomasa anaerobia con aclimatación a ARP con diferentes sustratos.

En la biomasa aclimatada a agua residual porcícola la TYL es el único antibiótico que muestra un efecto negativo en la producción de metano ya que cuando la remoción de COT se reduce en un 19.5%, también la producción de metano disminuye de 315.8 a 258.8 mL (ver Figura 18), por lo tanto, se observa que solo el macrólido es capaz de disminuir el consumo de carbono orgánico.

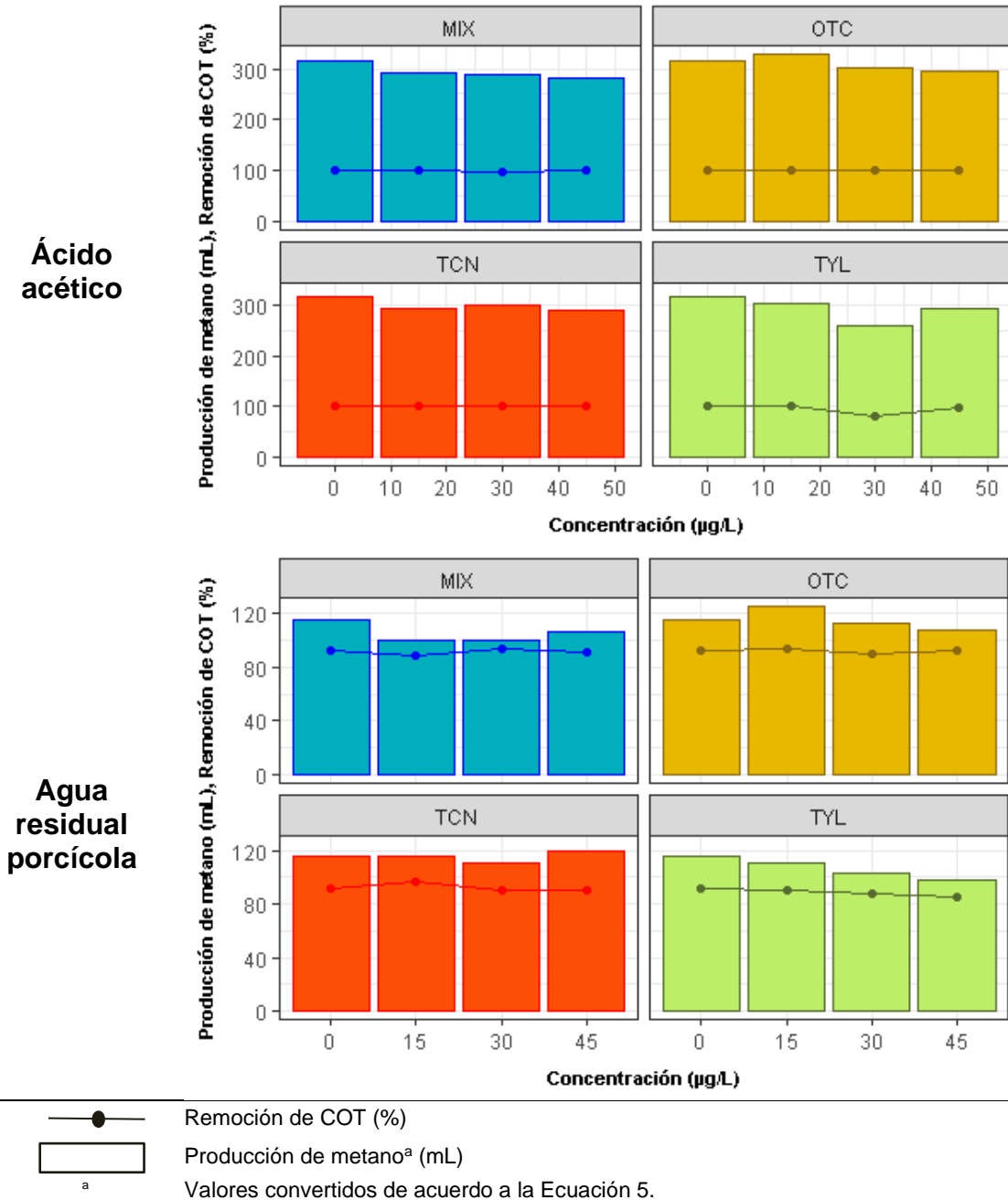


Figura 18. Remoción de COT (%) y producción de metano (mL) en biomasa aclimatada a ARP y expuesta a antibióticos.

Se ha observado que la aclimatación disminuye el efecto inhibitorio de las tetraciclinas sustancialmente como se observa en la Tabla 15. Esto se puede deber a que exista una menor inhibición de la máxima producción de metano cuando la biomasa a estado expuesta presuntamente a antibióticos con anterioridad (Z. Zhang *et al.*, 2018) .En contraste el efecto del macrólido en la generación de metano es negativo pues, disminuye la producción de metano..

Tabla 15. Porcentaje de inhibición en la producción máxima de metano en biomasa anaerobia con aclimatación a ARP.

Dosis ($\mu\text{g/L}$)	Antibiótico	[%]	
		AA	ARP
15	OTC	-	-
	TCN	7.1	0.5
	TYL	3.7	4.3
	MIX	7.7	13.9
30	OTC	4.3	3.1
	TCN	4.8	4.9
	TYL	18.1	10.6
	MIX	9.2	13.5
45	OTC	6.9	7.5
	TCN	8.2	-
	TYL	7.3	15.2
	MIX	10.6	7.9

Los porcentajes que no se muestran en la tabla se debe a que no hubo inhibición en la producción máxima de metano.

La Tabla 16., muestra las correlaciones entre el consumo de COT y la producción máxima de metano siendo las más significativas (> 0.8), las obtenidas con TCN y OTC cuando el sustrato es ácido acético y agua residual porcícola, y el MIX cuando los sustratos son glucosa y ácido acético. Esto muestra que el contacto inicial con las tetraciclinas inhibe el proceso de producción de metano lo cual puede evidenciar que grupos de bacterias y arqueas están involucradas en la degradación de materia orgánica y, que éstas dependen del sustrato utilizado (Ke *et al.*, 2014). Sin embargo, la presencia continua de estos antibióticos en el agua residual porcícola podría causar que el consorcio anaerobio no se vea limitado, en este caso por las tetraciclinas como se observa cuando la biomasa es aclimatada a agua residual porcícola. Por otro lado, cuando la biomasa esta aclimatada las correlaciones significativas ocurrieron únicamente con el macrólido indicando que pese, a la aclimatación el macrólido afecta el consumo de materia orgánica y la producción máxima de metano.

Tabla 16. Correlaciones existen entre el consumo de carbono y la producción de máxima de metano.

Influencia		Biomasa sin aclimatación			Biomasa aclimatada	
		G	ARP	AA	ARP	AA
Dosis		NS	0.7	0.7	NS	0.6
Antibiótico	TCN	0.9	1.0	1.0	NS	NS
	OTC	NS	1.0	1.0	NS	NS
	TYL	NS	NS	NS	1.0	0.9
	MIX	0.6	NS	0.8	NS	0.7

NS: se refiere a los análisis de Spearman que no muestran una correlación significativa (> 0.8) o aceptable (0.6 - 0.7).
G: Glucosa; ARP: Agua residual porcícola; AA: Ácido acético

4.1.3 *Análisis cinético de la inhibición de los antibióticos*

La dosis de inhibición CI_{50} se muestran en la Tabla 17. Para TYL en biomasa no aclimatada es de 44.0 $\mu\text{g/L}$, valor superior a la OTC y cercano al de la TCN. Esto significaría que para la inhibición de la actividad metanogénica al 50 % es necesario menos de 100 $\mu\text{g/L}$ de OTC, TCN o TYL. Sin embargo, cuando los antibióticos están en mezcla este fenómeno difiere dependiendo del sustrato utilizado pues, se puede observar inhibición a una dosis de 19.2 $\mu\text{g/L}$ con ácido acético y para agua residual porcícola a una dosis 83.9 $\mu\text{g/L}$.

Para la biomasa aclimatada a agua residual porcícola no fue posible encontrar dosis que inhibieran el 50 % de la actividad metanogénica tanto en la AME como en la BD, con excepción de la TYL. Esto se debe a que los efectos inhibitorios de las tetraciclinas disminuyeron significativamente cuando se utilizó biomasa aclimatada a agua residual porcícola.

La exposición a largo plazo de antibióticos presentes en agua residual porcícola puede ser un factor determinante en la aclimatación de la biomasa anaerobia a través del desarrollo de resistencia a este antibiótico o a un cambio de la comunidad microbiana hacia los microorganismos menos sensibles (Shimada *et al.*, 2008).

Tabla 17. Dosis para inhibición del 50 % de la actividad metanogénica y biodegradabilidad de cada antibiótico.

Ensayo	CI_{50} ($\mu\text{g/L}$)			
	OTC	TCN	TYL	MIX
AME ^a	3.8	37.0	44.0	19.2
AME ^b	-	-	54.1	-
BD ^a	2.9	45.7	-	83.9
BD ^b	-	-	-	-

a: biomasa sin aclimatación
b: biomasa aclimatada

Las dosis teóricas para la inhibición del 50 % de la actividad metanogénica se determinaron de acuerdo a la *Ecuación 9* y, fueron similares a los obtenidos experimentalmente en biomasa sin aclimatación, mostrando que estos valores son

válidos solo para tetraciclinas y la mezcla de antibióticos. (ver Tabla 18) Por lo que, solo permite predecir las dosis inhibitorias (50%) de la TCN y MIX en ciertas condiciones (ver Anexo 5).

Tabla 18. Dosis para inhibición teórica del 50 % de la actividad metanogénica y biodegradabilidad de cada antibiótico.

	CI ₅₀ teórica (µg/L)
OTC	26.4
TCN	44.7
TYL	76.1
MIX	25.7

CI: Concentración Inhibitoria:

4.1.4 *Análisis de componentes principales*

El análisis de componentes principales, ACP, se realizó considerando las contribuciones más representativas de las principales variables de respuesta y se utilizó en paquete informático R studio y las bibliotecas ggplot y FactoMineR.

Para la cinética de actividad metanogénica acetoclástica, las principales contribuciones para la Dim. 1 (eje x) fueron para la producción máxima de metano (31.2%) y remoción de COT (28.4%), para la Dim.2 (eje y) fueron la dosis aplicada (45.1%) y remoción de COT (21.6%). Se puede observar que gráficamente se tuvo un agrupamiento a la dosis (cuadrante inferior derecho; Figura 19a) y a la actividad metanogénica específica, AME, (cuadrante superior derecho; Figura 19a) cuando la biomasa no está aclimatada a agua residual porcícola y el sustrato utilizado en ácido acético. Sin embargo, cuando la biomasa se encuentra aclimatada el ACP se asocia a la producción máxima de metano y remoción de COT (cuadrante inferior izquierdo; Figura 19 b).

En el caso de la biodegradabilidad, donde el sustrato es agua residual porcícola el ACP difiere del anterior ya que las contribuciones principales en la Dim. 1 fueron para la producción máxima de metano (37.4 %), dosis (26.5 %) y BD (28.0 %), para la Dim. 2 fue la remoción de COT (51.1 %). Es importante la aclimatación de la biomasa ya que las contribuciones por cada variable son diferentes cuando no existe aclimatación pues, los ensayos se agrupan principalmente por la BD y la producción máxima de metano (cuadrante inferior izquierdo; Figura. 19 b). Lo contrario sucede cuando la biomasa esta aclimatada ya que los ensayos se agrupan en función de la remoción de COT y de la dosis aplicada (cuadrante superior derecho; Figura 19 b).

Las variables utilizadas en el experimento (AME, BD, remoción de COT y producción máxima de metano) para evaluar el efecto de los antibióticos de uso veterinario con un sustrato fácil de degradar como el ácido acético por vía acetoclástica y otro como el agua residual porcícola, sustrato más complejo para degradar mostraron distintos comportamientos ya que la agrupación de estos ensayos se distribuyó de acuerdo a la aclimatación de la biomasa al agua residual

porcícola. Mostrando que con biomasa aclimatada y no aclimatada los vectores de importancia difieren y, por lo tanto, la aclimatación de la biomasa es necesaria para evaluar el impacto que generan estos antibióticos de forma individual y en mezcla. Además, en este caso la aclimatación a agua residual porcícola logró reducir el efecto inhibitorio de las tetraciclinas.

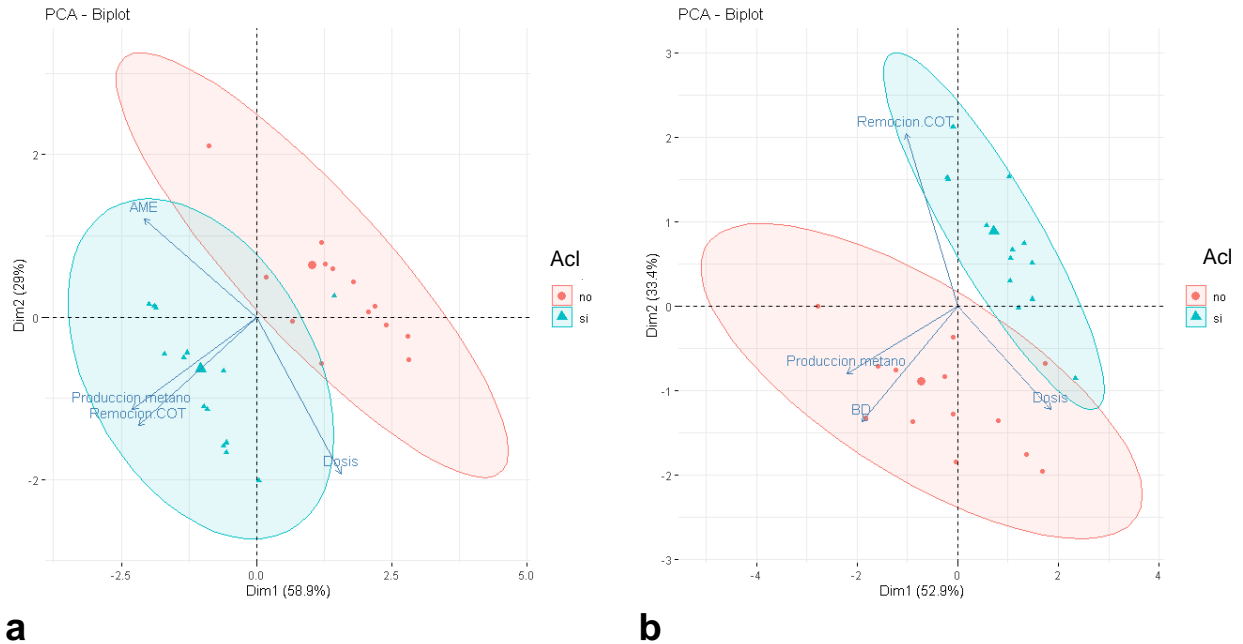


Figura 19. Análisis de componentes principales (ACP) de las cinéticas de actividad metanogénica acetoclástica (a) y biodegradabilidad (b) de biomasa anaerobia. El óvalo rosa engloba a los resultados de los ensayos con biomasa no aclimatada y el óvalo azul engloba los de biomasa aclimatada. Para este análisis se emplearon la dosis, la actividad metanogénica, la producción máxima de metano y la remoción de COT.

4.2 SORCIÓN DE ANTIBIÓTICOS

Los experimentos realizados en el presente trabajo con dos sorbentes que pueden ser soportes en un reactor anaerobio híbrido, como los son la biomasa anaerobia (inactiva) y carbón activado granular.

4.2.1 Biomasa inactiva

Debido a que las tetraciclinas son solubles en agua (Log K_{ow} : -1.3 TCN, -1.2 OTC) y la tilosina parcialmente soluble (Log K_{ow} : 1.6) se consideró que la biomasa inactiva tendrá la capacidad de únicamente adsorber los antibióticos, ya que esta biomasa se comporta como un sorbente fisicoquímico, por lo que captura los contaminantes de la solución acuosa. Es por ello que, es necesario estudiar el mecanismo que rige la remoción de estos antibióticos en la biomasa anaerobia, siendo los más importantes biomasa es la bioacumulación y la bioadsorción, ya que nos indicarían una posible interacción entre los contaminantes presentes en las aguas residuales y la biomasa (Certucha- Barragán *et al.*, 2010; K. Li *et al.*, 2013).

Las cinéticas e isotermas de adsorción se realizaron con tres dosis 15, 60 y 100 $\mu\text{g/L}$ en 24 horas, para evaluar la influencia de la temperatura y el pH. Se estudiaron cuatro modelos de cinéticas de sorción: pseudo-primer-orden (PPO), pseudo-segundo-orden (PSO), Elovich y difusión intraparticular (Int), con la finalidad de determinar el tiempo en el que se sorben los antibióticos de uso veterinario en una biomasa anaerobia inactivada química y físicamente. Por otro lado, es preciso mencionar que a pesar de llevarse a cabo los experimentos con todos los antibióticos tanto individualmente como en mezcla, los límites de cuantificación (LC) fueron superiores a las dosis evaluadas en el caso de OTC (15 $\mu\text{g/L}$) y MIX.

En el caso de la OTC se observó que al final de las 24 horas para la dosis de 60 $\mu\text{g/L}$ no hubo adsorción tanto a temperatura ambiente (20°C) como a 37 °C. Para la dosis de 100 $\mu\text{g/L}$ no hubo sorción a temperatura ambiente (20°C), pero si a 37°C (ver Figura 20). Los modelos cinéticos que se ajustaron fueron los de Elovich > pseudo-segundo-orden > pseudo-primer-orden cuando el pH es 6 y, pseudo-primer-orden > pseudo segundo orden/ Elovich cuando el pH es 8 (ver Tabla 19). Con estos resultados se puede decir que el pH fue un factor importante para la velocidad de sorción ya que dependiendo es este factor la adsorción puede estar en función de la heterogeneidad de los sitios activos (pH 6) o en función de la capacidad del sorbente (pH 8).

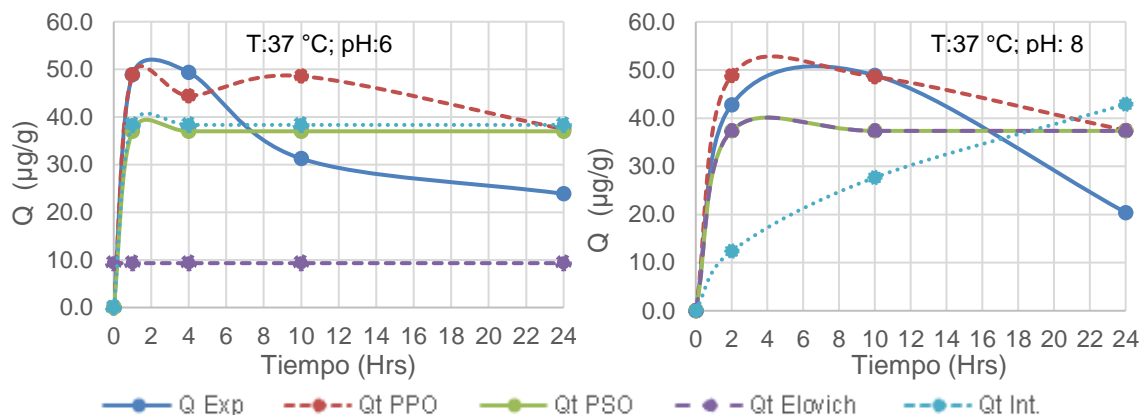


Figura 20. Capacidad de sorción de OTC en biomasa anaerobia inactiva.

Tabla 19 Modelos cinéticos para OTC en biomasa anaerobia inactiva.

Dosis (µg/L)	T (°C)	pH	Pseudo primer orden		Pseudo Segundo orden		Elovich		Intraparticula r	
100	37	6	k_1	29.87	k_2	46687442.18	a	0.00	K_i	9.32
			q_e	48.85	q_e	36.99	b	38.33	R^2	-
			R^2	0.69	R^2	0.70	R^2	0.70		
100	37	8	k_1	29.87	k_2	466878442.18	a	0.00	K_i	8.75
			q_e	48.85	q_e	37.35	b	37.35	R^2	-
			R^2	0.78	R^2	0.69	R^2	0.69		

k_1 : (h^{-1}); k_2 : ($g \mu g^{-1} h^{-1}$); K_i : ($g \mu g^{-1} h^{-0.5}$); q_e : ($\mu g g^{-1}$); **a**: ($\mu g g^{-1}$); **b**: ($\mu g g^{-1}$)

La TCN por su parte mostró un comportamiento errático, es decir, hubo adsorción y desorción de este antibiótico durante las 24 horas en las que se llevó a cabo el experimento. Y al igual que con la OTC, únicamente se logró ajustar los datos obtenidos a los modelos cinéticos planteados a la temperatura de 37°C y con pH de 6 para 60 y 100 µg/L (ver Figura 21 y Tabla 20). Los mejores ajustes se lograron con el modelo de pseudo primer orden lo que significaría que la velocidad de sorción de TCN es proporcional al tiempo transcurrido desde que el antibiótico estuvo en contacto con la biomasa anaerobia inactiva.

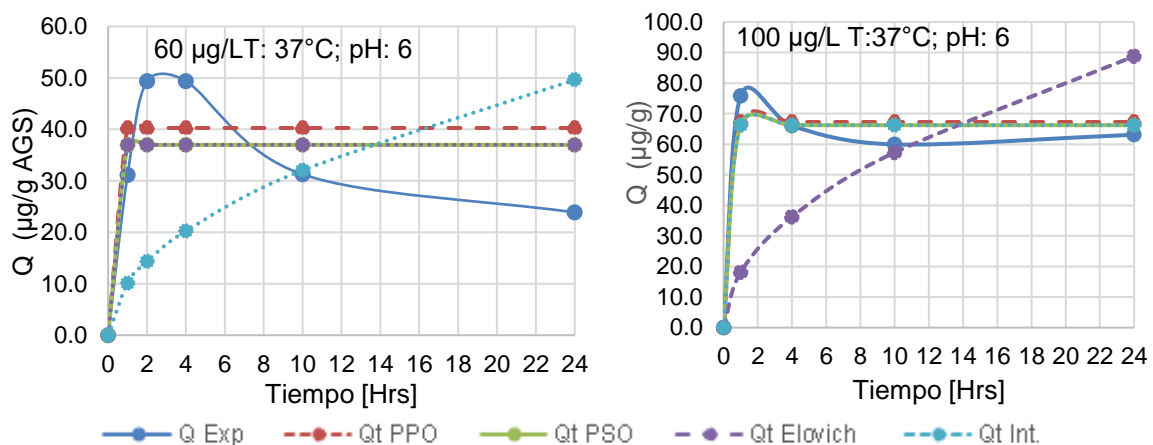


Figura 21. Capacidad de sorción de TCN en biomasa anaerobia inactiva.

Tabla 20. Modelos cinéticos para TCN en biomasa anaerobia inactiva.

Dosis (µg/L)	T (°C)	pH	Pseudo primer orden		Pseudo Segundo orden		Elovich		Intraparticula r	
60	37	6	k_1	29.87	k_2	466878442.18	a	0.00	K_i	10.13
			q_e	40.28	q_e	36.99	b	36.99	R^2	-
			R^2	0.80	R_2	0.68	R^2	0.68		
100	37	6	k_1	29.87	k_2	466878442.18	a	0.00	K_i	18.86
			q_e	67.27	q_e	66.24	b	66.24	R^2	-
			R^2	0.9648	R_2	0.9612	R^2	0.9612		

k_1 : (h^{-1}); k_2 : ($g \mu g^{-1} h^{-1}$); K_i : ($g \mu g^{-1} h^{-0.5}$); q_e : ($\mu g g^{-1}$); **a**: ($\mu g g^{-1}$); **b**: ($\mu g g^{-1}$)

Con los resultados anteriores se pudo observar que las tetraciclinas en dosis inferiores a 100 µg/L no se adsorbe en biomasa anaerobia inactiva y se adsorbe de acuerdo el modelo cinético de pseudo-primero orden. En la literatura se reporta algo similar, pero a dosis altas (100 mg/L) con biomasa activa y en agua residual porcícola con OTC (Álvarez *et al.*, 2010). Esto difiere de lo reportado por Li *et al* (2013) donde el modelo que más se ajusta a la sorción de TCN es de pseudo-segundo orden, es decir, se supone que la capacidad de adsorción es proporcional al número de sitios activos ocupados en el sorbente, esta diferencia se podría asociar a que la concentración de TCN es alta (500 mg/L). Además, tanto en este estudio como en los mencionados la temperatura muestra ser un factor determinante para la adsorción de tetraciclinas ya que a mayor temperatura la sorción se puede llevar a cabo con mayor facilidad en biomasa.

Para el macrólido (TYL) se pudo ajustar los datos cuando la concentración fue de 100 µg/L a 20 °C y pH de 6 (ver Figura 22). En los otros experimentos realizados no se logró obtener el equilibrio ya que se observaron procesos de adsorción y desorción desde las primeras horas de llevado a cabo el experimento. Al ajustarse los valores a pseudo primer orden se indica que existe una relación directamente proporcional entre el tiempo de contacto y la cantidad de soluto adsorbido (Martins *et al.*, 2015; Rath *et al.*, 2019) (ver Tabla 21). Sin embargo, la temperatura más favorable para la sorción de este macrólido a bajas concentraciones (µg/L) a diferencia con las tetraciclinas

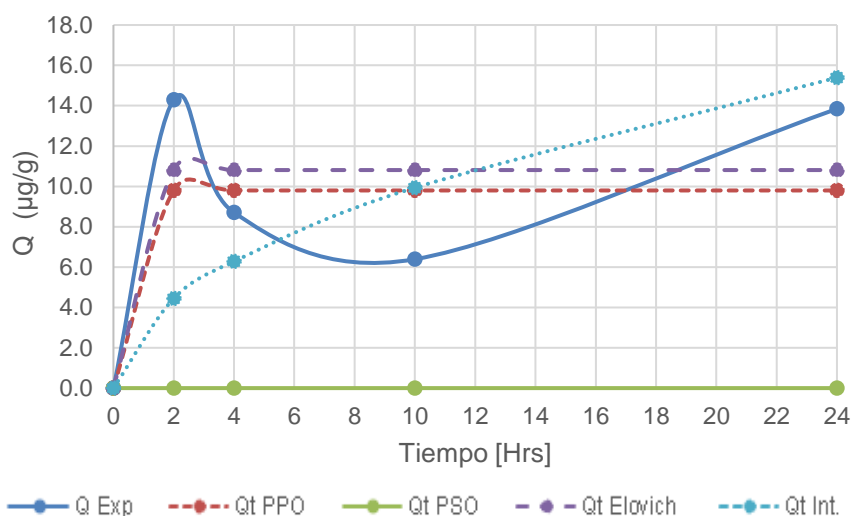


Figura 22. Capacidad de sorción de TYL en biomasa anaerobia inactiva.

Tabla 21. Modelos cinéticos para TYL en biomasa.

Dosis	T [°C]	pH	Pseudo primer orden		Pseudo segundo orden		Elovich		Int. Particular	
			k_1	29.87	k_2	466878442.18	a	0	Ki	3.14
100	20	6	q_e	9.79	q_e	0	b	10.81	R²	-
			R²	0.76	R²	-	R₂	0.67		

k_1 : (h^{-1}); k_2 : ($g \mu g^{-1} h^{-1}$); K_i : ($g \mu g^{-1} h^{-0.5}$); q_e : ($\mu g g^{-1}$); **a**: ($\mu g g^{-1}$); **b**: ($\mu g g^{-1}$)

En la Tabla 22., se puede observar los porcentajes de remoción de los antibióticos después de 24 horas de llevado a cabo cada experimento. La OTC no fue removida eficientemente en la biomasa anaerobia. Por su parte la TCN fue removida hasta en un 66.3 % cuando la dosis es 100 $\mu g/L$ y el pH es 6, sin que la temperatura sea un factor determinante, lo contrario sucede cuando el pH es 8 ya que la remoción del contaminante fue alta cuando con la dosis aplicada más baja (15 $\mu g/L$) y tampoco la temperatura fue determinante con esta dosis. La TYL por su parte muestra un comportamiento diferente pues, se remueve hasta en un 91.9 % cuando la dosis es inferior o igual a 60 $\mu g/L$, mostrando así en este caso el factor que más influye es la temperatura, ya que se logra la mayor remoción a temperatura ambiente.

Tabla 22. Valores de remoción de antibióticos en biomasa inactiva.

Antibiótico	Concentración inicial	Remoción (%)			
		pH 6		pH 8	
		20°C	37°C	20°C	37 °C
OTC	15	ND	ND	ND	ND
	60	0.0	24.1	0.0	52.0^a
	100	0.0	37.5	0.0	20.4 ^a
TCN	15	34.5 ^a	0.0	70.9^a	70.9^a
	60	38.8	39.8	29.3	0.0
	100	66.3	63.1	48.6	52.6
TYL	15	0.0	56.6	0.0	19.0
	60	91.9^a	12.8	91.9^a	28.2
	100	13.8	0.2	14.7	0.0

ND: No determinado LD: 15.83 µg/L.
 Porcentaje aproximado, calculado con base a en los LD de TYL y TCN

Los experimentos no permitieron determinar las isotermas de sorción para cada antibiótico ya que los porcentajes de adsorción tuvieron comportamientos erráticos y no se pudieron ajustar a las ecuaciones que representan el modelo de Langmuir y Freundlich, esto al igual que las cinéticas de sorción muestran que la presencia de antibióticos de uso veterinario en la biomasa anaerobia inactivada en concentraciones por debajo de 100 µg/L tienen un alto grado de reversibilidad y, los mecanismos de intercambio iónico y complejación entre los antibióticos y la biomasa fueron imperceptibles. Sin embargo, la TCN bajo ciertas condiciones temperatura y pH (ver Figura 23) mostró un ajuste adecuado al modelo de Freundlich ($K_F: 15.4 \mu\text{g/g (L/}\mu\text{g)}^{0.23}$; $1/n: 0.23$) lo cual significaría que todos los sitios activos del adsorbente se encuentran distribuidos de manera heterogénea sobre la superficie y la intensidad de adsorción está determinada por los sitios que hayan sido llenado por el antibiótico (Shi *et al.*, 2011).

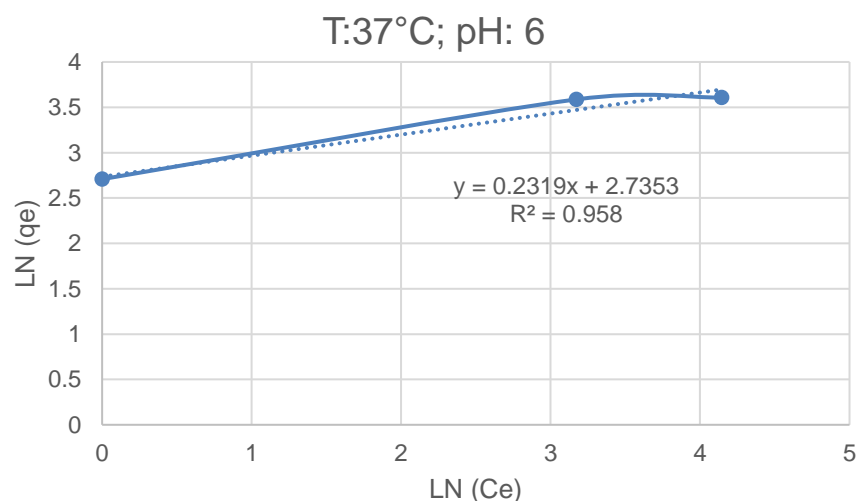


Figura 23. Isoterma hallada para TCN en biomasa inactiva (Modelo de Freundlich).

En la Tabla 23 se muestra los resultados de remoción de antibióticos en mezcla (dos tetraciclinas y un macrólido), en tres diferentes dosis. Se observa una baja remoción de los tres antibióticos, donde únicamente la tilosina se adsorbe a temperatura ambiente (20°C) y se obtiene una mínima remoción de tetraciclina a 37 °C. Esto indica que en mezcla siguen el mismo comportamiento que mostraron individualmente. Por tanto, se puede asumir que la biomasa anaerobia no es un adsorbente adecuado cuando estos antibióticos están presentes en dosis bajas inferiores a 100 µg/L. Algunos trabajos han implementado el uso de adsorbentes para incrementar la remoción (Hameed *et al.*, 2008; Mahmoud *et al.*, 2003), siendo los reactores híbridos una alternativa viable, que utiliza un proceso biológico complementado con el uso de carbón activado para remover eficientemente los macrocontaminantes y los antibióticos presentes en agua residual porcícola la cual contiene más de un antibiótico (Kolz *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2012).

Tabla 23. Remoción de antibióticos en mezcla en biomasa anaerobia inactiva.

T (°C)	Dosis (µg /L)	pH	%		
			Tilosina	Tetraciclina	Oxitetraciclina
20	15	6	93.6 ^a	ND	ND
		8	3.0	ND	ND
	60	6	75.8 ^a	0.0	ND
		8	75.8 ^a	0.0	ND
	100	6	0.0	0.0	ND
		8	0.0	0.0	ND
37	15	6	0.0	ND	ND
		8	0.0	ND	ND
	60	6	0.0	17.0	ND
		8	0.0	0.0	ND
	100	6	0.0	0.0	ND
		8	0.0	21.2	ND

ND: No determinado LD: 15.83 µg/L.

^a: Porcentaje aproximado, calculado con base a en los LD de TYL y TCN

4.2.2 Carbón activado granular

Existen evidencias de que, al acoplar un proceso biológico con un sistema de remoción con carbón activado, es posible remover trazas de algunos contaminantes. Por lo tanto, se realizaron ensayos de sorción de antibióticos con carbón activado granular (CAG) a dos temperaturas 20° C y 37°C, a pH 6 y 8. Los modelos de ajuste utilizados fueron pseudo-primer orden, pseudo-segundo orden, difusión intraparticular y Elovich.

La Tabla 24., muestra los parámetros obtenidos al realizar los ajustes con los modelos cinéticos antes mencionados. De los datos colectados, la dosis más alta (100 µg/L) mostró ajustes significativos ($R^2 > 0.5$) a los modelos cinéticos, siendo el modelo de difusión intraparticular el que muestra el mejor ajuste para la temperatura de 20 °C lo cual indica que la adsorción de OTC puede estar basada en el transporte de soluto a través de una estructura interna homogénea efecto que se ha visto en

otros sólidos como suelo y cascaras de arroz (Andrade, 2018; Liu *et al.*, 2020). Sin embargo, a medida que sube la temperatura el proceso de adsorción se ajusta los modelos de pseudo primer y segundo orden indicando el proceso puede estar relacionado con la capacidad del sorbente o procesos de quimisorción (Ho, 2006).

Tabla 24. Modelos cinéticos para OTC en carbón activado granular.

Dosis (µg/L)	T (°C)	pH	Pseudo primer orden		Pseudo Segundo orden		Elovich		Int. Particular	
100	20	6	k_1	29.87	k_2	466878442.18	a	30.31	Ki	21.09
			q_e	59.34	q_e	59.34	b	1.00	R²	0.71
			R²	0.59	R²	0.59	R²	0.45		
		8	k_1	29.87	k_2	466878442.18	a	30.42	Ki	20.96
			q_e	62.19	q_e	62.19	b	1	R²	0.77
			R²	0.62	R²	0.62	R²	0.56		
37	6	k_1	29.87	k_2	466878442.18	a	27.24	Ki	19.48	
		q_e	60.91	q_e	60.91	b	1.00	R²	0.02	
		R²	0.89	R²	0.89	R²	-			

k_1 : (h⁻¹); k_2 : (g µg⁻¹h⁻¹); K_i : (g µg⁻¹h^{-0.5}); q_e : (µg g⁻¹); **a**: (µgg⁻¹); **b**: (µg g⁻¹)

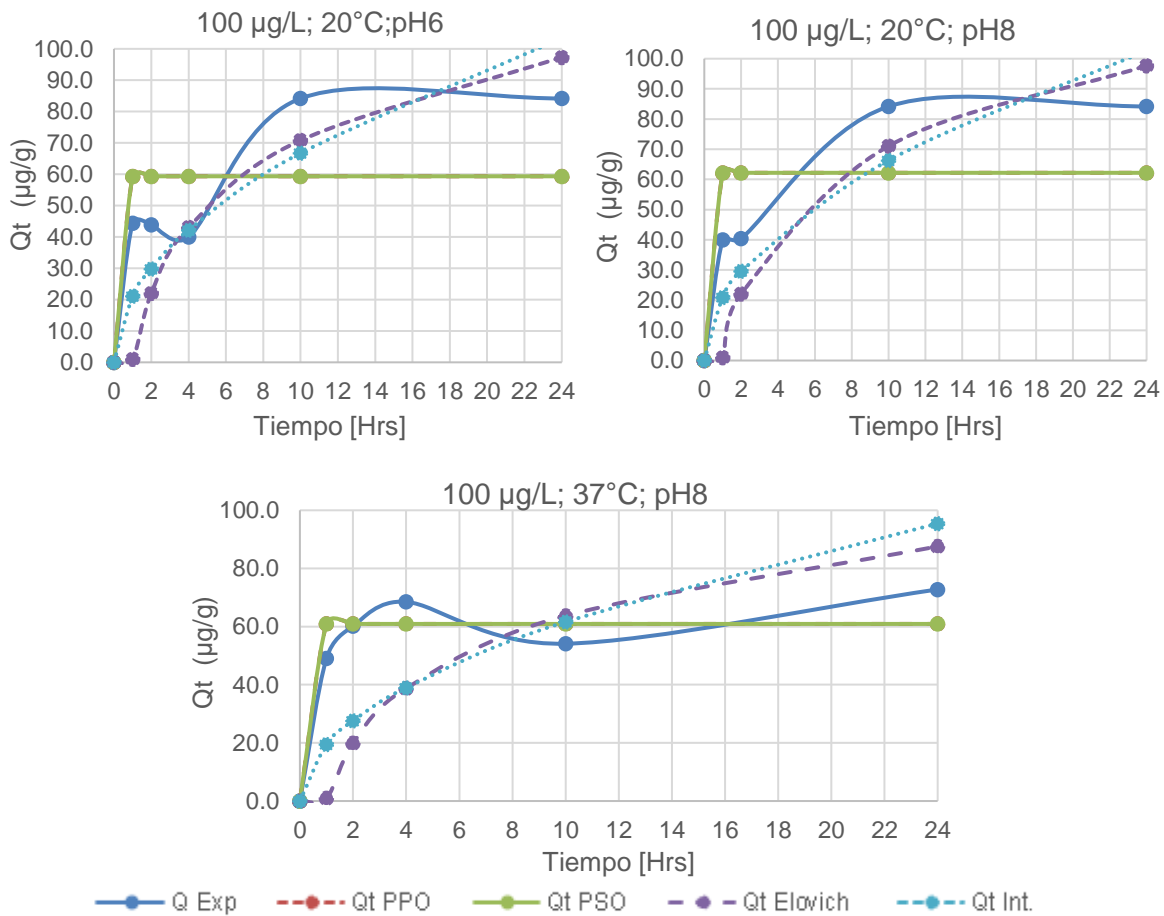


Figura 24. Capacidad de sorción de OTC en carbón activado granular.

La TCN fue adsorbida en el carbón activado granular, a una temperatura de 37 °C ya que a 20 °C (Temperatura ambiente) se observaron procesos de adsorción y desorción que no permitieron observar un ajuste cinético (ver Tabla 25 y Figura 25). Por otro lado, el pH no tuvo influencia significativa en la adsorción de TCN. El proceso de adsorción está asociado a la temperatura del sistema, predominando la quimisorción y la capacidad del sorbente ya que se encuentra más relacionado con los modelos de sorción de pseudo-primero orden y pseudo-segundo orden, lo cual coincide con algunos trabajos que reportan comportamientos similares para las tetraciclinas y macrólidos, pese a aplicar sorbentes diferentes (Shi *et al.*, 2011; Z. P. Zhang *et al.*, 2007).

Tabla 25. Modelos cinéticos para TCN en carbón activado

Dosis (µg/L)	T (°C)	pH	Pseudo primer orden		Pseudo Segundo orden		Elovich		Int. Particular
60	37	6	k_1	29.87	k_2	466878442.18	a	0.00	Ki 10.71
			q_e	35.97	q_e	35.97	b	35.97	R² -
			R²	0.80	R²	0.80	R²	0.80	
		8	k_1	29.87	k_2	466878442.18	a	0.00	Ki 8.79
			q_e	33.06	q_e	33.06	b	33.06	R² -
			R²	0.72	R²	0.72	R²	0.64	
100	37	6	k_1	18.82	k_2	466878442.18	a	0.00	Ki 21.64
			q_e	71.57	q_e	71.57	b	71.57	R² -
			R²	0.99	R²	0.94	R²	0.99	
		8	k_1	29.87	k_2	466878442.18	a	2.96	Ki 22.22
			q_e	68.02	q_e	68.02	b	69.29	R² -
			R²	0.78	R²	0.78	R²	0.90	

k_1 : (h⁻¹); k_2 : (g µg⁻¹h⁻¹); K_i : (g µg⁻¹h^{-0.5}); q_e : (µg g⁻¹); **a**: (µgg⁻¹); **b**: (µg g⁻¹)

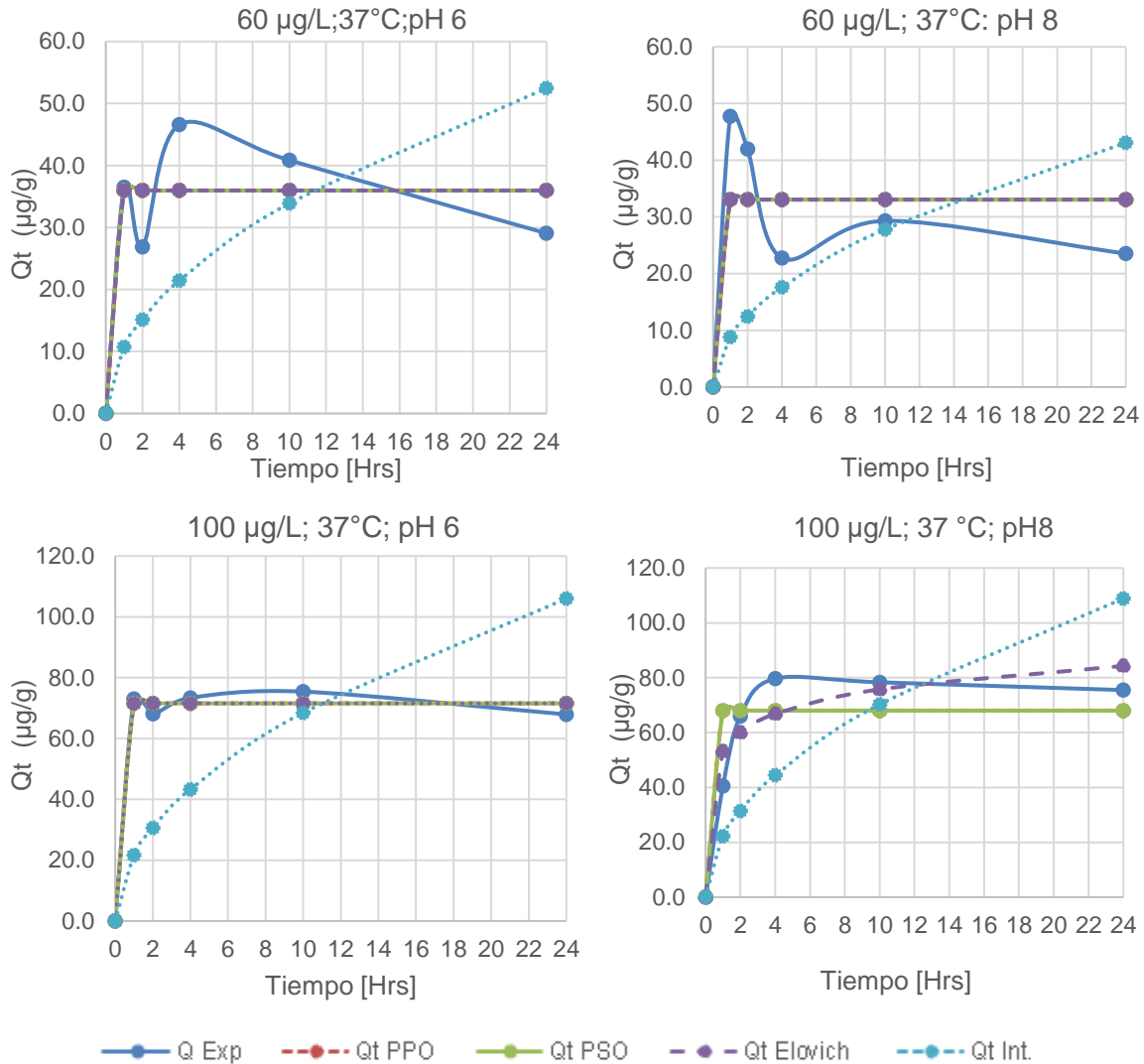


Figura 25. Capacidad de sorción de TCN en carbón activado granular

La TYL se adsorbió completamente en carbón activado desde la primera hora del experimento, a temperatura ambiente (20°C), mostrando ser la temperatura más favorable para la remoción completa de este macrólido. Sin embargo, al aumentar la temperatura a 37° C la adsorción sigue otros modelos cinéticos (Elovich y Difusión intra particular), sin que el pH tenga una influencia d significativa. Es importante resaltar que en este caso la adsorción no depende del sorbente, pero puede asociarse a la heterogeneidad de los sitios activos en el carbón activado (Pinzón-Bedoya y Vera Villamizar, 2009) (ver Tabla 26 y Figura 26).

Tabla 26. Modelos cinéticos para TYL en carbón activado

Dosis ($\mu\text{g/L}$)	T ($^{\circ}\text{C}$)	pH	<i>Pseudo primer orden</i>		<i>Pseudo Segundo orden</i>		<i>Elovich</i>		<i>Int. Particular</i>	
15	37	6	k_1	29.87	k_2	466878442.2	a	3.43	Ki	2.45
			q_e	7.05	q_e	0	b	1.00	R²	0.70
			R²	-	R²	-	R²	0.79		
60	37	6	k_1	29.87	k_2	466878442.2	a	2.29	Ki	1.77
			q_e	4.19	q_e	0	b	1.00	R²	0.70
			R²	-	R²	-	R²	0.72		
		8	k_1	29.87	k_2	466878442.2	a	4.08	Ki	2.99
			q_e	8.27	q_e	0	b	1.00	R²	0.74
			R²	-	R²	-	R²	0.70		
100	37	6	k_1	29.87	k_2	-	a	4.91	Ki	5.23
			q_e	16.31	q_e	-	b	7.87	R²	-
			R²	-	R²	-	R²	0.66		

k_1 : (h^{-1}); k_2 : ($\text{g } \mu\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$); K_i : ($\text{g } \mu\text{g}^{-1} \text{h}^{-0.5}$); q_e : ($\mu\text{g g}^{-1}$); **a**: (μgg^{-1}); **b**: ($\mu\text{g g}^{-1}$)

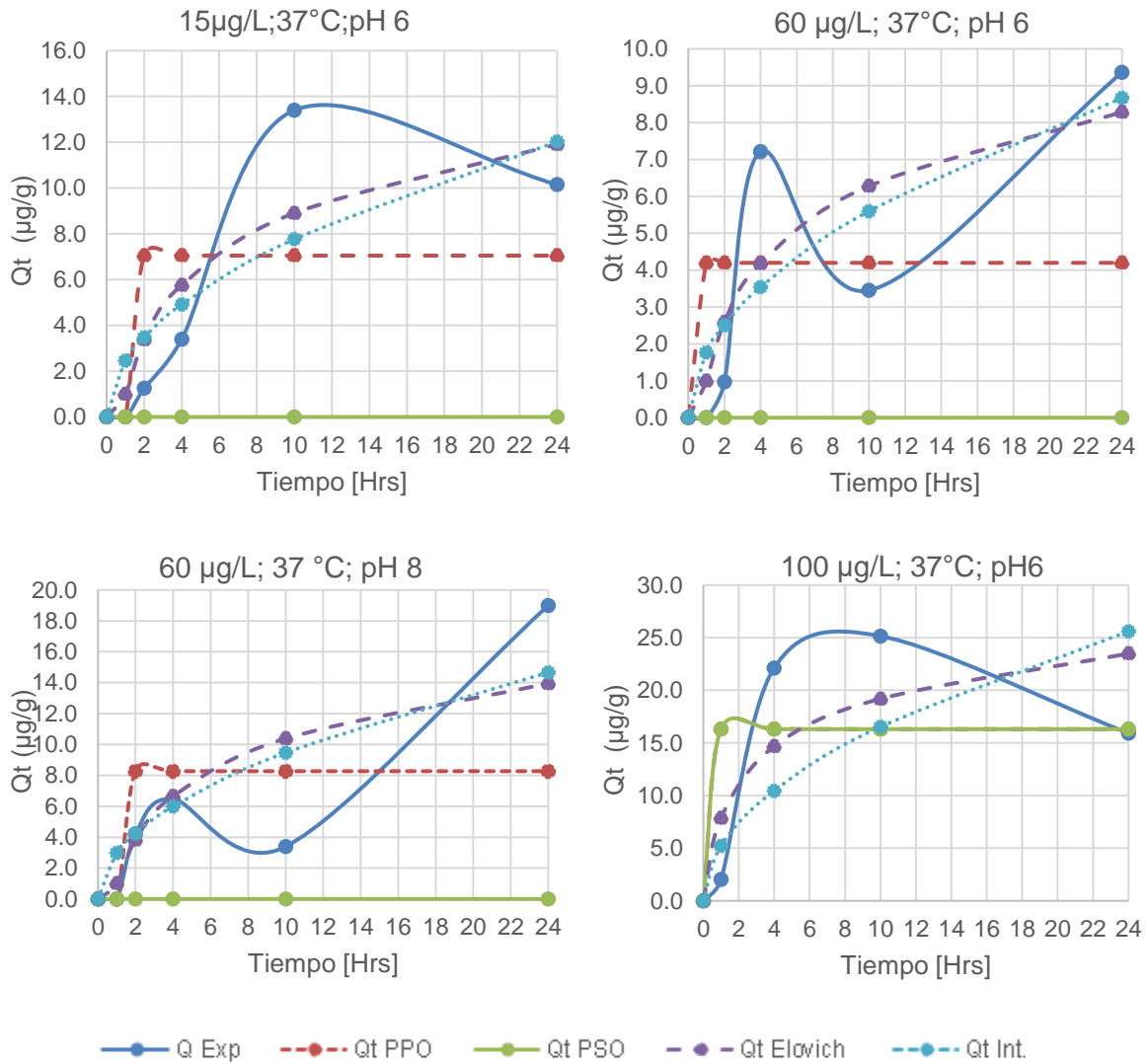


Figura 26. Capacidad de sorción de TYL en carbón activado granular

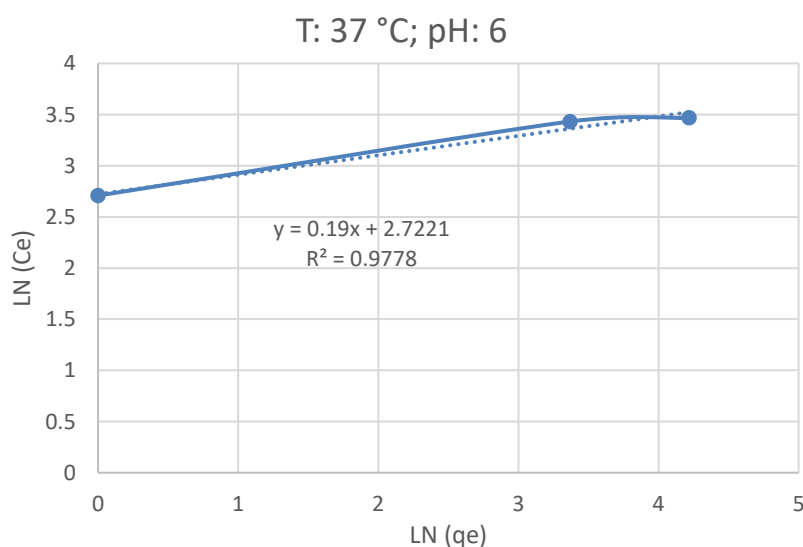
En la Tabla 27., se muestra que a pesar de que a mayor temperatura se puede describir los modelos cinéticos que podrían seguir los antibióticos en el CAG, los porcentajes de remoción de la OTC y la TYL son mayores a 20° C, indicando que la adsorción es espontánea a esta temperatura y las velocidades de reacción disminuyen con el aumento de la temperatura. La TCN por su parte es el antibiótico que se remueve en CAG sobre el 67.9 % mostrando que este antibiótico se puede adsorber sin que la temperatura o el pH sean un limitante importante.

Tabla 27. Remoción de antibióticos en carbón activado granular.

Antibiótico	Concentración inicial	%			
		pH 6		pH 8	
		20°C	37°C	20°C	37°C
OTC	15	ND	ND	ND	ND
	60	73.6 ^a	0.0	73.6 ^a	0.0
	100	84.2^a	32.4	84.2^a	27.2
TCN	15	65.5 ^a	0.0	65.5 ^a	29.1 ^a
	60	91.4 ^a	48.4	91.4 ^a	39.2
	100	94.8^a	67.9	94.8^a	75.5
TYL	15	89.3 ^a	67.7^a	89.3 ^a	43.5^a
	60	97.3 ^a	15.6	97.3 ^a	31.7
	100	98.4^a	15.9	98.4^a	10.8

ND: no detectado debido a que los valores estuvieron por debajo del límite de cuantificación; a: porcentajes calculados con base en el LC.

Al igual que con los experimentos en biomasa inactiva no se llegaron a determinar todas las isothermas de sorción para cada antibiótico ya que los porcentajes de adsorción tuvieron comportamientos erráticos y no se pudieron ajustar a las ecuaciones que representan el modelo de Langmuir y Freundlich. El único antibiótico que permitió el ajuste fue la tetraciclina, la cual se ajustó al modelo de Freundlich ($K_F: 15.2 \mu\text{g/g (L/}\mu\text{g)}^{0.19}$; $1/n: 0.19$), donde el proceso de adsorción es llevado a cabo en forma de multicapa aprovechando una distribución heterogénea en la superficie del sorbente (Moral- Rodriguez *et al.*, 2015), y la capacidad de sorción no se verá limitada por la ocupación de los sitios activos en la primera capa de moléculas, lo que posibilita una mayor remoción de TCN (ver Figura 27).

**Figura 27.** Isotherma hallada para TCN en carbón activado granular (Modelo de Freundlich)

En mezcla los antibióticos de uso veterinario se removieron mejor (74.2 % al 98.4%) en temperatura ambiente, corroborando así que esta es la temperatura adecuada para lograr la remoción eficiente de estos microcontaminantes en CAG (ver Tabla 28).

Tabla 28. Remoción de antibióticos en mezcla en carbón activado granular.

T (°C)	Dosis (µg /L)	pH	%		
			Tilosina	Tetraciclina	Oxitetraciclina
20	15	6	89.3 ^a	ND	ND
		8	89.3 ^a	ND	ND
	60	6	97.3 ^a	74.2 ^a	ND
		8	97.3 ^a	74.2 ^a	ND
	100	6	98.4 ^a	94.8 ^a	ND
		8	98.4 ^a	94.8 ^a	ND
37	15	6	89.3 ^a	ND	ND
		8	89.3 ^a	ND	ND
	60	6	42.4	44.0	ND
		8	28.9	34.9	ND
	100	6	27.3	36.7	ND
		8	59.4	30.6	ND

ND: No determinado LD: 15.83 µg/L.

^a: Porcentaje aproximado, calculado con base a en los LD de TYL y TCN

Los parámetros con los que se evaluó, tanto las cinéticas de sorción como las isotermas de sorción, han sido utilizados por otros autores, pero en el presente estudio las dosis de antibióticos son más bajas, debido a esto no se lograron cuantificar adecuadamente estos, ya que sus límites de cuantificación y detección fueron superior a la dosis aplicada. Sin embargo, se pudo observar que la biomasa inactiva no es un buen adsorbente para antibióticos pues, los experimentos mostraron procesos de adsorción y desorción desde las primeras horas. Finalmente, es importante resaltar que con los antibióticos en mezcla (MIX) la biomasa anaerobia no es un adsorbente adecuado, sin embargo, si se acopla con un sistema a partir de CAG es posible remover eficientemente tetraciclinas y un macrólido (ver Tabla 21), lo cual es recomendable para tratar aguas residuales porcícolas donde se tiene más de un antibiótico.

Cabe resaltar que, el rango de pH utilizado en este trabajo fue de 6 y 8 representando el rango que podría tener un reactor anaerobio. El pH no pareció afectar la adsorción de los antibióticos debido a que tanto las tetraciclinas como el macrólido tienen un pKa cercano a 7 lo que puede indicar que en este rango de pH los antibióticos utilizados predominan cargas neutrales (Andrade, 2018).

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La tetraciclina en biomasa granular anaerobia sin aclimatación a agua residual porcícola puede inhibir entre el 16.6% hasta en un 100 % la máxima producción de metano con diferentes sustratos, siendo la glucosa el sustrato más difícil de degradar dado que posiblemente estos antibióticos afectan pasos procesos metabólicos previos a la metanogénesis.
- En la prueba de actividad metanogénica específica con ácido acético como sustrato, se obtuvo porcentajes de inhibición de la actividad metanogénica similares a los obtenidos en la prueba de biodegradabilidad en un rango del 35.3 al 78.1 %, para biomasa sin aclimatación y, del 3.3 al 41.8 % para biomasa aclimatada con OTC, TCN y TYL. Indicando que el ácido acético tiene un comportamiento similar al agua residual porcícola en el proceso de digestión anaerobia.
- En biomasa anaerobia sin aclimatación, las tetraciclinas mantienen el efecto inhibitorio tanto individualmente como en mezcla. Este efecto se hace más notorio conforme aumenta la dosis de antibiótico.
- Dosis de tetraciclinas inferiores o iguales a 45 µg/L muestran tener un efecto inhibitorio tanto en la velocidad como en la máxima producción de gas metano indicando que estos antibióticos tienen efectos negativos sobre la biomasa anaerobia sin aclimatación a agua residual porcícola.
- La aclimatación de la biomasa anaerobia mostró ser un factor determinante para conocer la inhibición de antibióticos de uso veterinario ya que antibióticos tan persistentes como las tetraciclinas pierden su efecto inhibitorio cuando la biomasa es aclimatada, lo cual puede deberse al aumento de sólidos suspendidos volátiles y a la afinidad de este tipo de antibióticos por los sólidos.
- La tilosina en biomasa aclimatada tuvo un efecto inhibitorio de la AME y BD en un rango de 7.5 a 41.8 %, pero inferior al 20 % en la producción máxima de metano con dosis iguales o inferiores a 45 µg/L indicando que este macrólido afecta el proceso de digestión anaerobia y, además, limita el consumo de materia orgánica.
- Los ensayos en lote mostraron que, a pesar de la aclimatación a aguas procedentes de la actividad porcícola, los antibióticos en dosis bajas (µg/L) pueden causar efectos inhibitorios en la producción de metano. Incluso la mezcla de antibióticos en biomasa aclimatada limita la producción máxima de metano de entre 7.9 y 13.5 %.
- La sorción de antibióticos en biomasa anaerobia aclimatada inactivada química y físicamente muestra que la temperatura favorece la adsorción de la oxitetraciclina a 37 °C mostrando que este es un adsorbente permite la

remoción entre un 37.5 % al 52 %. Lo cual se debe a la afinidad que tienen las tetraciclinas por los sólidos, por tanto, existe una acumulación en la biomasa.

- La adsorción de la tilosina se lleva a cabo a temperatura ambiente logrando una remoción entre el 13.8 % al 91.9% siendo la dosis de 60 µg/L la que mejor se adsorbe con lo cual se puede decir que la biomasa inactivada deja de ser un adsorbente adecuado en dosis superiores a la mencionada.
- El carbón activado granular es un adsorbente adecuado para antibióticos de uso veterinario logrando remover a temperatura ambiente (20°C) tanto tetraciclinas como un macrólido totalmente. Sin embargo, el aumento de la temperatura a 37 °C disminuye la adsorción de estos antibióticos. El pH no tuvo una influencia significativa en la adsorción de antibióticos tanto en biomasa inactivada con carbón activado ya que los porcentajes de remoción para cada antibiótico no cambiaron en la medida que el pH varío de 6 a 8.
- La implementación de un reactor híbrido que acople un proceso biológico anaerobio con el uso de carbón activado granular como proceso complementario permite tratar agua residual porcícola con altos porcentajes de remoción de antibióticos de uso veterinario en mezcla y en dosis bajas (< 100 µg/L). Sin embargo, se debe considerar que el carbón activado granular llega a saturarse por compuestos orgánicos lo que conlleva al recambio continuo de este adsorbente.

RECOMENDACIONES

- Para validar los resultados obtenidos en ese estudio se precisa que tanto los efectos inhibitorios como la capacidad de sorción sea corroborado en un reactor en continuo.
- Para conocer todos los modelos cinéticos que siguen los antibióticos en su totalidad es necesario crear un método de análisis con límites de cuantificación inferiores a 1 µg/L y reajustar los tiempos de experimentación para el caso de la sorción.

REFERENCIAS

- Álvarez, J. A., Otero, L., Lema, J. M. y Omil, F. (2010). The effect and fate of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure. *Bioresource Technology*, 101(22), 8581–8586. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.075>
- Andrade, C. A. (2018). *Remoción de oxitetraciclina presente en soluciones acuosas usando cenizas de cáscara de arroz*. Instituto Politécnico de Leiria.
- Andriamanohiarisoamanana, F. J., Ihara, I., Yoshida, G. y Umetsu, K. (2020). Kinetic study of oxytetracycline and chlortetracycline inhibition in the anaerobic digestion of dairy manure. *Bioresource Technology*, 315(May), 123810. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123810>
- Angenent, L. T., Mau, M., George, U., Zahn, J. A. y Raskin, L. (2008). Effect of the presence of the antimicrobial tylosin in swine waste on anaerobic treatment. *Water Research*, 42(10–11), 2377–2384. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.01.005>
- Arikan, O. A., Sikora, L. J., Mulbry, W., Khan, S. U., Rice, C. y Foster, G. D. (2006). The fate and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of manure from therapeutically treated calves. *Process Biochemistry*, 41(7), 1637–1643. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.03.010>
- Bai, Y., Xu, R., Wang, Q. P., Zhang, Y. R. y Yang, Z. H. (2019). Sludge anaerobic digestion with high concentrations of tetracyclines and sulfonamides: Dynamics of microbial communities and change of antibiotic resistance genes. *Bioresource Technology*, 276(October 2018), 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.066>
- Barceló, D., Kostianoy, A. G. y (ed.). (2012). The Handbook of Environmental Chemistry: Emerging Organic Contaminants and Human Health. En *Springer-Verlag* (Vol. 20). [https://doi.org/10.1016/0143-1471\(82\)90111-8](https://doi.org/10.1016/0143-1471(82)90111-8)
- Boxall, A. B. ., Fogg, P. . y Blackwell, P. K. (2004). Veterinary medicines in the environment. *Archives of Internal Medicine*, 180, 1–91. <https://doi.org/10.1001/archinte.1969.00300110017003>
- Brain, R. A., Hanson, M. L., Solomon, K. R. y Brooks, B. W. (2008). Aquatic plants exposed to pharmaceuticals: Effects and risks. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 192, 67–115. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71724-1_3
- Canizalez-Roman, A., Velazquez-Roman, J., Valdez-Flores, M. A., Flores-Villaseñor, H., Vidal, J. E., Muro-Amador, S., Guadrón-Llanos, A. M., Gonzalez-Núñez, E., Medina-Serrano, J., Tapia-Pastrana, G. y León-Sicairos, N. (2019). Detection of antimicrobial-resistance diarrheagenic *Escherichia coli* strains in surface water used to irrigate food products in the northwest of Mexico. *International Journal of Food Microbiology*, 304(October 2018), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.017>
- Castellano-Hinojosa, A., Armato, C., Pozo, C., González-Martínez, A. y González-López, J. (2018). New concepts in anaerobic digestion processes: recent advances and biological aspects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(12), 5065–5076. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9039-9>

- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo [CIAD]. (2004). *Granjas Porcícolas*. SAGARPA.
- Certucha- Barragán, M. T., Duarte-Rodríguez, G., Acevedo-Félix, E., Almendariz-Tapia, F. J., Monge-Amaya, O., Valenzuela-García, J. L. y Leal-Cruz, A. . (2010). *Bioadsorción de cobre utilizando lodo anaerobio acidogénico*. 26(2), 101–108. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rca/v26n2/v26n2a1.pdf>
- Cetecioglu, Z., Ince, B., Gros, M., Rodriguez-Mozaz, S., Barceló, D., Orhon, D. y Ince, O. (2013). Chronic impact of tetracycline on the biodegradation of an organic substrate mixture under anaerobic conditions. *Water Research*, 47(9), 2959–2969. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.02.053>
- Cetecioglu, Zeynep, Ince, B., Orhon, D. y Ince, O. (2012). Acute inhibitory impact of antimicrobials on acetoclastic methanogenic activity. *Bioresource Technology*, 114, 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.020>
- Chang, B. V. y Ren, Y. L. (2015). Biodegradation of three tetracyclines in river sediment. *Ecological Engineering*, 75, 272–277. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.11.039>
- Chen, N., Huang, M., Liu, C., Fang, G., Liu, G., Sun, Z., Zhou, D., Gao, J. y Gu, C. (2019). Transformation of tetracyclines induced by Fe(III)-bearing smectite clays under anoxic dark conditions. *Water Research*, 165, 114997. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114997>
- Chen, Q., Guo, X., Hua, G., Li, G., Feng, R. y Liu, X. (2017). Migration and degradation of swine farm tetracyclines at the river catchment scale: Can the multi-pond system mitigate pollution risk to receiving rivers? *Environmental Pollution*, 220, 1301–1310. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.004>
- Chen, Y., Cheng, J. J. y Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99(10), 4044–4064. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>
- Cheng, D., Ngo, H. H., Guo, W., Chang, S. W., Nguyen, D. D., Liu, Y., Shan, X., Nghiem, L. D. y Nguyen, L. N. (2020). Removal process of antibiotics during anaerobic treatment of swine wastewater. *Bioresource Technology*, 300(November 2019), 122707. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122707>
- Cheng, D., Ngo, H. H., Guo, W., Chang, S. W., Nguyen, D. D., Liu, Y., Wei, Q. y Wei, D. (2020). A critical review on antibiotics and hormones in swine wastewater: Water pollution problems and control approaches. *Journal of Hazardous Materials*, 387(November 2019), 121682. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121682>
- Cheng, D., Ngo, H. H., Guo, W. S., Liu, Y. W., Zhou, J. L., Chang, S. W., Nguyen, D. D., Bui, X. T. y Zhang, X. B. (2018). Bioprocessing for elimination antibiotics and hormones from swine wastewater. *Science of the Total Environment*, 621, 1664–1682. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.059>
- Chopra, I. y Roberts, M. (2001). Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(3), 232–260. <https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232>
- Colleran, E., Concannon, F., Golden, T., Geoghegan, F., Crumlish, B., Killilea, E., Henry, M. y Coates, J. (1992). Use of methanogenic activity tests to characterize anaerobic sludges, screen for anaerobic biodegradability and determine toxicity

- thresholds against individual anaerobic trophic. *Water Science and Technology*, 25(7), 31–40. <https://doi.org/10.2166/wst.1992.0136>
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2019). *Descarga de aguas residuales no municipales (2019). (Incluyendo la industria)*. <http://sina.conagua.gob.mx/sina/tema.php?tema=descargasResiduales&ver=reporte&o=1&n=nacional>
- De La Mora-Orozco, C., González-Acuña, I. J., Saucedo-Terán, R. A., Flores-López, H. E., Rubio-Arias, H. O. y Ochoa-Rivero, J. M. (2018). Removing organic matter and nutrients from pig farm wastewater with a constructed wetland system. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(5). <https://doi.org/10.3390/ijerph15051031>
- De Victorica-Almeida, J. L., Galván-García, M. y Ayala-Ruiz, R. (2008). Sustainable management of effluents from small piggery farms in Mexico. *American Journal of Environmental Sciences*, 4(3), 171–174. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2008.185.188>
- Del'Arco Ramires, R. y Alves de Oliviera, R. (2014). COD, TSS; Nutrients and coliforms removals in UASB reactors in two stages treating swine wastewater. *Eng. Agríc., Jaboticabal*, 1256–1269. <https://www.scielo.br/pdf/eagri/v34n6/a20v34n6.pdf>
- Díaz-Quiroz, C. A., Francisco Hernández-Chávez, J., Ulloa-Mercado, G., Gortáres-Moroyoqui, P., Martínez-Macias, R., Meza-Escalante, E. y Serrano-Palacios, D. (2018). Simultaneous quantification of antibiotics in wastewater from pig farms by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1092(June), 386–393. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.06.017>
- Drucker, A. G., Escalante Semerena, R. I., Gómez González, V. y Magaña Rueda, S. (2004). La industria porcina en Yucatán: un análisis de la generación de aguas residuales. *Problemas del Desarrollo. Revista Latinoamericana de Economía*, 34(135), 105–124. <https://doi.org/10.22201/iiiec.20078951e.2003.135.7505>
- Du, L. y Liu, W. (2012). Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agroecosystems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(2), 309–327. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0062-9>
- Escalante-Estrada, V. E. y Garzón-Zuñiga, M. A. (2015). Treatment options for wastewater of three swine farms. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 2(2), 87–90. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2010.10.015>
- Gao, P., Xu, W., Ruan, X., Qian, Y., Xue, G. y Jia, H. (2018). Long-term impact of a tetracycline concentration gradient on the bacterial resistance in anaerobic-aerobic sequential bioreactors. *Chemosphere*, 205, 308–316. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.135>
- García-Sánchez, L. (2015). *Tratamiento de agua residual porcina con presencia del antibiótico tilosina en un sistema anaerobio*.
- García-Sánchez, L., Garzón-Zuñiga, M. A., Buelna, G., Moeller-Chávez, G. E., Noyola, A., Avilez-Flores, M. y Estrada-Arriaga, E. B. (2013). Occurrence of tylosin in swine wastewater in Mexico. *Water Science and Technology*, 68(4), 894–900. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.323>
- Garzón-Zuñiga, M. A. y Buelna, G. (2014). Caracterización de aguas residuales

- porcinas y su tratamiento por diferentes procesos en México. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 30(1), 65–79.
- Gonzalez-Tineo, P. A., Durán-Hinojosa, U., Delgadillo-Mirquez, L. R., Meza-Escalante, E. R., Gortáres-Moroyoqui, P., Ulloa-Mercado, R. G. y Serrano-Palacios, D. (2020). Performance improvement of an integrated anaerobic-aerobic hybrid reactor for the treatment of swine wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 34(January), 101164. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101164>
- Hameed, B. H., Mahmoud, D. K. y Ahmad, A. L. (2008). Equilibrium modeling and kinetic studies on the adsorption of basic dye by a low-cost adsorbent: Coconut (Cocos nucifera) bunch waste. *Journal of Hazardous Materials*, 158(1), 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.01.034>
- Hernandez, G. (2013). *Emerging Organic Contaminants in Sludges* (T. Vicent, G. Caminal, E. Eljarrat, & D. Barceló (eds.); Vol. 24, pp. 1–301). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-35609-4>
- Ho, Y. (2006). *Review of second-order models for adsorption systems*. 136(December 2005), 681–689. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.12.043>
- Hoelzer, K., Wong, N., Thomas, J., Talkington, K., Jungman, E. y Coukell, A. (2017). Antimicrobial drug use in food-producing animals and associated human health risks: What, and how strong, is the evidence? *BMC Veterinary Research*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1131-3>
- Hussain, A. y Dubey, S. K. (2017). Specific methanogenic activity test for anaerobic degradation of influents. *Applied Water Science*, 7(2), 535–542. <https://doi.org/10.1007/s13201-015-0305-z>
- Ke, X., Wang, C. yong, Li, R. dong y Zhang, Y. (2014). Effects of Oxytetracycline on Methane Production and the Microbial Communities During Anaerobic Digestion of Cow Manure. *Journal of Integrative Agriculture*, 13(6), 1373–1381. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60683-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60683-8)
- Khelaifia, S. y Drancourt, M. (2012). Susceptibility of archaea to antimicrobial agents: Applications to clinical microbiology. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(9), 841–848. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03913.x>
- Kirchhelle, C. (2018). Pharming animals: a global history of antibiotics in food production (1935–2017). *Palgrave Communications*, 4(1). <https://doi.org/10.1057/s41599-018-0152-2>
- Kolz, A. C., Ong, S. K. y Moorman, T. B. (2005). Sorption of tylosin onto swine manure. *Chemosphere*, 60(2), 284–289. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.02.094>
- Kothari, R., Pandey, A. K., Kumar, S., Tyagi, V. V. y Tyagi, S. K. (2014). Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 39, 174–195. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.011>
- Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part I. *Chemosphere*, 75(4), 417–434. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>
- León-Aguirre, K., Hernández-Núñez, E., González-Sánchez, A., Méndez-Novelo, R., Ponce-Caballero, C. y Giacomán-Vallejos, G. (2019). A Rapid and Green Method for the Determination of Veterinary Pharmaceuticals in Swine

- Wastewater by Fluorescence Spectrophotometry. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 103(4), 610–616. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02701-2>
- Lewicki, J. (2006). *Tylosin. A review of pharmacokinetics, residues in food animals and analytical methods*. 1–39.
- Li, K., Ji, F., Liu, Y., Tong, Z., Xinmin, Zhan y Hu, Z. (2013). Adsorption removal of tetracycline from aqueous solution by anaerobic granular sludge: Equilibrium and kinetic studies. *Water Science and Technology*, 67(7), 1490–1496. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.016>
- Li, Y., Chen, Y. y Wu, J. (2019). Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review. *Applied Energy*, 240(January), 120–137. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2019.01.243>
- Lins, P., Reitschuler, C. y Illmer, P. (2015). Impact of several antibiotics and 2-bromoethanesulfonate on the volatile fatty acid degradation, methanogenesis and community structure during thermophilic anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 190, 148–158. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.070>
- Liu, X., Zhang, H., Luo, Y., Zhu, R., Wang, H. y Huang, B. (2020). Science of the Total Environment Sorption of oxytetracycline in particulate organic matter in soils and sediments : Roles of pH , ionic strength and temperature. *Science of the Total Environment*, 714, 136628. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136628>
- Losada-Espinosa, N., Trujillo-Ortega, M. E. y Galindo, F. (2017). The welfare of pigs in rustic and technified production systems using the welfare quality protocols of pigs in Mexico: Validity of indicators of animal welfare as part of the sustainability criteria of pig production systems. *Veterinaria Mexico*, 4(4). <https://doi.org/10.21753/vmoa.4.4.521>
- Lu, M., Niu, X., Liu, W., Zhang, J., Wang, J., Yang, J., Wang, W. y Yang, Z. (2016). Biogas generation in anaerobic wastewater treatment under tetracycline antibiotic pressure. *Scientific Reports*, 6(January), 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep28336>
- Mahmoud, N., Zeeman, G., Gijzen, H. y Lettinga, G. (2003). Solids removal in upflow anaerobic reactors, a review. *Bioresource Technology*, 90(1), 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00095-6](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00095-6)
- Martins, A. C., Pezoti, O., Cazetta, A. L., Bedin, K. C., Yamazaki, D. A. S., Bandoch, G. F. G., Asefa, T., Visentainer, J. V. y Almeida, V. C. (2015). Removal of tetracycline by NaOH-activated carbon produced from macadamia nut shells: Kinetic and equilibrium studies. *Chemical Engineering Journal*, 260, 291–299. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.09.017>
- Massé, D. I., Saady, N. M. C. y Gilbert, Y. (2014). Potential of biological processes to eliminate antibiotics in livestock manure: An overview. *Animals*, 4(2), 146–163. <https://doi.org/10.3390/ani4020146>
- Méndez Novelo, R., Castillo Borges, E., Vázquez Borges, E., Briceño Pérez, O., Coronado Peraza, V., Pat Canul, R. y Garrido Vivas, P. (2009). Estimación del potencial contaminante de las granjas porcinas y avícolas del estado de Yucatán. *Ingeniería*, 13(2), 13–21.
- Moral- Rodríguez, A. , Carrales- Alvarado, D. , Leyva-Ramos, R. y Ocampo-Pérez, R. (2015). Equilibrio y cinética de adsorción de compuestos farmacéuticos

- sobre carbón activado granular en solución acuosa. *Boletim Grupo Espanol Carbon*, 36, 6–10.
- Moreno Andrade, I. y Buitrón Méndez, G. (2002). Influencia Del Origen Del Inoculo En La Prueba De Biodegradabilidad Anaerobia. *XIII Congreso Nacional de la Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales*, 13.
- Moussout, H., Ahlafi, H., Aazza, M. y Maghat, H. (2018). Critical of linear and nonlinear equations of pseudo-first order and pseudo-second order kinetic models. *Karbala International Journal of Modern Science*, 4(2), 244–254. <https://doi.org/10.1016/j.kijoms.2018.04.001>
- Nasseh, N., Barikbin, B. y Taghavi, L. (2020). Photocatalytic degradation of tetracycline hydrochloride by FeNi₃/SiO₂/CuS magnetic nanocomposite under simulated solar irradiation: Efficiency, stability, kinetic and pathway study. *Environmental Technology and Innovation*, 20, 101035. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101035>
- Noyola, A., Morgan, J. y Guereca, L. (2013). Selección de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales municipales: Guía de apoyo para ciudades pequeñas y medianas. En *Selección de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales municipales*. <http://es.slideshare.net/EdwinMamaniVilcapaza/seleccion-de-tecnologias-para-el-tratamiento-de-aguas-residuales-municipales>
- OCDE. (2019). *Exámenes de mercado en México: Estudio de caso del mercado de la carne de cerdo*. www.oecd.org/daf/competition/exámenes-de-mercado-en-mexico-de-caso-del-mercado-de-la-carne-de-cerdo.html
- Patiño, Y., Díaz, E. y Ordóñez, S. (2014). *MICROCONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS: TIPOS Y SISTEMAS DE TRATAMIENTO*.
- Pérez, R. (2001). Porcicultura y contaminación del agua en La Piedad, Michoacán, México. En *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental* (Vol. 17, Número 1, pp. 5–13).
- Pérez, R. (2006). GRANJAS PORCINAS Y MEDIO AMBIENTE Contaminación del agua en La Piedad, Michoacán. En Plaza y Valdés (Ed.), *Universidad Nacional Autónoma de México Instituto de investigaciones Económicas* (Académica).
- Pinzón-Bedoya, M. L. y Vera Villamizar, L. E. (2009). Modelamiento de la cinética de bioadsorción de cr (iii) usando cáscara de naranja. *DYNA (Colombia)*, 76(160), 95–106.
- Qiu, H., Lv, L., Pan, B. C., Zhang, Q. J., Zhang, W. M. y Zhang, Q. X. (2009). Critical review in adsorption kinetic models. *Journal of Zhejiang University: Science A*, 10(5), 716–724. <https://doi.org/10.1631/jzus.A0820524>
- Quintana, J. B., Rodil, R. y Rodríguez, I. (2014). Transformation Products of Emerging Contaminants upon Reaction with Conventional Water Disinfection Oxidants. En D. A. Lambropoulou & L. M. . Nollet (Eds.), *Transformation Products of Emerging Contaminants in the Environment: Analysis, Processes, Occurrence, Effects and Risks* (Número 1, pp. 123–160). <https://doi.org/10.1002/9781118339558.ch04>
- Rahman, M. H., Sakamoto, K. Q., Kitamura, S. I., Nonaka, L. y Suzuki, S. (2015). Diversity of tetracycline-resistant bacteria and resistance gene tet(M) in fecal microbial community of Adélie penguin in Antarctica. *Polar Biology*, 38(10), 1775–1781. <https://doi.org/10.1007/s00300-015-1732-x>

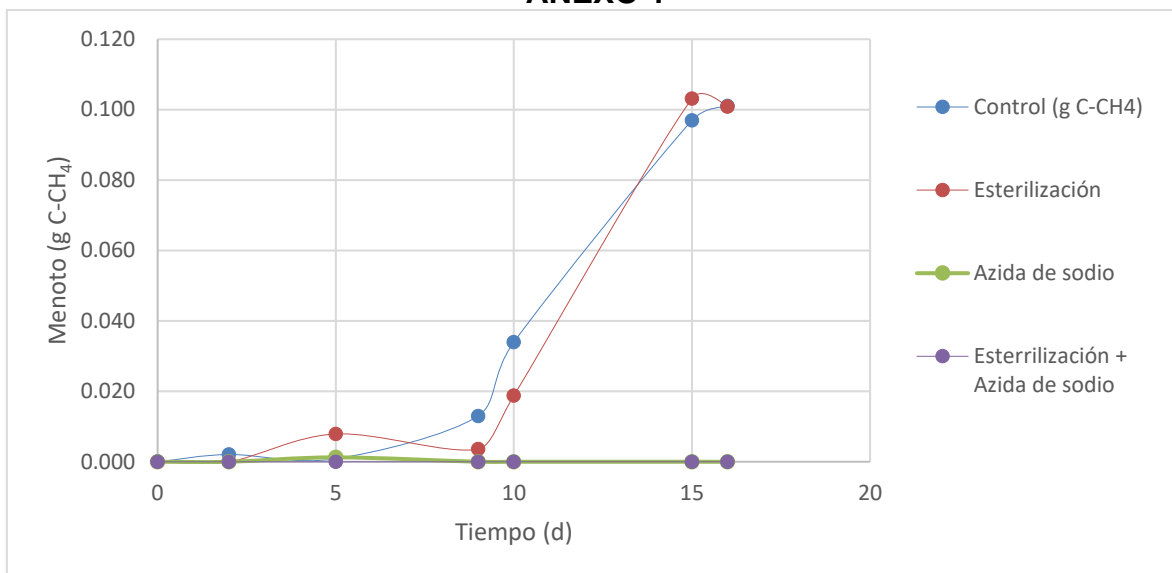
- Ramírez-Islas, M. E., Güereca, L. P., Sosa-Rodriguez, F. S. y Cobos-Peralta, M. A. (2020). Environmental assessment of energy production from anaerobic digestion of pig manure at medium-scale using life cycle assessment. *Waste Management*, 102, 85–96. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.10.012>
- Rath, S., Fostier, A. H., Pereira, L. A., Dioniso, A. C., de Oliveira Ferreira, F., Doretto, K. M., Maniero Peruchi, L., Viera, A., de Oliveira Neto, O. F., Dal Bosco, S. M. y Martínez-Mejía, M. J. (2019). Sorption behaviors of antimicrobial and antiparasitic veterinary drugs on subtropical soils. *Chemosphere*, 214, 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.083>
- Restrepo, L. y González, J. (2007). *De Pearson a Spearman*.
- SAGARPA. (2016). Manual de buenas prácticas en la producción de granjas porcinas. *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*, 102. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/215051/Manual_de_Buenas_Prcticas_Pecuarias_en_la_Producci_n_de_Granjas_Porc_colas_WEB_25_04.pdf%0Ahttp://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/datosabiertos/siap/Paginas/estadistica.aspx
- Shi, Y. J., Wang, X. H., Qi, Z., Diao, M. H., Gao, M. M., Xing, S. F., Wang, S. G. y Zhao, X. C. (2011). Sorption and biodegradation of tetracycline by nitrifying granules and the toxicity of tetracycline on granules. *Journal of Hazardous Materials*, 191(1–3), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.04.048>
- Shimada, T., Zilles, J. L., Morgenroth, E. y Raskin, L. (2008). Inhibitory effects of the macrolide antimicrobial tylosin on anaerobic treatment. *Biotechnology and Bioengineering*, 101(1), 73–82. <https://doi.org/10.1002/bit.21864>
- SIAP. (2018). *Tipos de granjas porcinas Se clasi can dependiendo del objetivo de su producción*.
- SIAP. (2020). *Reporte mensual del Indicador Global de la Actividad Económica Sector primario Febrero 2020 Síguenos en nuestras redes sociales : Dirección de Análisis Estratégico Dirección de Análisis Estratégico*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/537436/An_lisis_IGAE_Agropecuario_feb_2020.pdf
- Stone, J. J., Clay, S. A. y Spellman, G. M. (2010). Tylosin and chlortetracycline effects during swine manure digestion: Influence of sodium azide. *Bioresource Technology*, 101(24), 9515–9520. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.116>
- Sun, Y., Yue, Q., Gao, B., Li, Q., Huang, L., Yao, F. y Xu, X. (2012). Journal of Colloid and Interface Science Preparation of activated carbon derived from cotton linter fibers by fused NaOH activation and its application for oxytetracycline (OTC) adsorption. *Journal of Colloid And Interface Science*, 368(1), 521–527. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.10.067>
- Tay, J.-H., He, Y.-X. y Yan, Y.-G. (2001). Improved anaerobic degradation of phenol with supplemental glucose. *Journal of Environmental Engineering, January*, 38–45.
- Tejada, C., Quiñonez, E. y Peña, M. (2014). Universidad Militar Nueva Granada. *Universidad Militar Nueva Granada*, 10(2), 1–48. <https://doi.org/doi.org/10.18359/rfcb.341>
- Thiele-Bruhn, S. (2003). Pharmaceutical antibiotic compounds in soils - A review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 166(2), 145–167.

- <https://doi.org/10.1002/jpln.200390023>
- Torres Lozada, P. y Pérez, A. (2010). Actividad Metanogénica Específica: Una Herramienta De Control Y Optimización De Sistemas De Tratamiento Anaerobio De Aguas Residuales. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*, 9, 5–14.
- Van Cuong, N., Nhung, N. T., Nghia, N. H., Mai Hoa, N. T., Trung, N. V., Thwaites, G. y Carrique-Mas, J. (2016). Antimicrobial Consumption in Medicated Feeds in Vietnamese Pig and Poultry Production. *EcoHealth*, 13(3), 490–498. <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1130-z>
- Van Epps, A. y Blaney, L. (2016). Antibiotic Residues in Animal Waste: Occurrence and Degradation in Conventional Agricultural Waste Management Practices. *Current Pollution Reports*, 2(3), 135–155. <https://doi.org/10.1007/s40726-016-0037-1>
- Vázquez Borgues, E. del R. (2002). *Evaluación de un reactor anaerobio para el tratamiento de aguas residuales de granjas porcícolas*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Voje Petković, H., Lukežič, T. y Šušković, J. (2017). Biosynthesis of Oxytetracycline by *Streptomyces rimosus*. *Food Technol. Biotechnol*, 55(1), 3–13. <https://doi.org/10.17113/ft>
- Walsh, C. y Wencewicz, T. A. (2016). Major Classes of Antibiotics and Their Modes of Action 2. En *Antibiotics : challenges, mechanisms, opportunities* (pp. 17–32). <https://doi.org/10.1128/9781555819316.ch2>
- Wang, R., Feng, F., Chai, Y., Meng, X., Sui, Q., Chen, M., Wei, Y. y Qi, K. (2019). Screening and quantitation of residual antibiotics in two different swine wastewater treatment systems during warm and cold seasons. *Science of the Total Environment*, 660, 1542–1554. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.127>
- Xiong, W., Sun, Y., Ding, X., Wang, M. y Zeng, Z. (2015). Selective pressure of antibiotics on ARGs and bacterial communities in manure-polluted freshwater-sediment microcosms. *Frontiers in Microbiology*, 6(MAR), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00194>
- Xu, Z., Fan, J., Zheng, S., Ma, F. y Yin, D. (2009). On the Adsorption of Tetracycline by Calcined Magnesium-Aluminum Hydrotalcites. *Journal of Environmental Quality*, 38(3), 1302–1310. <https://doi.org/10.2134/jeq2008.0246>
- Yang, Y., Liu, Z., Xing, S. y Liao, X. (2019). The correlation between antibiotic resistance gene abundance and microbial community resistance in pig farm wastewater and surrounding rivers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 182(June), 109452. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109452>
- Yin, F., Dong, H., Ji, C., Tao, X. y Chen, Y. (2016). Effects of anaerobic digestion on chlortetracycline and oxytetracycline degradation efficiency for swine manure. *Waste Management*, 56, 540–546. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.07.020>
- Yin, F., Dong, H., Zhang, W., Zhu, Z., Shang, B. y Wang, Y. (2019). Removal of combined antibiotic (florfenicol, tylosin and tilmicosin) during anaerobic digestion and their relative effect. *Renewable Energy*, 139, 895–903. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.03.001>
- Zhang, X., Gu, J., Wang, X., Zhang, K., Yin, Y., Zhang, R. y Zhang, S. (2019). Effects

- of tylosin, ciprofloxacin, and sulfadimidine on *mcrA* gene abundance and the methanogen community during anaerobic digestion of cattle manure. *Chemosphere*, 221, 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.043>
- Zhang, Z., Gao, P., Cheng, J., Liu, G., Zhang, X. y Feng, Y. (2018). Enhancing anaerobic digestion and methane production of tetracycline wastewater in EGSB reactor with GAC/NZVI mediator. *Water Research*, 136, 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.025>
- Zhang, Z. P., Tay, J. H., Show, K. Y., Yan, R., Tee Liang, D., Lee, D. J. y Jiang, W. J. (2007). Biohydrogen production in a granular activated carbon anaerobic fluidized bed reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(2), 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2006.08.017>

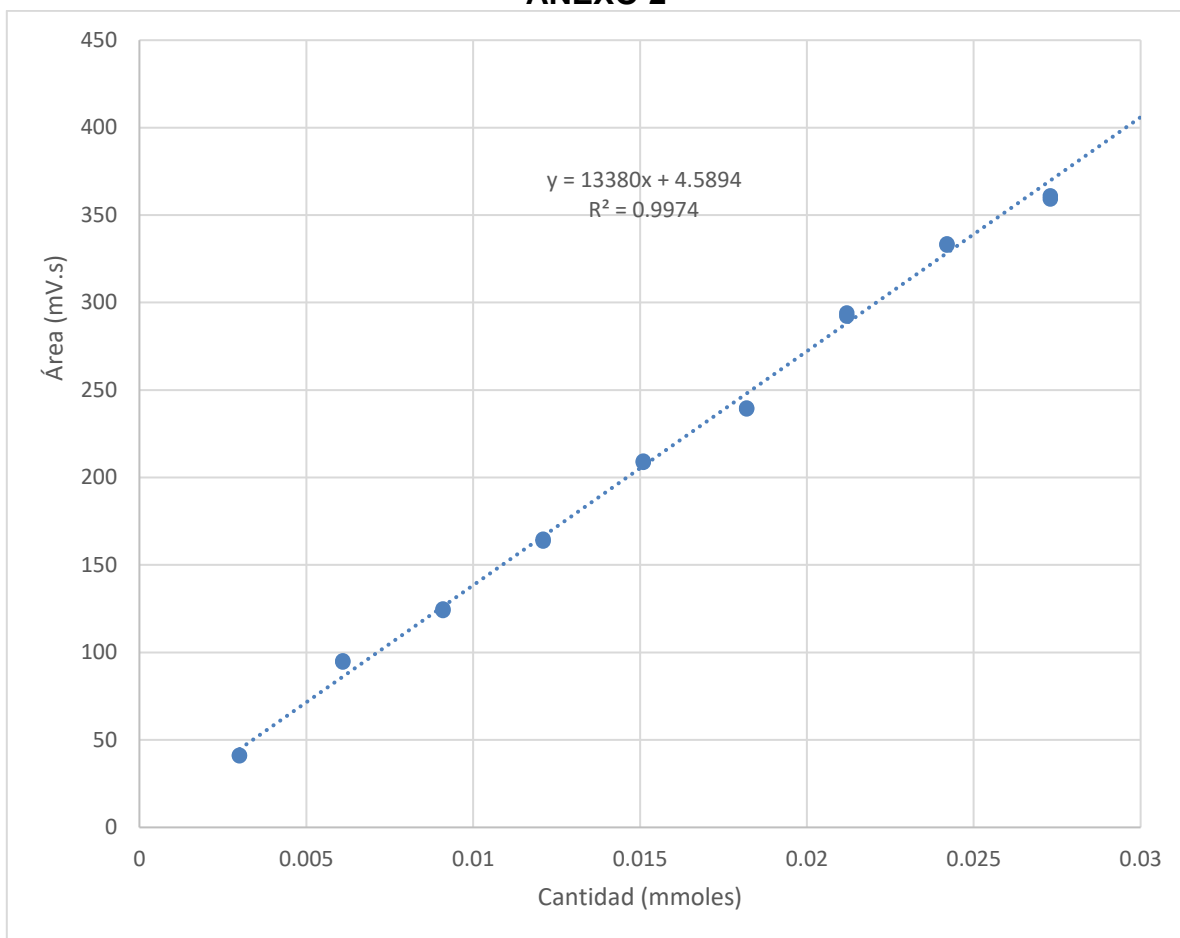
ANEXOS

ANEXO 1



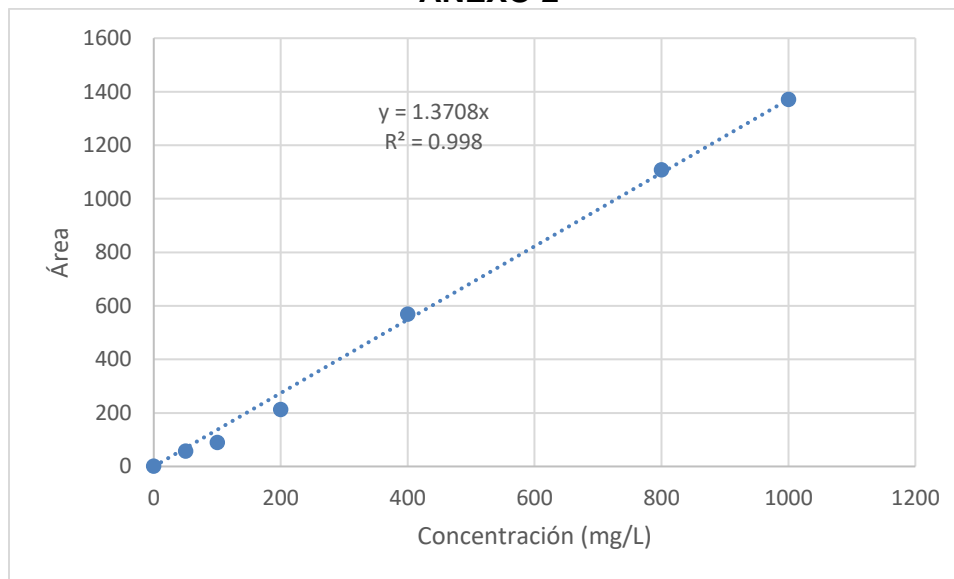
Gráfica 1.1. Producción de biomasa inhibida con diferentes tratamientos.

ANEXO 2

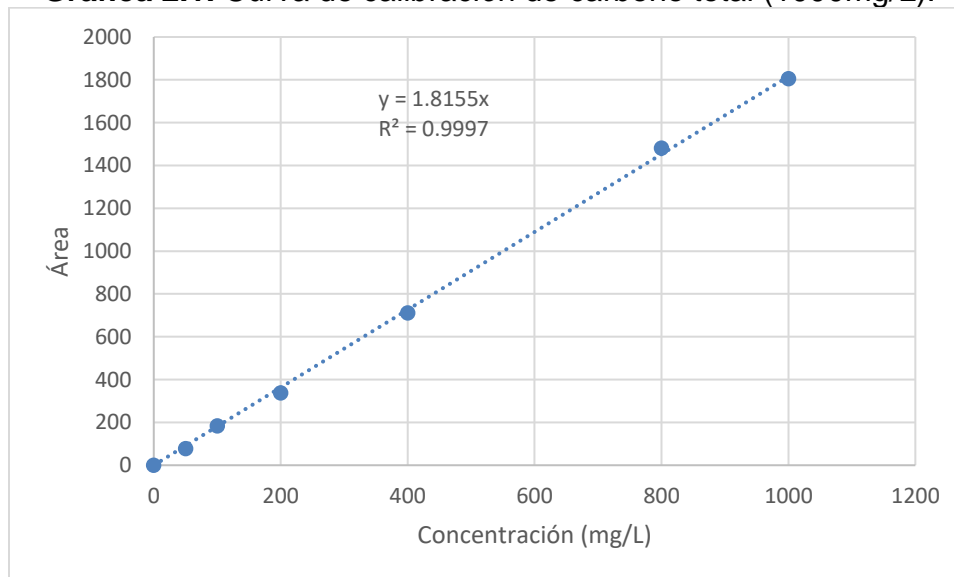


Gráfica 3.1. Curva de calibración de metano.

ANEXO 2



Gráfica 2.1. Curva de calibración de carbono total (1000mg/L).



Gráfica 2.2. Curva de calibración de carbono inorgánico (1000mg/L).

ANEXO 3

#Desviación estándar

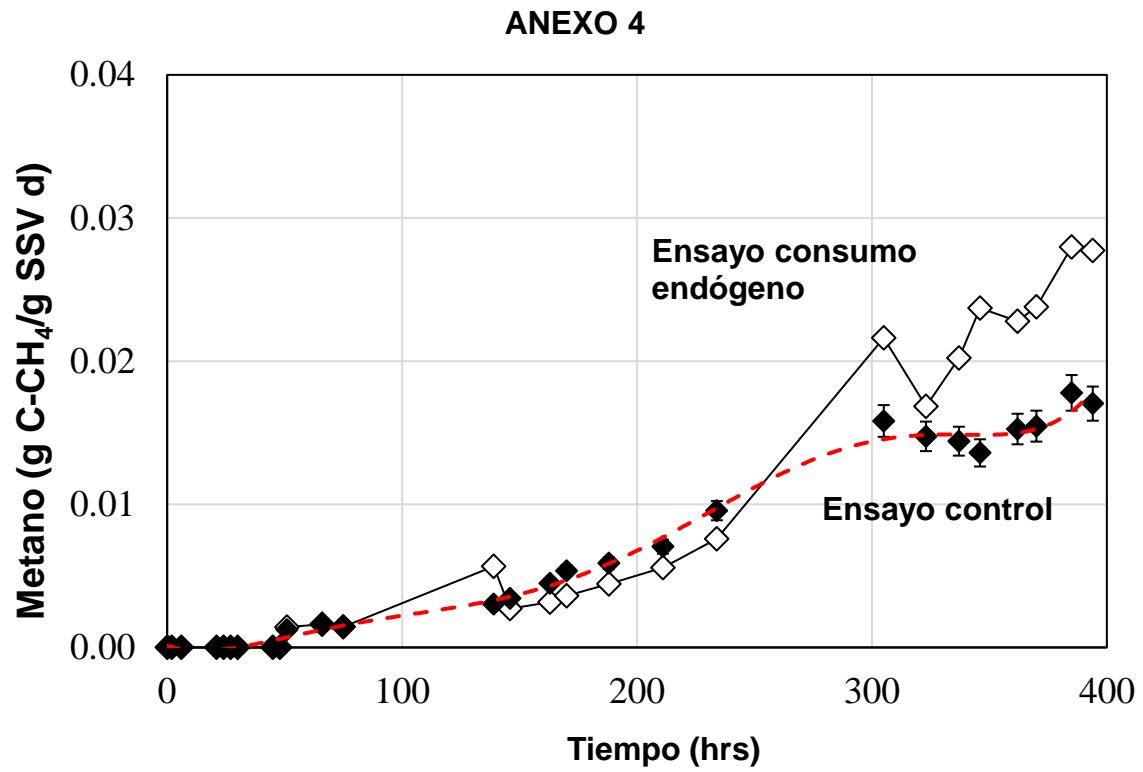
- sd (BIO_Resumen\$SA_BIO)
- sd (BIO_Resumen\$Methane.Production)
- sd (BIO_Resumen\$TOC.removal)

#Correlación por Pearson o Spearman

- cor (TOC_BIO_LSA\$Methane.Production, TOC_BIO_LSA\$TOC.removal, method = 'pearson')
- cor (TOC_BIO_LSA\$Methane.Production, TOC_BIO_LSA\$TOC.removal, method = 'spearman')

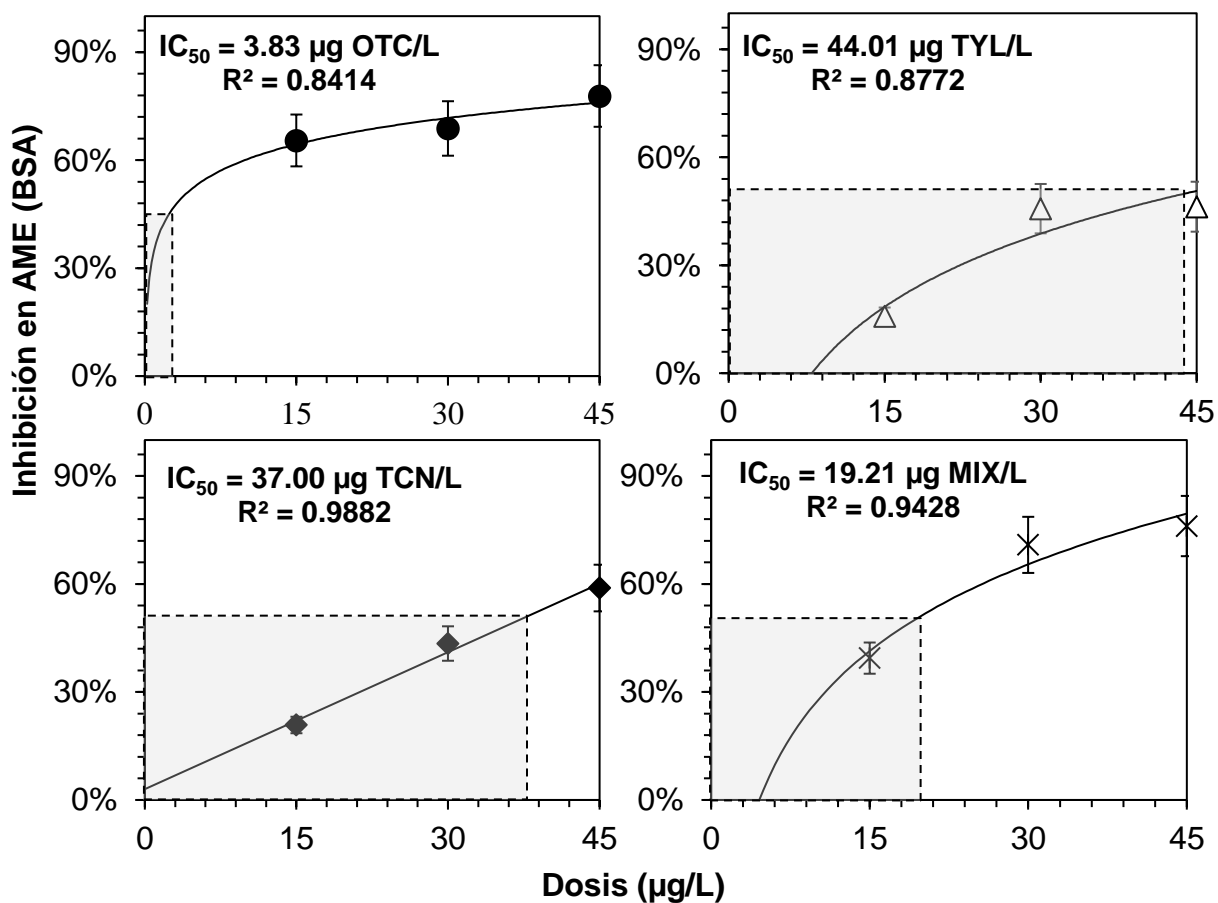
#Análisis de componentes principales

- library("factoextra")
- library("FactoMineR")
- res.pca <- PCA (PCA_AA_A [, -5], graph = FALSE)
- res.pca <- prcomp(PCA_AA_A[, -5], scale = TRUE)
Varianza
- fviz_screplot(res.pca, addlabels = TRUE, ylim = c(0, 50))
- var <- get_pca_var(res.pca)
- var
Contribución por varianza
- head(var\$coord)

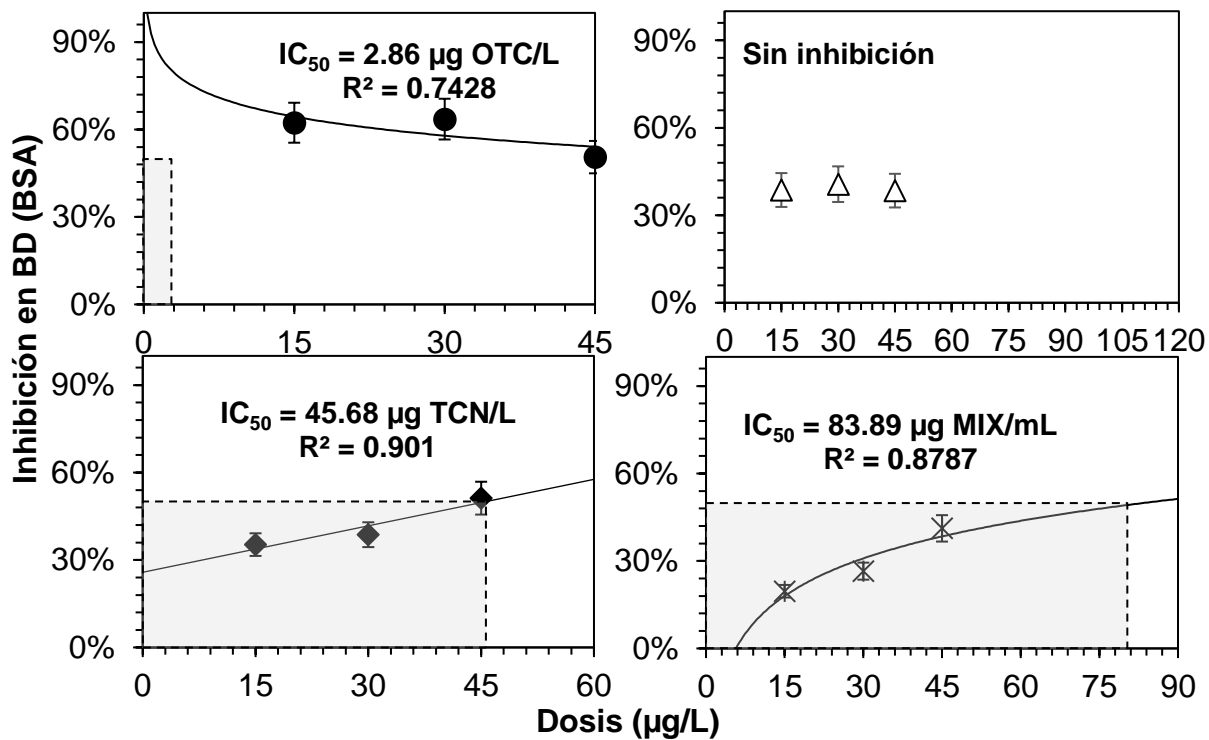


Gráfica 4.1. Actividad metanogénica específica para biomasa anaerobia granular.

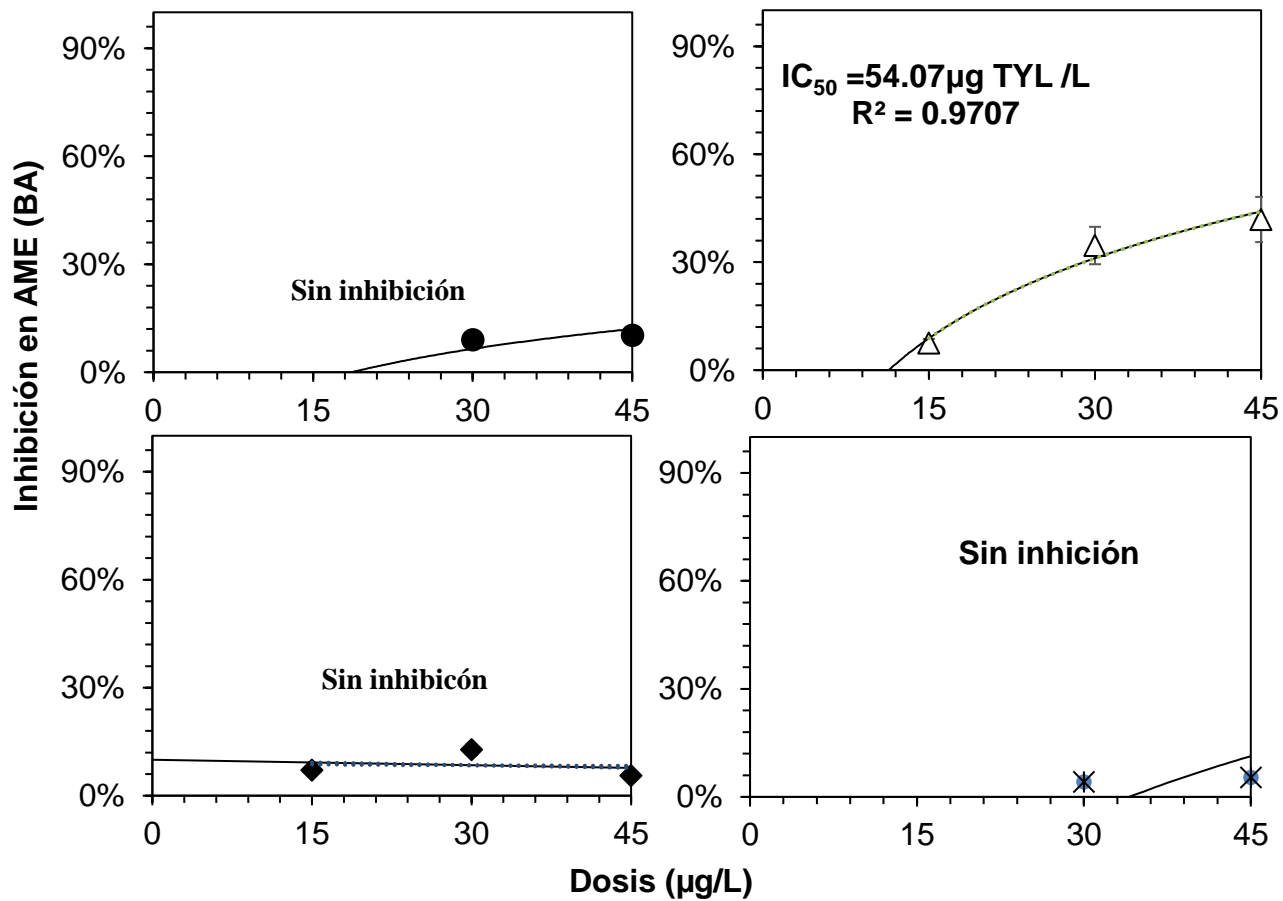
ANEXO 5



Gráfica 5.1. Concentraciones de los antibióticos para que la actividad metanogénica específica disminuya al 50 % en biomasa sin aclimatación.



Gráfica 5.2. Concentraciones de los antibióticos para que la biodegradabilidad disminuya al 50 % en biomasa sin aclimatación.



Gráfica 5.3. Concentraciones de los antibióticos para que la actividad metanogénica específica para que disminuya al 50 % en biomasa aclimatada