



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN  
INGENIERÍA**

FACULTAD DE INGENIERÍA  
CAMPUS MORELOS

**REMOCIÓN DE ESTEROIDES ESTROGÉNICOS Y  
PATÓGENOS EN AGUAS RESIDUALES  
MUNICIPALES MEDIANTE UN BIORREACTOR  
AEROBIO CON MEMBRANAS**

**T E S I S**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN INGENIERÍA**

INGENIERÍA AMBIENTAL - CAMPO DISCIPLINARIO AGUA

P R E S E N T A :

**I.Q. YOLANDA FLORES VELÁZQUEZ**

TUTOR:

**DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA**

2010



**JURADO ASIGNADO:**

**Presidente:** Dr. Germán Buitrón Méndez

**Secretario:** Dra. Georgina Fernández Villagómez

**Vocal:** Dra. Petia Mijaylova Nacheva

**1er. Suplente:** M.en C. Humberto Gómez Ruiz

**2do. Suplente:** Dr. Oscar González Barceló

**Lugar donde se realizó la tesis:**

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA)

Paseo Cuauhnáhuac No.8532

Col. Progreso

Jiutepec, Morelos. México

CP. 62550

**TUTOR DE TESIS:**



---

**Dra. Petia Mijaylova Nacheva**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

Al Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA)

Agradezco a las siguientes personas:

A mi familia, quienes contribuyeron mediante su apoyo emocional e incondicional desde el principio hasta el fin y por ser mi ejemplo a seguir.

Antonio Flores Padilla, por creer en mí, estar siempre conmigo e infundirme ánimo en los momentos importantes. Aprecio profundamente tu extraordinario apoyo.

A mi tutora, Dra. Petia Mijaylova Nacheva, por su asesoramiento y por haberme dado la oportunidad de trabajar a su lado.

A los integrantes del Comité Tutorial, quienes me guiaron a lo largo de la elaboración de la tesis. Dr. Germán Buitrón Méndez, gracias por sus valiosos comentarios acerca de cómo mejorar el trabajo. M. en C. Humberto Gómez Ruiz, agradezco su orientación y paciencia.

A la Dra. Georgina Fernández Villagómez y Dr. Oscar González Barceló, por su revisión y comentarios.

A mis compañeros: Alma, Erika, Guadalupe, Liliana, Rosa, por su apoyo entusiasta y a Luis, por su apoyo en la labor experimental.

<b>ÍNDICE</b>	Pág.
<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>ANTECEDENTES</b> .....	1
1.1 Introducción.....	1
1.2 Reutilización de las aguas residuales municipales.....	1
1.3 Esteroides estrogénicos y su impacto.....	4
1.3.1 17 $\beta$ -estradiol (E2).....	6
1.3.2 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2).....	8
1.4 Microorganismos patógenos en aguas residuales.....	10
1.4.1 Organismos indicadores.....	11
1.5 Biorreactores con membranas.....	13
1.5.1 Desarrollo de los biorreactores con membranas.....	13
1.5.2 Fundamentos de los biorreactores con membranas.....	14
1.5.3 Configuraciones de los módulos.....	17
1.5.4 Fuerza de filtración.....	18
1.5.5 Características de la biomasa.....	19
1.5.6 Ventajas de los biorreactores con membranas.....	20
1.6 Remoción de esteroides estrogénicos en los procesos de tratamiento de aguas residuales.....	23
1.6.1 Remoción de esteroides estrogénicos en lodos activados.....	24
1.6.2 Biodegradación de 17 $\beta$ -estradiol (E2) y 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) por lodos activados nitrificantes .....	25
1.6.3 Bacterias degradantes de 17 $\beta$ -estradiol (E2) y 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) aisladas de lodos activados .....	30

1.7 Remoción de esteroides estrogénicos mediante biorreactores con membranas.....	32
1.8 Eliminación de los microorganismos patógenos en aguas residuales municipales.....	33
1.9 Remoción de microorganismos patógenos mediante biorreactores con membranas.....	36
1.9.1 Efecto de la biomasa y la membrana con biopelícula adherida en la remoción de patógenos mediante biorreactores con membranas.....	37
1.9.2 Efecto del flux y resistencia de filtración en la remoción de microorganismos patógenos mediante biorreactores con membranas .....	38

## **CAPÍTULO 2**

<b>OBJETIVOS</b> .....	39
2.1 Objetivo General.....	39
2.2 Objetivos específicos.....	39
2.3 Hipótesis.....	39

## **CAPÍTULO 3**

<b>METODOLOGÍA</b> .....	40
3.1 Configuración del biorreactor con membranas.....	40
3.2 Operación del biorreactor con membranas.....	43
3.3 Métodos de análisis.....	43
3.4 Estrategia experimental.....	45
3.5 Limpieza de la membrana.....	46
3.5.1 Limpieza química.....	47

3.6 Aguas residuales municipales.....	47
3.7 Condiciones experimentales del biorreactor con membranas.....	48
3.7.1 Tiempo de residencia hidráulica (TRH).....	50
3.7.2 Flux.....	50
3.7.3 Presión transmembrana (PTM).....	50
3.7.4 Resistencia de filtración.....	50
3.7.5 Relación alimento/microorganismo (F/M).....	51
3.7.6 Carga orgánica volumétrica (COV).....	51
3.7.7 Tiempo de retención celular (TRC).....	52
3.8 Cálculo de eficiencias de remoción.....	52

## **CAPÍTULO 4**

<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>53</b>
4.1 Flux y presión transmembrana (PTM).....	53
4.2 Turbiedad.....	55
4.3 Demanda química de oxígeno (DQO).....	56
4.4 Eliminación de nitrógeno amoniacal y nitrificación en el sistema.....	59
4.5 Remoción de esteroides estrogénicos.....	62
4.6 Remoción de esteroides estrogénicos y nitrificación.....	66
4.7 Remoción de esteroides estrogénicos y tiempo de retención celular.....	67
4.8 Remoción de microorganismos patógenos.....	67
4.8.1 Relación entre el flux y los coliformes totales y fecales.....	68
4.8.2 Relación entre la resistencia de filtración y los coliformes totales y fecales.....	71

**CAPÍTULO 5**

<b>CONCLUSIONES</b> .....	76
<b>REFERENCIAS</b> .....	78
<b>ANEXO 1</b> Determinación de 17 $\beta$ -estradiol (E2) y 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) mediante cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas-masas .....	85
<b>ANEXO 2</b> Promedio del rendimiento del BRM.....	90
<b>ANEXO 3</b> Microorganismos indicadores de patógenos a la entrada y salida del BRM.....	93

**ÍNDICE DE FIGURAS**

	Pág.
Figura 1.1 Estructura del 17 $\beta$ -estradiol (E2).....	6
Figura 1.2 Estructura del 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) .....	8
Figura 1.3 BRM de circuito externo.....	15
Figura 1.4 BRM de circuito interno.....	15
Figura 1.5 BRM de circuito interno en un depósito anexo.....	16
Figura 3.1 Esquema del sistema experimental.....	41
Figura 3.2 Fotografías del sistema experimental.....	42
Figura 4.1 Evolución del flux durante la operación del biorreactor aerobio con membranas.....	54
Figura 4.2 Evolución de la presión transmembrana durante la operación del biorreactor aerobio con membranas.....	55
Figura 4.3 Remoción de la turbiedad en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un BRM.....	56
Figura 4.4 Remoción de materia orgánica medida como DQO en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un BRM .....	57
Figura 4.5 Remoción de N-NH <sub>4</sub> en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un BRM .....	60
Figura 4.6 N-NO <sub>2</sub> y N-NO <sub>3</sub> presentes en el efluente del biorreactor con membranas.....	61

---

Figura 4.7 Remoción de $17\beta$ -estradiol (E2) en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un BRM .....	64
Figura 4.8 Remoción de $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2) en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un BRM.....	65
Figura 4.9 Relación entre el flux y coliformes totales en el efluente del BRM.....	69
Figura 4.10 Relación entre el flux y coliformes fecales en el efluente del BRM.....	69
Figura 4.11 Relación entre el flux y las unidades logarítmicas de remoción de coliformes totales en el tratamiento de aguas residuales municipales.....	70
Figura 4.12 Relación entre el flux y las unidades logarítmicas de remoción de coliformes fecales en el tratamiento de aguas residuales municipales.....	71
Figura 4.13 Relación entre la resistencia de filtración y coliformes totales en el efluente del BRM .....	72
Figura 4.14 Relación entre la resistencia de filtración y coliformes fecales en el efluente del BRM .....	72
Figura 4.15 Relación entre la resistencia de filtración y las unidades logarítmicas de remoción de coliformes totales en el tratamiento de aguas residuales municipales.....	73
Figura 4.16 Relación entre la resistencia de filtración y las unidades logarítmicas de remoción de coliformes fecales en el tratamiento de aguas residuales municipales.....	74
Figura 4.17 Coliformes fecales en el efluente del biorreactor con membranas...	75

**ÍNDICE DE TABLAS**

Pág.

Tabla 1.1 Rendimiento típico para un biorreactor con membranas usado para tratar aguas residuales domésticas.....	4
Tabla 1.2 Propiedades del 17 $\beta$ -estradiol (E2).....	7
Tabla 1.3 Propiedades del 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2).....	9
Tabla 3.1 Métodos de análisis durante la operación del biorreactor con membranas .....	44
Tabla 3.2 Variables del experimento en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un biorreactor aerobio con membranas.....	46
Tabla 3.3 Caracterización del agua residual municipal.....	48
Tabla 3.4 Condiciones experimentales del biorreactor con membranas.....	49
Tabla 4.1 Condiciones experimentales y remociones de materia orgánica, nitrógeno amoniacal y nitrificación en el biorreactor con membranas .....	58
Tabla 4.2 Condiciones experimentales y remoción de E2 y EE2 en el biorreactor con membranas .....	62
Tabla 4.3 Microorganismos indicadores de patógenos en el efluente y condiciones de operación en el biorreactor con membranas .....	68

---

**Lista de abreviaciones**

---

<b>BRM</b>	Biorreactor con membranas
<b>CDE</b>	Compuesto disruptor endocrino
<b>COV</b>	Carga orgánica volumétrica
<b>DBO</b>	Demanda bioquímica de oxígeno
<b>DQO</b>	Demanda química de oxígeno
<b>E1</b>	Estrona
<b>E2</b>	17 $\beta$ -estradiol
<b>E3</b>	Estriol
<b>EE2</b>	17 $\alpha$ -etinilestradiol
<b>F/M</b>	Relación alimento/microorganismo
<b>logKoc</b>	Coefficiente de partición carbono orgánico-agua
<b>logKow</b>	Coefficiente de partición octanol-agua
<b>MF</b>	Microfiltración
<b>NF</b>	Nanofiltración
<b>NMP/100mL</b>	Número más probable por 100 mL
<b>OD</b>	Oxígeno disuelto
<b>pH</b>	Potencial hidrógeno
<b>pKa</b>	Constante de disociación
<b>PTM</b>	Presión transmembrana
<b>PVDF</b>	Polifluoruro de vinilideno
<b>SST</b>	Sólidos suspendidos totales
<b>SSVLM</b>	Sólidos suspendidos volátiles en el licor mezclado
<b>TRC</b>	Tiempo de retención celular
<b>TRH</b>	Tiempo de residencia hidráulica
<b>UF</b>	Ultrafiltración
<b>U.S. EPA</b>	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica

---

## RESUMEN

Los esteroides estrogénicos  $17\beta$ -estradiol (E2) y  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2) son compuestos reportados con alta potencia de disrupción endócrina. Los disruptores endocrinos son de interés por la feminización de peces machos y organismos expuestos a efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales. La infección por patógenos es uno de los riesgos asociados con las aguas residuales. Los coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli* y enterococos fecales son organismos usados como indicadores de contaminación fecal. Se investigó su remoción en aguas residuales municipales reales mediante una planta piloto de biorreactor aerobio con membranas de ultrafiltración sumergidas, de material polimérico polifluoruro de vinilideno (PVDF), con un tamaño de poro de  $0.04\ \mu\text{m}$  y se aplicó diferentes condiciones de operación. La remoción de los esteroides estrogénicos estuvo influenciada por los sólidos suspendidos volátiles en el licor mezclado (SSVLM), tiempo de residencia hidráulica (TRH), tiempo de retención celular (TRC), la concentración de  $\text{N-NH}_4$  en el influente y el proceso de nitrificación. Se obtuvieron remociones constantes de 100% de  $17\beta$ -estradiol y  $17\alpha$ -etinilestradiol cuando se trabajó con 6,000 mg/L de SSVLM, TRH de 9 a 12 h y TRC de 38 a 68 días, en combinación con mayor concentración de  $\text{N-NH}_4$  en el influente y mejor remoción del mismo, además de mayor concentración de nitratos en el efluente. La remoción de los coliformes totales y fecales se logró exitosamente operando el biorreactor con membranas con 6,000 mg/L de SSVLM y TRH de 9 a 12 h. Su remoción también se relacionó a cambios de flux y resistencia de filtración. Cuando se trabajó con flux menor a 0.55 m/d hubo mayor remoción de coliformes totales y fecales. Al operar con una resistencia de filtración mayor o igual a  $3.35 \times 10^{12}\ \text{m}^{-1}$ , la remoción incrementó. La *E. coli* y los enterococos fecales fueron removidos con alta eficiencia durante toda la experimentación, a pesar de que su concentración en el influente fue variable.

# **CAPÍTULO 1**

## **ANTECEDENTES**

---

### **1.1 Introducción**

El progresivo deterioro de la calidad del agua es debido principalmente al continuo crecimiento de la población, los procesos de urbanización y desarrollo industrial. Las aguas residuales cuando se vierten a cauces públicos pueden llevar niveles de contaminación orgánica e inorgánica superiores a los que el ecosistema puede asimilar, dando lugar a una contaminación de las aguas superficiales y subterráneas, lo que hace necesario que las aguas residuales se traten y se reúsen, con la finalidad de hacer frente a la disminución de la disponibilidad del agua. La infección por patógenos es uno de los riesgos asociados con las aguas residuales y la presencia de compuestos como  $17\beta$ -estradiol y  $17\alpha$ -etinilestradiol capaces de afectar el sistema endócrino se ha convertido en un asunto de interés, por lo que se necesita el establecimiento de sistemas de tratamiento de aguas residuales como los biorreactores con membranas que permitan no sólo cumplir con los límites de calidad impuestos actualmente, sino también con los que puedan ser impuestos en un futuro.

### **1.2 Reutilización de aguas residuales municipales**

Las principales categorías del reúso de efluentes procedentes de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales son:

- 1) Riego agrícola.

- 2) Riego en áreas verdes, incluye el riego de parques, lugares de recreo, campos de golf, autopistas, jardines de centros comerciales, oficinas, y procesos industriales.
- 3) Actividades industriales, principalmente para enfriamiento.
- 4) Recarga de aguas subterráneas.
- 5) Usos recreativos/medio ambientales, comprende usos no potables como lagos recreativos, mejora de las zonas pantanosas y aumento del flujo de corrientes.
- 6) Usos urbanos no potables, incluyen protección contra incendios, aire acondicionado, construcción y sanitarios.
- 7) Reúso potable, el cual puede actuar mezclándose en los suministros de almacenamiento (Metcalf y Eddy, 2003).

El agua residual tratada para su reúso deberá cumplir con una calidad que esté en función de la actividad en la que se pretende utilizar o de la normativa que regula su aprovechamiento y manejo. En México destaca el reúso hacia cultivos agrícolas, en una menor proporción se reutiliza en las industrias, así como en las termoeléctricas (CNA, 2008). La Norma Oficial Mexicana NOM-003-Semarnat-1997, establece que los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público con contacto directo son: coliformes fecales 240 NMP/100 mL,  $\leq 1$  huevos de helminto por litro, 15 mg/L de grasas y aceites, 20 mg/L DBO<sub>5</sub> y 20 mg/L SST. Es importante el establecimiento de sistemas de tratamiento de aguas residuales que permitan, no sólo cumplir con los límites de vertido y calidad del agua impuestos actualmente, sino también con los que puedan ser impuestos en un futuro. Los procesos deben tener alta flexibilidad en cuanto a las variaciones de carga de las aguas residuales, una mínima producción de lodo y la menor superficie posible para ubicar la planta de tratamiento. El sistema convencional de lodos activados ha sido el más usado para el tratamiento de aguas residuales (Centro Canario del Agua, 2003) y como una alternativa al proceso de lodos activados convencional surgen los

biorreactores con membranas, especialmente cuando el espacio y los recursos de agua son limitados y se requiere una elevada calidad del agua tratada.

En un principio el uso de la tecnología de membrana se empleaba solamente como tratamiento terciario en un proceso convencional. La microfiltración, ultrafiltración y ósmosis inversa solo se utilizaban en áreas donde los requerimientos de vertido eran muy rigurosos o para reutilizar el agua tratada. Los principales factores que limitaron el desarrollo de la tecnología de membrana fueron el costo elevado de inversión y de operación, sin embargo, con la aparición de módulos de membrana menos costosos y junto con los requerimientos cada vez más estrictos de vertido, los biorreactores con membranas (BRM) cobran interés. Tienen la ventaja de que las partículas o macromoléculas mayores que el tamaño de poro de la membrana quedan retenidas, por lo tanto, esta tecnología se ha convertido en la mejor opción cuando se quiere obtener un efluente de alta calidad con reducciones muy altas de bacterias y virus.

La combinación de un biorreactor y una membrana de ultrafiltración es una alternativa interesante especialmente para aguas negras, en las cuales puede haber una reducción de DQO en torno al 95% y 98% de DBO, en estos casos las características del permeado son valores entre 20-40 mg/L de DQO y 5-10 mg/L para DBO (Guttau *et al.*, 2002).

La Tabla 1.1 presenta los datos de rendimiento típicos para un biorreactor con membranas usado para tratar aguas residuales domésticas (Metcalf y Eddy, 2003). Además, operando a tiempos de retención celular mayores a 10 días los biorreactores con membranas incrementan la remoción de contaminantes estrogénicos (Melin *et al.*, 2006). Adicionalmente, debido al tamaño de poro de la membrana, los biorreactores con membranas tienen buenas capacidades de desinfección, muestran unidades logarítmicas de remoción de coliformes totales mayores a 6.6, por lo que puede aplicarse como un tratamiento adecuado para reúso en el caso de actividades recreacionales en los cuerpos de agua receptores (Van Nieuwenhuijzen *et al.*, 2008).

**Tabla 1.1** Rendimiento típico para un biorreactor con membranas usado para tratar aguas residuales domésticas

Parámetro	Unidad	Valor típico en el efluente del BRM
DBO	mg/L	<5
DQO	mg/L	<30
NH <sub>3</sub>	mg/L	<1
NT	mg/L	<10
Turbiedad	UTN	<1

### 1.3 Esteroides estrogénicos y su impacto

La presencia en el ambiente de compuestos capaces de afectar el sistema endocrino se ha convertido en un asunto de preocupación científica y pública. Una definición precisa de disruptor endocrino fue propuesta por la Comunidad Europea:

“Un disruptor endocrino es una sustancia exógena que causa efectos adversos en la salud de un organismo intacto, o su progenie, por consiguiente cambios en la funciones endocrinas”

La U.S. EPA ha propuesto una definición más detallada:

“Un disruptor endocrino es un agente exógeno que interfiere con la síntesis, secreción, transporte, la acción de enlace receptor-hormona o la eliminación de las hormonas naturales en el cuerpo, que son las responsables de los controles de la homeostasis, reproducción, del desarrollo y/o del comportamiento en el organismo” (Birkett y Lester, 2003).

La presencia y el destino de compuestos disruptores endocrinos (CDE) son de interés desde el descubrimiento de la feminización de peces machos y otros

organismos expuestos a efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Onda *et al.*, 2003; De Gusseme *et al.*, 2009). Además, la preocupación por estos compuestos es porque pueden provocar procesos fisiológicos anormales, discapacidad reproductiva, incremento en las incidencias de cáncer, particularmente cáncer de mama y testicular y el desarrollo de bacterias resistentes a antibióticos (Bruchet *et al.*, 2002; Kolpin *et al.*, 2002).

Las hormonas sexuales naturales y sintéticas se encuentran en la categoría de disruptores endocrinos (Botham *et al.*, 2003). Los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales y escurrimiento de las tierras agrícolas son considerados las dos fuentes principales de hormonas sexuales en el ambiente (Esperanza *et al.*, 2007). Hay tres grupos principales de hormonas sexuales naturales: progestinas, andrógenos y estrógenos. Dentro del grupo de las progestinas, la progesterona es la más importante, en el grupo de los andrógenos la testosterona es la más potente y en el grupo de los estrógenos se encuentran los esteroides estrogénicos  $17\beta$ -estradiol, estrona y estriol. La progesterona y testosterona son biodegradables y no se detectan en el efluente final de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Suidan *et al.*, 2005).

Los esteroides son lípidos derivados del núcleo del hidrocarburo esterano, caracterizado por cuatro anillos que constituyen el núcleo de la molécula y conocida como ciclopentanoperhidrofenantreno o esteroide, todas las hormonas esteroideas derivan de esta estructura y mediante variaciones estructurales diversas se obtienen moléculas con funciones distintas como las hormonas (Melo *et al.*, 2007).

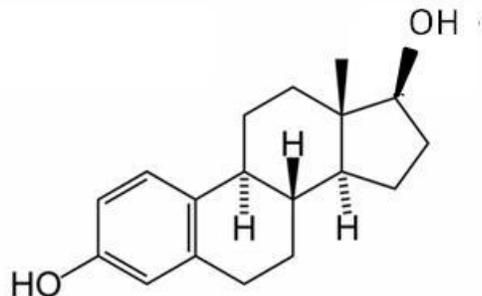
Los esteroides estrogénicos son considerados las principales fuentes de actividad estrogénica en agua residual tratada y los efluentes de las plantas de tratamiento son responsables de efectos de disrupción endócrina en cuerpos de agua receptores (Hashimoto y Murakami, 2009). Los esteroides estrogénicos naturales estrona (E1),  $17\beta$ -estradiol (E2) y el sintético  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2) son reportados como sustancias con alta potencia de disrupción endócrina. El  $17\alpha$ -etinilestradiol, el compuesto activo de las píldoras anticonceptivas, es

recalcitrante y es considerado el principal contribuidor a la actividad estrogénica en el ambiente (Suidan *et al.*, 2005). Las fuentes en aguas residuales son los esteroides estrogénicos naturales en humanos y otros vertebrados. Son usados en medicina humana, particularmente en terapias de reemplazo hormonal, pastillas anticonceptivas, tratamiento de desórdenes ginecológicos y en el tratamiento de cáncer de próstata y mama (Johnson y Harvey, 2002).

Los esteroides estrogénicos son excretados principalmente como conjugados inactivos (glucoronidos o sulfatos). Hay evidencia de que los esteroides conjugados excretados pueden ser desconjugados (reactivados) durante el proceso de ruptura bacteriana en las plantas de tratamiento de aguas residuales y en el medio ambiente (Botham *et al.*, 2003). La desconjugación ocurre durante el tratamiento del agua por la presencia de la bacteria *Escherichia coli* en los desechos fecales. Esta bacteria sintetiza la enzima  $\beta$ -glucuronidasa, responsable de la transformación anterior (Ascenzo *et al.*, 2003). Su eliminación incompleta durante el tratamiento de aguas residuales da como resultado un efluente activo endocrinológicamente.

Los peces son los más sensibles a los efectos de disrupción endócrina. Estudios de laboratorio en peces han indicado la siguiente clasificación de actividad: etinilestradiol>estradiol>estrone>estriol (Botham *et al.*, 2003).

### 1.3.1 $17\beta$ -estradiol (E2)



**Figura 1.1** Estructura del  $17\beta$ -estradiol (E2)

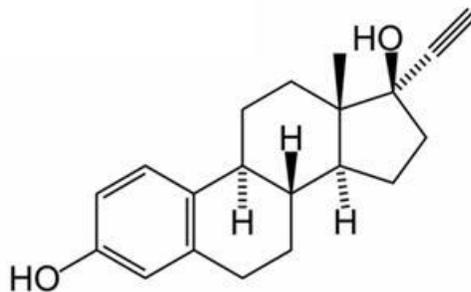
El 17 $\beta$ -estradiol (E2) es excretado principalmente en la orina, el nivel promedio en la orina de una mujer no embarazada es 3.5  $\mu\text{g/d}$ , durante el embarazo 259  $\mu\text{g/d}$ , durante la post menopausia 1.0  $\mu\text{g/d}$  y en el hombre un promedio de 1.6  $\mu\text{g/d}$  (Suidan *et al.*, 2005). Se usa en medicina humana en terapias de reemplazo hormonal, en el tratamiento de desórdenes ginecológicos y en el tratamiento de cáncer de próstata y mama, también es usado como potenciador de crecimiento en medicina veterinaria (Johnson y Harvey, 2002). Ha sido detectado en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales en concentraciones que llegan a 158 ng/L E2 (Johnson y Harvey, 2002; Liu *et al.*, 2009), en aguas superficiales se pueden alcanzar concentraciones de 27 ng/L (Janex-Habibi *et al.*, 2009), en agua subterránea se han llegado a encontrar 80 ng/L y en agua potable hasta 2.6 ng/L E2 (Liu *et al.*, 2009). Afecta la reproducción y desarrollo en peces, los datos de exposición acuática muestran concentraciones típicas de 1-5 ng/L indicando riesgo para peces y otros vertebrados acuáticos en términos de disrupción endócrina (Johnson y Harvey, 2002), sus propiedades se presentan en la Tabla 1.2.

**Tabla 1.2** Propiedades del 17 $\beta$ -estradiol (E2)

Fórmula química	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>
Peso molecular	272.4 g/mol
<b>Propiedad físico-química</b>	<b>Valor</b>
Estado físico a temperatura ambiente	Sólido
Solubilidad en agua	3.6-13 mg/L a 20°C
Presión de vapor	1.26×10 <sup>-8</sup> mmHg
pK <sub>a</sub>	10.4-10.71
Constante de la ley de Henry (H)	3.64×10 <sup>-11</sup> Pa·m <sup>3</sup> /mol
Coeficiente de partición octanol-agua (logKow)	2.69-4.01
Coeficiente de partición carbono orgánico-agua (logKoc)	2.78-3.4

Referencias (Johnson y Harvey, 2002; Clara *et al.*, 2004; Bodzek *et al.*, 2006; Snyder *et al.*, 2006; Trenholm *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2009).

### 1.3.2 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2)



**Figura 1.2** Estructura del 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2)

El 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) se usa en medicina humana para tratar desórdenes ginecológicos y cáncer de mama, sin embargo, su mayor uso es en píldoras anticonceptivas. Cada píldora anticonceptiva contiene de 20-35  $\mu\text{g}$  EE2 y más del 80% es eliminado como conjugados no metabolizados. Este compuesto es más persistente en los sistemas de tratamiento de aguas residuales comparado a las hormonas naturales. Debido a la presencia de un grupo etinil adicional, el anillo se vuelve estable contra la oxidación en comparación con el natural E2. No se espera que la volatilización juegue un papel importante en su remoción del agua residual ya que su constante de la ley de Henry es más baja que  $10^{-4}$  y su relación H/Kow es más baja que  $10^{-9}$  (Cirja, 2007). El 17 $\alpha$ -etinilestradiol ha sido detectado en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales en concentraciones que van desde 1 a 6 ng/L, llegando arriba de 106 ng/L y en las aguas superficiales receptoras se alcanzan concentraciones tales como 20 ng/L EE2 (De Gusseme *et al.*, 2009) y hasta 30.8 ng/L, en agua subterránea se han llegado a encontrar 0.94 ng/L y en agua potable hasta 0.5 ng/L EE2 (Liu *et al.*, 2009). Los datos de las propiedades físico-químicas del 17 $\alpha$ -etinilestradiol (Tabla 1.3) y su destino indican que es una sustancia persistente en el ambiente acuático. Presenta un riesgo para

peces y otros vertebrados acuáticos en términos de efectos de disrupción endócrina. En peces sus efectos considerados endócrinos en la reproducción y desarrollo ocurren a concentraciones bajas ( $> 0.3-1$  ng/L) (Johnson y Harvey, 2002).

**Tabla 1.3** Propiedades del  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2)

Fórmula química	$C_{20}H_{24}O_2$
Peso molecular	296.4 g/mol
<b>Propiedad físico-química</b>	<b>Valor</b>
Estado físico a temperatura ambiente	Sólido
Solubilidad en agua	4.7-19 mg/L
Presión de vapor	$2.76 \times 10^{-9}$ mmHg
$pK_a$	10.4-10.7
Constante de la ley de Henry (H)	$7.94 \times 10^{-12}$ Pa·m <sup>3</sup> /mol
Coefficiente de partición octanol-agua (logKow)	3.67-4.2
Coefficiente de partición carbono orgánico-agua (logKoc)	3.8

Referencias (Johnson y Harvey, 2002; Clara *et al.*, 2004; Bodzek *et al.*, 2006; Snyder *et al.*, 2006; Trenholm *et al.*, 2006; Cirja, 2007; Liu *et al.*, 2009).

## 1.4 Microorganismos patógenos en aguas residuales

La infección por patógenos es uno de los riesgos asociados con las aguas residuales. Los principales mecanismos de transmisión son la ingestión de agua contaminada y el contacto. La fuente de infección directa es la materia fecal que contamina el agua y se instala en nuevos huéspedes a través de la ingestión (Gutierrez *et al.*, 1994). En general los patógenos causan principalmente gastroenteritis que se refiere a la inflamación del estómago e intestinos, con la consecuencia de diarrea y gran malestar, 50% de estos casos se deben al consumo de agua contaminada por heces y se atribuyen a microorganismos específicos o toxinas generadas por ellos (Solarte *et al.*, 2006).

Los organismos patógenos encontrados en el agua pueden clasificarse en cuatro categorías: bacterias, protozoos, helmintos y virus. Las bacterias son las más comúnmente encontradas en el agua residual, debido a que están presentes en las heces de los individuos infectados, las aguas residuales domésticas contienen gran variedad de bacterias en concentraciones no patogénicas y patogénicas, tienen un tamaño entre 0.3  $\mu\text{m}$  en diámetro y 50  $\mu\text{m}$  en largo. Las bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* y *Vibrio cholera* causan enfermedades infecciosas intestinales (Metcalf y Eddy, 2003).

Las enfermedades relacionadas con los protozoos son principalmente la amebiasis, giardiasis y criptosporidiosis (Rittman y McCarty, 2001). Los protozoos tienen un tamaño entre 1  $\mu\text{m}$  en ancho y 20  $\mu\text{m}$  en largo (Metcalf y Eddy, 2003).

En aguas residuales se encuentran también una gran variedad de huevos de helminto con tamaño entre 20  $\mu\text{m}$  en ancho y 70  $\mu\text{m}$  en largo (Metcalf y Eddy, 2003). Su principal característica epidemiológica es su larga persistencia en el ambiente, una mínima dosis infecciosa, limitada respuesta inmune y la habilidad de permanecer viable en suelos por largos periodos de tiempo (Pant y Mittal, 2008). Provocan enfermedades como ascariasis, enterobiasis, fasciolosis, hymenolepiasis, taeniasis y trichuriasis.

Solo unos pocos de los virus que infectan al ser humano proceden realmente del agua. Los virus tienen un tamaño entre 0.020-0.080  $\mu\text{m}$  (Metcalf y Eddy, 2003) y el virus procedente del agua que más preocupa es el que provoca la hepatitis infecciosa, el virus Hepatitis A (Rittman y McCarty, 2001).

#### **1.4.1 Organismos indicadores**

Debido a que el número de organismos patógenos presentes en las aguas residuales son por lo general pocos y difíciles de aislar e identificar, se utilizan microorganismos que son más numerosos y de determinación más sencilla como indicador de la presencia de organismos patógenos.

El organismo indicador debe estar presente cuando la Las características de un organismo indicador son las siguientes:

1. contaminación fecal está presente.
2. El número de organismos indicadores presentes debe ser igual o mayor que los organismos patógenos.
3. El organismo indicador debe exhibir las mismas o mayores características de supervivencia en el ambiente que los organismos patógenos.
4. El organismo indicador no debe reproducirse fuera del organismo huésped.
5. El aislamiento y la cuantificación de un organismo indicador debe ser más rápido que de los patógenos.
6. El organismo debe ser un miembro de la microflora intestinal de animales de sangre caliente (Metcalf y Eddy, 2003).

Los organismos específicos que han sido usados o propuestos para su uso como indicadores de contaminación fecal son: bacterias coliformes totales, bacterias coliformes fecales, *Klebsiella*, *E. coli*, bacteroides, estreptococos fecales, enterococos, *Clostridium perfringens*, *P. aeruginosa* y *A. hydrophila* (Metcalf y Eddy, 2003).

Los organismos coliformes que son más numerosos y de determinación más sencilla tienen un tamaño de  $0.5 \times 2-5 \mu\text{m}$  (Maya *et al.*, 2002), su concentración en agua residual es de  $10^7-10^9$  NMP/100 mL y su presencia se interpreta como una indicación de que los organismos patógenos también pueden estar presentes. El tracto intestinal de humanos contiene una gran población de bacterias coliformes, cada persona excreta de 100 a 400 billones de bacterias coliformes por día, en adición a otras clases de bacterias. Las bacterias coliformes en el ambiente han sido tomadas como una indicación de organismos patógenos asociado con heces y su ausencia se toma como una indicación de que el agua está libre de organismos productores de enfermedades (Metcalf y Eddy, 2003).

Típicamente las bacterias coliformes son organismos gram-negativo que fermentan lactosa con producción de gas en 24 a 48 h a  $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ . También pueden crecer en el suelo, por lo tanto, la presencia de coliformes no siempre significa contaminación por residuos humanos. El grupo de coliformes totales incluye cuatro géneros, estos son *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*. Dentro de este grupo, el género *Escherichia* (especies *E.coli*) por su gran número presente en las heces humanas es representativo de contaminación fecal y de la posible presencia de patógenos entéricos en el agua.

Como la mayoría de los patógenos microbianos presentes en aguas son de origen fecal, los coliformes fecales se usan como indicadores de contaminación fecal ya que las heces contienen dichos microorganismos presentes en la flora intestinal. Su concentración en las aguas residuales va de  $10^6$  a  $10^8$  NMP/100 mL. El grupo de bacterias coliformes fecales se estableció basado en la habilidad de producir gas a una temperatura de incubación elevada ( $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$  para  $24 \pm 2$  h).

Los enterococos son generalmente encontrados en número menor que otros organismos indicadores, tienen un tamaño entre  $0.5-4 \mu\text{m}$  y su concentración en agua residual va de  $10^4$  a  $10^5$  NMP/100 mL; sin embargo, ellos exhiben mayor supervivencia en agua salada (Metcalf y Eddy, 2003).

## **1.5 Biorreactores con membranas**

Un biorreactor con membranas (BRM) es un sistema en donde se combina un proceso biológico y un proceso de separación física sólido/líquido mediante un módulo de membranas en el intervalo de la microfiltración y ultrafiltración (Blasco, 2001). Es una opción cuando las aguas residuales son difíciles de degradar y requieren edades de lodo elevadas, también en aquellas aguas que favorecen la formación de flóculos biológicos que decantan mal o que tienden a flotar. Así, los biorreactores con membranas son una modificación de los procesos convencionales de tratamiento biológico donde tiene lugar el reemplazo del sedimentador secundario por unidades de membranas. El proceso de membrana tiene la ventaja de permitir una mayor concentración de biomasa en el reactor y puede eliminar la necesidad de un proceso de desinfección separado.

### **1.5.1 Desarrollo de los biorreactores con membranas**

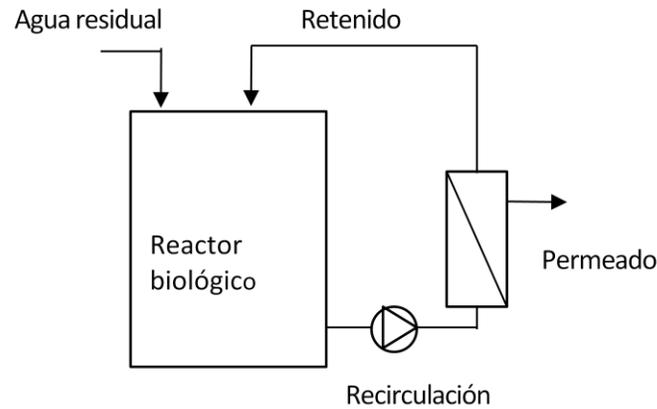
En la década de los 60s la compañía Dorr-Oliver desarrolló un sistema en donde el agua de alimentación entraba en un biorreactor desde donde se enviaba de forma continua a un módulo de membrana de ultrafiltración y en la década de los 70 la tecnología entró por primera vez en el mercado japonés gracias a un acuerdo entre las compañías Dorr-Oliver y Sanki Engineering. En las primeras plantas comerciales las membranas se situaban externamente al tanque de aireación, estas plantas consumían bastante energía ya que trabajaban a presión. Aproximadamente en la misma época Thetford Systems, actualmente parte de Zenon Environmental, lanzó su versión de un sistema externo (“proceso Cycle-Let”) para el tratamiento aerobio de las aguas residuales y a finales de los 80 y principios de los 90 Zenon Environmental continuó desarrollando sistemas para el tratamiento de aguas residuales industriales, obteniendo dos patentes del sistema comercial Zenon. En 1982 Zenon patentó su sistema ZenoGem basado en membranas de fibra hueca sumergidas en el biorreactor. En 1989 el Gobierno Japonés junto con importantes compañías invirtieron en el desarrollo de un sistema compacto, que produjera un efluente de elevada calidad que permitiera su

reutilización y una de las compañías participantes fue Kubota quien desarrolló una membrana de estructura plana sumergida en el biorreactor.

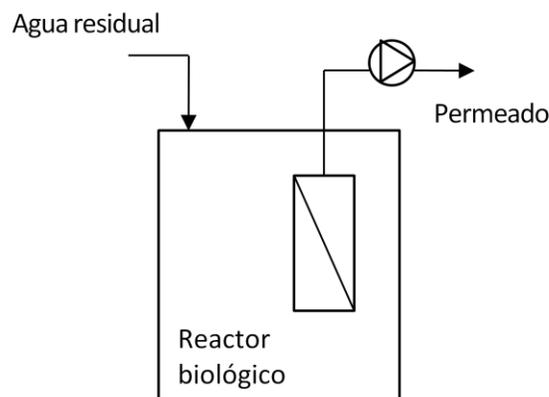
La primera generación de BRM era cara de construir y de mantener, el recambio de membranas y costo energético era elevado. La última generación de biorreactores con membranas sumergidas ha resuelto la mayoría de los problemas operacionales de la primera generación, el uso de membranas sumergidas ha reducido significativamente los consumos energéticos y la reducción del costo de las membranas ha afianzado su uso en el tratamiento del agua residual. Comparando con las tecnologías tradicionales de tratamiento de aguas residuales, la tecnología de BRM puede implementarse en una superficie menor y produce un efluente de mejor calidad. Finalmente, la primera planta de tratamiento de aguas residuales municipales a escala real con un biorreactor con membranas fue la planta de tratamiento Rôdingen que entró en operación en 1998 en la parte oeste de Alemania (Wintgens *et al.*, 2003).

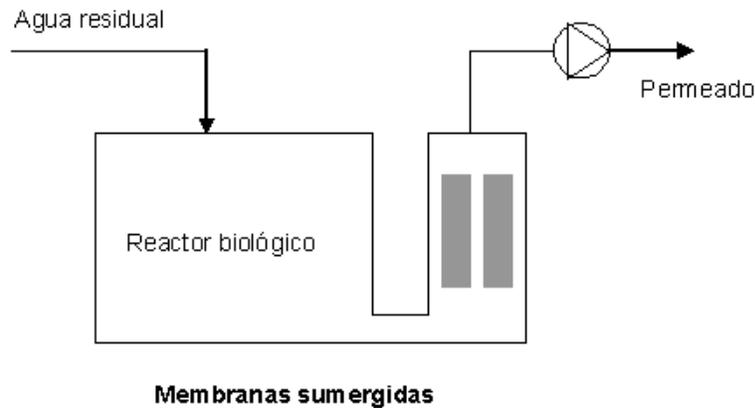
### **1.5.2 Fundamentos de los biorreactores con membranas**

En un biorreactor con membrana la separación del lodo se realiza con una membrana de micro o ultrafiltración y al no depender de la decantabilidad del lodo se puede aumentar la concentración de biomasa hasta unas cinco veces respecto al proceso convencional de lodos activados, con lo que se puede reducir el volumen del reactor. Los biorreactores con membranas pueden ser de membranas sumergidas en los lodos activados o de membranas externas. Inicialmente la separación sólido-líquido se conseguía bombeando la biomasa a elevadas presiones hasta el módulo de membranas, el permeado pasaba a través de las membranas y el concentrado se devolvía al reactor, este sistema es conocido como BRM de circuito externo, el diagrama se muestra en la Figura 1.3. Las membranas empleadas en los BRM de circuito externo, pueden ser planas, tubulares o en espiral (Centro Canario del Agua, 2003).

**Membranas externas****Figura 1.3 BRM de circuito externo**

Con la finalidad de reducir el consumo de energía se sumergieron las membranas en el reactor biológico para extraer el agua tratada a través de ellas por succión, este sistema se denomina BRM de segunda generación o de circuito interno. Las membranas sumergidas se pueden introducir en el reactor biológico como se muestra en la Figura 1.4, o en un depósito anexo con el fin de facilitar los procesos de limpieza de las membranas (Figura 1.5).

**Membranas sumergidas****Figura 1.4 BRM de circuito interno**



**Figura 1.5 BRM de circuito interno en un depósito anexo**

En los BRM sumergidos, la aireación además de suministrar el oxígeno necesario para el proceso biológico, reduce el ensuciamiento sobre la superficie de las membranas, este ensuciamiento está influenciado por las condiciones hidrodinámicas de operación del sistema, como el flujo de permeado, la aireación y la concentración de sólidos. Un incremento en la velocidad de flujo de aire estimula la eficiencia de la remoción de la capa de ensuciamiento, pero hay un valor crítico más allá del cual el incremento de la velocidad de flujo de aire ya no tiene mayor efecto (Bouhabila *et al.*, 1998).

Los BRM de membrana sumergida son los más utilizados. La aparición de membranas orgánicas más económicas junto con los bajos costos energéticos y mayores flujos de filtración han acelerado en todo el mundo el uso comercial de los BRM de circuito interno. Se considera que el consumo de energía para unidades de membrana externa es de 2-10 kWh/m<sup>3</sup> mientras que para las sumergidas es de 0.2 a 0.4 kWh/m<sup>3</sup> (Centro Canario del Agua, 2003).

Además de las diferencias en la disposición de las membranas, las dos configuraciones se diferencian por la tecnología utilizada para crear el gradiente de presión entre ambos lados de la membrana (fuerza directriz). En los

biorreactores con membranas sumergidas la fuerza impulsora a través de la membrana se alcanza presurizando el biorreactor o creando presión negativa en el lado de permeado de la membrana, o sea mediante la aspiración a través de la propia membrana. En cambio, en los BRM externa, la fuerza impulsora es la presión creada por la alta velocidad del flujo de recirculación a través de la superficie de la membrana.

Las membranas de microfiltración (MF) tienen tamaños de poro de 0.1  $\mu\text{m}$  o mayores y proporcionan elevada eliminación de sólidos en suspensión incluyendo la mayoría de bacterias, así como la eliminación parcial de virus y macromoléculas. Las membranas de ultrafiltración (UF) tienen tamaños de poro que van desde de 0.05  $\mu\text{m}$  hasta 0.1  $\mu\text{m}$ , rechazan macromoléculas y gran parte de microorganismos como virus y bacterias. Las membranas de nanofiltración (NF) tienen poros de tamaño inferior a 0.01  $\mu\text{m}$ , pero raramente son utilizadas en biorreactores con membranas debido a su alta resistencia hidráulica (Fane y Chang, 2002).

Principalmente existen dos tipos de materiales de membranas que se suelen utilizar en los biorreactores con membranas, cerámicos y poliméricos. Las membranas cerámicas son muy frágiles por lo que la mayoría de las empresas que comercializan membranas destinadas a tratamiento de aguas utilizan membranas poliméricas. Hay una extensa gama de materiales que se pueden utilizar para fabricar membranas, aunque las más comúnmente utilizadas en los biorreactores con membranas son las de polifluoruro de vinilideno  $-(\text{CH}_2-\text{CF}_2)_n$  (PVDF), polisulfona (PS), polietilsulfona (PES), polietileno (PE) y polipropileno (PP).

### **1.5.3 Configuraciones de los módulos**

Los cuatro tipos principales de módulos son: placa plana (placa y bastidor), arrollamiento en espiral, tubular y fibra hueca.

Los biorreactores con membranas sumergidas requieren un módulo que pueda eliminar los sólidos en suspensión, tenga una demanda de energía baja y que

tenga una densidad compacta, estos requerimientos sugieren el uso de membranas de placa plana o fibra hueca. Los módulos de fibra hueca son muy compactos ya que la superficie de membrana por unidad de volumen que presentan es elevada.

En el sistema de membranas de fibra hueca la alimentación se puede producir de dos maneras. La alimentación puede ingresar al interior de la membrana y el permeado se obtiene al pasar del interior al exterior, estas membranas son las más susceptibles de ser contaminadas colmatándose rápidamente la fibra por los sólidos. En otra forma la alimentación es por fuera de la membrana y el permeado se obtiene al pasar del exterior al interior de la fibra, quedando el retenido en el exterior.

#### **1.5.4 Fuerza de filtración**

La fuerza empleada para filtrar el agua a través de las membranas en un BRM es un gradiente de presión conocido como presión transmembrana PTM (presión necesaria para hacer pasar el agua a través de la membrana). Trabajando a PTM constante, la deposición de partículas en la membrana causa disminución del flujo, la cual es inicialmente rápida pero poco a poco se va volviendo más gradual, en cambio, trabajando a flujo constante, los efectos de la deposición incrementan la PTM, ya que se debe ejercer una presión mayor para que pueda pasar la cantidad de agua fijada a través de la membrana. Esta PTM es inicialmente gradual pero se acelera cuando la membrana ya necesita limpiarse, un incremento en el TRH reduce el ensuciamiento de la membrana (Leiknes y Ødegaard, 2007). En los biorreactores con membranas se prefiere trabajar a flujo constante porque asegura un rendimiento constante.

En funcionamiento continuo, el flujo es más estable trabajando a bajas presiones transmembrana. Con altas presiones la compresión de los sólidos contra la superficie de las membranas es mayor, formándose más rápidamente una capa y ensuciando las membranas en menor tiempo. Existen presiones típicas para mantener un flujo estable con una correcta separación sólidos /líquido, siendo de 0.0 a (-0.8) bar (en ultrafiltración), cuanto más baja más eficiente. El retrolavado

ayuda a mantener controladas las presiones, ya que impide la formación de una capa gel.

### **1.5.5 Características de la biomasa**

Un BRM permite tener en el reactor una concentración de biomasa superior, mejorando la eficiencia de degradación con respecto al proceso de lodos activados convencional, pero la alta concentración de sólidos, sustancias coloidales y polímeros extracelulares disueltos contribuyen al ensuciamiento de la membrana (Van Nieuwenhuijzen *et al.*, 2008). Las especies disueltas contribuyen tanto al ensuciamiento interno como externo, es decir, pueden incrustarse en los poros de la membrana creando un ensuciamiento irreversible o bien contribuir a la formación de la capa sobre la superficie de la membrana. A partir de 15 a 20 g/L de biomasa, la viscosidad del licor mezclado aumenta provocando:

- Una disminución del flujo de permeado, haciendo que se necesite aumentar la velocidad de flujo cruzado o la presión transmembrana para mantener el flujo.
- La disminución de la turbulencia en las proximidades de las membranas, aumentando la posibilidad de que se depositen más partículas sólidas.
- Aumenta la dificultad de la transferencia de oxígeno a los microorganismos (Crespi, 2008).

Se han identificado a las sustancias poliméricas extracelulares (EPS) como uno de los factores causantes del ensuciamiento, su papel es importante en formación de flóculos y en el proceso de formación de la capa durante la filtración, ya que incrementan las propiedades de adherencia entre la biopelícula y el material de la superficie de la membrana incrementando la resistencia hidráulica, estas sustancias se producen como consecuencia del metabolismo microbiano en el proceso de biodegradación de la materia orgánica presente en el agua residual, formadas principalmente por proteínas y carbohidratos. Altas concentraciones de EPS promueven la formación de grandes flóculos y por lo tanto se incrementa la filtrabilidad, mientras que los carbohidratos, que están presentes en más bajas

concentraciones, tienen mayor impacto que las proteínas en la filtrabilidad y el ensuciamiento. Durante la filtración, los productos microbianos solubles se adsorben a la superficie, bloquean de forma progresiva los poros de la membrana o forman una estructura que constituye una posible fuente de nutriente para la biopelícula de microorganismos, esto ocasiona también una resistencia hidráulica al flujo de permeado (Reid *et al.*, 2008). Hay un cambio a partículas más grandes con un incremento de TRH el cual puede atribuirse a la hidrólisis de partículas orgánicas coloidales o un efecto de incremento de mecanismos de floculación (Leiknes y Ødegaard, 2007).

Para prevenir la continua acumulación de sólidos sobre la superficie, se lleva a cabo el retrolavado de la membrana, una pequeña parte del agua tratada se almacena en un depósito para luego utilizarse en el retrolavado eliminando los sólidos que quedan retenidos en su superficie. Generalmente, el flujo de retrolavado es 1.5 veces el flujo de permeado. La frecuencia de limpieza depende de las condiciones de operación (tiempo de operación, características del agua de alimentación, del flujo de permeado, entre otros). En algunas ocasiones la limpieza se realiza mediante lavado químico.

### **1.5.6 Ventajas de los biorreactores con membranas**

#### **A. Calidad del agua tratada**

El problema del sistema de lodos activados convencional es la sedimentabilidad de la biomasa en los sedimentadores secundarios y el contenido de sólidos en suspensión en el efluente de éstos que puede afectar a la calidad del efluente. En un BRM la calidad del agua tratada no depende de la decantación del lodo, este factor es importante en el tratamiento de efluentes industriales donde es común la proliferación de microorganismos filamentosos, por lo tanto, la alta calidad del efluente puede atribuirse a la ausencia de sólidos suspendidos (Van Nieuwenhuijzen *et al.*, 2008).

La presencia de la membrana permite una retención eficaz de los sólidos suspendidos, coloides y microorganismos dentro del biorreactor, además se

puede simultáneamente tratar biológicamente y desinfectar el agua. La membrana puede retener las sustancias poliméricas con elevados pesos moleculares que son retornadas al biorreactor y en el caso de ser biodegradables se metabolizan, aumentando la calidad del permeado, por otro lado, las sustancias orgánicas con pesos moleculares bajos y que no se eliminarían sólo con la membrana, son biodegradadas por los microorganismos o bien convertidas en polímeros formando parte de las células bacterianas (Blasco, 2001).

### **B. Flexibilidad de operación**

La sustitución del sedimentador secundario por un módulo de membranas permite la operación del reactor biológico con altas concentraciones de biomasa, el tiempo de retención celular se puede controlar de forma independiente al tiempo de residencia hidráulica, por lo que es posible mantener una edad del lodo elevada que favorece el desarrollo de microorganismos de crecimiento lento como las bacterias nitrificantes, de este modo aumenta la eliminación de productos lentamente biodegradables. El tiempo de retención celular también tiene influencia en el ensuciamiento de la membrana, es similar para 10 y 20 días, pero arriba de 30 días el ensuciamiento disminuye (Bouhabila *et al.*, 1998)

### **C. Tamaño compacto de la planta**

La operación de los reactores con mayores concentraciones de biomasa posibilita disminuir su volumen obteniendo un efluente de igual calidad. Además, hay un ahorro importante en espacio puesto que se elimina el decantador secundario y el tratamiento terciario para llegar a una misma calidad del agua tratada que en sistemas convencionales seguidos de un proceso terciario. El volumen de un BRM suele ser de 2 a 5 veces inferior al del sistema convencional (Crespi, 2008).

### **D. Baja producción de lodos**

El tiempo de retención celular en los BRM es mayor que en el sistema convencional de lodos activados, por lo tanto, se generan tiempos de permanencia prolongados de la biomasa y de los nutrientes en el sistema, además una disminución de la proporción entre nutrientes y microorganismos existentes. Esta

proporción debe garantizar que las bacterias reciban suficiente alimento para sobrevivir, aunque el índice de crecimiento es limitado, así, después de un tiempo relativamente corto se obtiene un equilibrio entre la biomasa viva y muerta. La biomasa muerta se descompone rápidamente y sirve a su vez como nutriente para la biomasa viva, reduciendo de esta manera la producción de lodo.

Al tratar agua residual municipal se observa una caída en el crecimiento cuando el tiempo de retención celular es mayor a 80 días. Se ha demostrado que incluso tiempos de retención celular superiores a 100 días también reducen la producción de lodo ya que la mayor parte del sustrato se utiliza para obtener energía en lugar de producir biomasa. Normalmente la producción de lodos es entre un 30 y un 50 % inferior a la de un sistema convencional (Crespi, 2008).

### **E. Desinfección**

La filtración a través de la membrana permite la reducción de bacterias y virus sin la utilización de reactivos químicos, este factor es de gran importancia para la reutilización. La membrana actúa como una barrera para los microorganismos, logrando reducciones en bacterias y virus entre 4 y 8 órdenes de logaritmos (Crespi, 2008). El descenso de los virus se atribuye al hecho de encontrarse adheridos a los sólidos en suspensión que no atraviesan la membrana.

### **F. Elevada tasa de degradación**

A causa de la alta concentración del lodo y a que la reacción de degradación es exotérmica, la temperatura en el biorreactor se mantiene elevada incluso en tiempo frío. De la combinación de una alta tasa de utilización del sustrato, junto con una alta concentración de biomasa, resulta una tasa de conversión por metro cúbico de volumen de reactor de 10 a 15 veces superior a la obtenida en un proceso convencional. El pequeño tamaño de los flóculos (diámetro medio 50  $\mu\text{m}$  comparado a 300-500  $\mu\text{m}$  en un tratamiento de lodos activados convencional) favorece el acceso del oxígeno y de la materia orgánica a los microorganismos, aumentando el nivel de actividad del sistema (Ternes *et al.*, 2004; Crespi, 2008).

## **1.6 Remoción de esteroides estrogénicos en los procesos de tratamiento de aguas residuales**

Los esteroides estrogénicos naturales y sintéticos son considerados los mayores contribuidores de actividad estrogénica asociada con los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales debido a su remoción incompleta durante el tratamiento (Cajthaml *et al.*, 2009). 17  $\beta$ -estradiol y 17  $\alpha$ -etinilestradiol también han sido encontrados en muestras de agua potable a concentraciones arriba de 2.1 y 0.5 ng/L respectivamente, esto como consecuencia de obtener agua potable de agua superficial contaminada con estos compuestos (Bodzek *et al.*, 2006).

Se ha mostrado que ozono/peróxido de hidrógeno reducen estrogenicidad de efluentes secundarios de plantas de tratamiento de aguas residuales a escala real (Botham *et al.*, 2003). Los procesos de oxidación avanzada, como tratamiento con ozono y fotólisis UV, parecen ser efectivos para la oxidación de algunos farmacéuticos, pero los productos de oxidación final todavía pueden ejercer actividad endócrina en algunos casos y/o podrían ser más tóxicos que los compuestos originales (De Gusseme *et al.*, 2009). Con el reactivo Fenton se puede observar una buena remoción a condiciones ácidas (pH 3), pero esto es de poco interés para aplicación práctica en tratamiento de aguas residuales municipales (Ternes *et al.*, 2004).

En los tratamientos modernos de aguas residuales una gran parte de la remoción de esteroides estrogénicos se lleva a cabo mediante tratamientos terciarios (Braga *et al.*, 2005) y se ha demostrado que procesos con membranas (nanofiltración y ósmosis inversa) pueden retener estos compuestos (Nghiem *et al.*, 2002; Snyder *et al.*, 2006). La aplicación de nanofiltración hace posible remover esteroides estrogénicos en un alto grado mayor de 63% mediante NF y más de 81.5% mediante coagulación-NF (Bodzek *et al.*, 2006).

### 1.6.1 Remoción de esteroides estrogénicos en lodos activados

Las condiciones aerobias son favorables para la remoción efectiva de esteroides estrogénicos en el proceso de tratamiento biológico de aguas residuales. Bajo condiciones anóxicas su remoción es más lenta, aproximadamente 20% de 17  $\beta$ -estradiol (E2) se mantiene en el agua y en el lodo (Hashimoto y Murakami, 2009). Además bajo estas condiciones los esteroides estrogénicos tienen un gran potencial de acumularse en sedimentos. No se observa pérdida significativa de la suma de E1 y E2, o de EE2 en lodos activados durante experimentos bajo estrictas condiciones anaerobias (Cajthaml *et al.*, 2009). En experimentos en lote con lodos activados y concentraciones de oxígeno disuelto entre 1.0 y 3.0 mg/L se remueve más del 99% de E2 agregado con una concentración inicial de 1,000 ng/L en agua residual sintética.

En un estudio en el que se muestreó durante seis meses un conjunto de plantas de tratamiento se encontró que con el proceso de lodos activados convencional se alcanzó una remoción media de 62.2% de E2 y los lodos activados en doble etapa alcanzaron remociones de 81.8% (Hernández *et al.*, 2006).

Se considera que el corto tiempo de residencia hidráulica es responsable del bajo rendimiento de las plantas de tratamiento, además las concentraciones de esteroides estrogénicos en el efluente tienden a ser más altas en las plantas de lodos activados convencionales que operan a menores tiempos de retención celular. La degradación de estos compuestos mediante procesos biológicos puede ocurrir bajo tiempos de retención celular prolongados en las plantas de tratamiento de aguas residuales. El tiempo de retención celular necesario para implementar una nitrificación-desnitrificación (12 días) combinado con un largo tiempo de residencia hidráulica dentro de la planta (1 día) contribuye a altos niveles de remoción (Suidan *et al.*, 2005; Chang *et al.*, 2006; Hashimoto y Murakami, 2009). En plantas de tratamiento de aguas residuales municipales que incluyen un paso de nitrificación, las degradaciones de esteroides estrogénicos oscilan entre 79 y 95% y la biodegradación esta principalmente relacionada a la actividad nitrificante (Vader *et al.*, 2000).

Para tiempos de retención celular superiores a 5 días, la degradación de las hormonas naturales E1, E2, E3, testosterona, androstenediona y progesterona se encuentra generalmente arriba del 90%. Las remociones reportadas para EE2 van entre 25% y 80% (Esperanza *et al.*, 2007).

Debido a la naturaleza no polar e hidrofóbica de estos compuestos, los cuales sus coeficientes de partición octanol-agua se encuentran entre 2.5 y 5 se favorece su adsorción a las partículas y su concentración en los lodos, lo que da como resultado la detección de esteroides estrogénicos en los lodos digeridos y en el agua procedente de los procesos de deshidratación del lodo (Noir *et al.*, 2007).

A edades de lodo de remoción de nutrientes (mayores o iguales de 10 d) se alcanza degradación biológica de EE2 mayor de 90% y la cantidad removida por adsorción sobre el lodo es menor de 5%; esta mejora puede ser debida al crecimiento de microorganismos tales como las bacterias nitrificantes, capaces de degradarlo (Ternes *et al.*, 2004; Melin *et al.*, 2006; Wang e Ivanov, 2009). En pruebas de adsorción de EE2 a lodos activados nitrificantes se mostró que la biosorción por la biomasa es afectada por la concentración inicial de amoníaco y a mayor concentración de amoníaco el papel de la biodegradación es más importante en la remoción de EE2 que su biosorción (Yi *et al.*, 2006).

### **1.6.2 Biodegradación de 17 $\beta$ -estradiol (E2) y 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) por lodos activados nitrificantes**

Para la completa remoción de esteroides estrogénicos son necesarios tiempos de residencia hidráulica (TRH) y tiempos de retención celular (TRC) suficientemente largos. Se ha demostrado que los lodos activados nitrificantes son capaces de removerlos (Shi *et al.*, 2004; Yi *et al.*, 2006; Ren *et al.*, 2007; Cajthaml *et al.*, 2009; Wang e Ivanov, 2009).

La nitrificación es el proceso biológico de utilización y transformación de amoníaco a nitrato efectuada principalmente por bacterias autótrofas. El lodo activado nitrificante usado para oxidar amoníaco a nitritos y nitratos contiene gran cantidad de bacterias nitrificantes. El género más comúnmente reconocido de bacterias que

llevan a cabo el primer paso es el de *Nitrosomonas*; sin embargo, *Nitrosococos*, *Nitrosospira*, *Nitrosovibrio* y *Nitrosobolus* son también capaces de oxidar  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_2^-$ . Además de *Nitrobacter*, los nitritos también pueden ser oxidados por otras bacterias autótrofas del género *Nitrospira*, *Nitrospina*, *Nitrococos* y *Nitrocistis* (Rittman y McCarty, 2001; Metcalf y Eddy, 2003; Shi *et al.*, 2004).

Estos dos tipos de bacterias especializadas son aerobias obligadas, o sea, que solo funcionan en presencia de  $\text{O}_2$ . Estas bacterias también son quimiolitotróficas, lo que significa que pueden utilizar los compuestos inorgánicos oxidables como donantes de electrones en reacciones de oxidación, liberando energía necesaria para los procesos metabólicos (Manahan, 2007). La nitrificación es sensible al pH y las tasas disminuyen significativamente a valores de pH debajo de 6.8. A valores de pH cerca de 5.8 a 6.0, las tasas de nitrificación pueden ser de 10 a 20% de la tasa a pH de 7.0 y la nitrificación óptima ocurre a valores de pH en el rango de 7.5 a 8.0 (Metcalf y Eddy, 2003).

Los parámetros utilizados para controlar la nitrificación también influyen en la remoción de esteroides estrogénicos. Entre estos parámetros se encuentra la carga orgánica. La carga orgánica de las plantas de tratamiento de aguas con remoción de nutrientes es menor que en las plantas de tratamiento convencionales. Altas cargas orgánicas dan como resultado mayor transformación de carbono orgánico total, menor oxidación de amoníaco y menor degradación de esteroides estrogénicos (E1, E2, E3 y EE2), ya que una carga orgánica alta conduce a un incremento en la actividad heterótrofa, resultando menor degradación de E2 y EE2 (Ren *et al.*, 2007). Esto está de acuerdo con un estudio donde se reportó que la implementación del proceso de nitrificación en plantas de tratamiento de aguas residuales da como resultado un incremento significativo en la eficiencia de remoción de disruptores endócrinos comparado con plantas de tratamiento de aguas residuales con alta relación Alimento/Microorganismo (F/M) (Kreuzinger *et al.*, 2004).

La transformación secuencial de amoníaco a nitrato vía nitrito es desarrollada por dos grupos de bacterias autótrofas, las bacterias oxidantes de amoníaco y las

bacterias oxidantes de nitrito (Wang e Ivanov, 2009). Las bacterias oxidantes de amoníaco junto con otros microorganismos heterótrofos en lodos activados nitrificantes degradan los esteroides estrogénicos naturales y sintéticos (Shi *et al.*, 2004).

Los esteroides estrogénicos son removidos por uso directo como donadores de electrones para degradación por heterótrofos o vía cometabólica de la bacteria oxidante de amoníaco. El cometabolismo de la bacteria oxidante de amoníaco es el mecanismo de degradación principal en la remoción de E1, E2 y EE2 en el sistema de lodos activados nitrificantes. La velocidad de biodegradación es dependiente de la actividad de esta bacteria, al llevarse a cabo una mejor nitrificación se obtiene una degradación más rápida de E1, E2 y EE2 (Ren *et al.*, 2007).

Las bacterias heterótrofas no muestran actividad significativa a 4°C, pero la bacteria oxidante de amoníaco se mantiene activa, se obtiene una nitrificación estable resultando un decremento en la cantidad de amoníaco en solución y se observa que E2 es degradado y convertido a E1, por lo tanto, la degradación de E2 a 4°C es debido al cometabolismo de la bacteria oxidante de amoníaco (Ren *et al.*, 2007).

Se ha confirmado que los esteroides estrogénicos son biodegradados por las bacterias oxidantes de amoníaco al investigar la habilidad de degradación de la bacteria *N. europaea*. *Nitrosomonas europaea* es una bacteria quimiolitotrófica oxidante de amoníaco, usa amoníaco como única fuente de energía, derivando su energía para crecimiento exclusivamente de la oxidación de amoníaco a nitrito. Se mostró que *N.europaea* es capaz de degradar los esteroides estrogénicos naturales E1, E2, E3 y el sintético EE2, también es capaz de oxidar hidrocarburos y sus derivados, tales como metano, metanol, fenol y benceno, e hidrocarburos halogenados (Shi *et al.*, 2004).

El lodo activado nitrificante y la bacteria oxidante de amoníaco *N.europaea* degradan E1, E2, E3, y EE2, a pesar de que ocurren diferencias en sus productos de degradación, por ejemplo, E1 se genera cuando el lodo activado nitrificante

degrada E2, considerando que E1 no se genera cuando *N.europaea* degrada E2. Ambos exhiben diferente camino de degradación. Esto sugiere que la degradación de E2 vía E1 por el lodo activado nitrificante es causada por otras bacterias heterótrofas y no por bacterias nitrificantes como *N.europaea* (Shi *et al.*, 2004).

La adición de alitiourea (ATU), un inhibidor específico para la enzima amonio monooxigenasa, la cual cataliza el primer paso en la nitrificación, reduce la actividad de degradación de esteroides estrogénicos del lodo activado e inhibe el crecimiento de la bacteria oxidante de amoniaco *N.europaea* (Shi *et al.*, 2004; Ren *et al.*, 2007; Cajthaml *et al.*, 2009).

Los esteroides estrogénicos son degradados por los lodos activados nitrificantes con y sin la adición del inhibidor, por lo que la bacteria oxidante de amoniaco junto con otros microorganismos es responsable de la habilidad de degradación de esteroides estrogénicos ya que alitiourea es solo un inhibidor de la enzima amonio monooxigenasa en bacterias oxidantes de amoniaco y no un inhibidor de la enzima secretada por otros microorganismos en lodos activados nitrificantes, la cual también los degrada (Shi *et al.*, 2004).

El EE2 es recalcitrante y se considera el principal contribuidor a la actividad estrogénica en el ambiente (Suidan *et al.*, 2005). Debido a su persistencia hacia la transformación biológica, es importante saber cuáles son los microorganismos capaces de transformarlo (Cajthaml *et al.*, 2009).

El incremento en la actividad nitrificante es factor clave en la remoción de EE2 (Clouzot *et al.*, 2010). La biodegradación cometabólica de EE2 puede ocurrir en lodo activado nitrificante y la enzima amonio monooxigenasa (AMO) tiene un papel importante. La oxidación de amoniaco es iniciada por la enzima amonio monooxigenasa, esta enzima puede llevar a cabo reacciones que insertan oxígeno en las cadenas C-H. La actividad del lodo activado nitrificante probablemente resulta en hidroxilación, convirtiendo EE2 a productos hidrofílicos. Estos productos de degradación hidroxilados son esencialmente sin actividad estrogénica (Vader *et al.*, 2000). La concentración de amoniaco regula la actividad de la enzima amonio monooxigenasa, a más baja concentración inicial de amoniaco hay menos

actividad cometabólica responsable de la degradación de EE2, en cambio, cuando la concentración inicial de amoníaco incrementa, la transformación cometabólica de EE2 se vuelve más importante. Experimentos con lodos activados nitrificantes mostraron que la sorción de EE2 es más importante cuando la concentración inicial de amoníaco es 48 mg/L o menos, pero a concentraciones de amoníaco más altas el papel de la biodegradación se vuelve más importante (Yi *et al.*, 2006).

La nitrificación y la remoción de EE2 fueron inhibidas cuando se agregó alitiourea, mientras que en el tratamiento sin el inhibidor ocurrió la nitrificación y la remoción de EE2. La fuerte inhibición de remoción de EE2 y la confirmación de la presencia de la bacteria oxidante de amoníaco activa confirma la participación de esta bacteria en la eliminación de EE2. En un estudio en donde la bacteria oxidante de amoníaco y bacterias heterótrofas permanecieron activas y se confirmó la presencia de las bacterias oxidantes de nitritos *Nitrobacter* y *Nitrospira* se observó eficiencia de remoción de 96% de EE2 después de 214 h y casi completa nitrificación de amoníaco a nitrato, sin detección de nitrito. En la presencia del inhibidor ATU la concentración de amoníaco permaneció constante y la producción de nitratos después de 214 h fue despreciable, a pesar de todo se alcanzó una remoción de EE2 de 38% después de 214 h (De Gusseme *et al.*, 2009).

La máxima tasa de remoción de EE2 se alcanza cuando casi todo el amoníaco es oxidado a nitrato y puede asumirse que hay un efecto de competencia entre el amoníaco y EE2 para la remoción, lo cual podría ser la razón del porque la máxima remoción de EE2 es alcanzada más rápido con bajo contenido de amoníaco, por ejemplo, bajando la concentración de amoníaco en el influente de un biorreactor con membranas sumergidas de 19.2 a 0.8 mg/L hubo un incremento en la remoción de EE2 a 97% pero disminuyendo más la concentración de amoníaco disminuyó la eficiencia de remoción. A pesar de todo, la biomasa mantiene en menor medida su capacidad de remoción de EE2, aun cuando no se agrega amoníaco (De Gusseme *et al.*, 2009). Se ha encontrado que la remoción de EE2 por nitrificantes es mantenida aún dos meses después de no agregar  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  (Forrez *et al.*, 2008), la remoción de EE2 puede ocurrir con y sin la adición

de amoníaco (Vader *et al.*, 2000; Ren *et al.*, 2007), ya que la energía generada por la enzima amonio monooxigenasa se mantiene después de un tiempo sin  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ . Por ejemplo, después de 4 semanas sin la adición de  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , un cultivo nitrificante enriquecido comienza a oxidar amoníaco tan pronto como se agrega nuevamente y durante las condiciones oligotróficas ya que las bacterias nitrificantes como *N. europaea* son capaces de adaptarse a bajas concentraciones de amoníaco (De Gussemme *et al.*, 2009).

En cambio, al investigar también la transformación de EE2 con las bacterias *N. europaea* y *Nitrospira multiformis*, no se observó degradación sin la adición de  $\text{N-NH}_4$  o con una alimentación diaria de 10 mg/L  $\text{N-NH}_4$ , mientras que al incrementar las concentraciones de  $\text{N-NH}_4$  (200-500 mg/L) se observó transformación de EE2 y se confirmó su remoción por nitración. Este estudio sugiere que la remoción de EE2 a bajas concentraciones encontradas en sistemas de lodos activados en tratamiento de aguas residuales municipales no es debida a la degradación cometabólica de la bacteria oxidante de amoníaco, sino más probablemente debido a bacterias heterótrofas (Gaulke *et al.*, 2008).

### **1.6.3 Bacterias degradantes de 17 $\beta$ -estradiol (E2) y 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) aisladas de lodos activados**

Se ha reportado el uso de lodo activado nitrificante y las bacterias oxidantes de amoníaco *Nitrosomonas europaea* para degradar los esteroides estrogénicos E1, E2, E3, y EE2, sugiriendo que la degradación de E2 a E1 y la remoción de EE2 en lodo activado nitrificante es realizada también por bacterias heterótrofas (Shi *et al.*, 2004; Gaulke *et al.*, 2008).

14 diversas bacterias degradantes de 17 $\beta$ -estradiol aisladas de una planta de tratamiento de aguas residuales, distribuidas entre ocho diferentes géneros: *Aminobacter* (cepas KC6 y KC7), *Brevundimonas* (cepa KC12), *Escherichia* (cepa KC13), *Flavobacterium* (cepa KC1), *Microbacterium* (cepa KC5), *Nocardioides* (cepa KC3), *Rhodococcus* (cepa KC4) y *Sphingomonas* (cepas KC8-KC11 y KC14) fueron capaces de convertir 17  $\beta$ -estradiol (E2) a estrona (E1), pero solo tres cepas (KC6, KC7 y KC14) mostraron la habilidad de degradar estrona y solo

la cepa KC8 pudo usar 17 $\beta$ -estradiol como única fuente de carbón. Se observaron tres diferentes tipos de degradación, en el tipo A1 ocurrió rápidamente una completa transformación de 17  $\beta$ -estradiol a estrona (1 día), KC4, KC5, KC9, KC10, y KC11 exhibieron este tipo de degradación. Para el tipo A2 ocurrió la transformación de 17  $\beta$ -estradiol lentamente (7 días), exhibieron esta degradación las cepas KC1, KC2, KC3, KC12, KC13, y KC14, ambos tipos sin la degradación de estrona. El tipo de degradación B exhibió la habilidad de transformar estrona, después de la acumulación inicial de estrona durante la degradación de 17  $\beta$ -estradiol, las concentraciones de estrona comenzaron a disminuir después de 5 días, aproximadamente  $21 \pm 5\%$  y  $27 \pm 4\%$  de estrona fueron degradados por las cepas KC6 y KC7, respectivamente. Solo la cepa KC8 mostró la degradación tipo C, en el día 5 y 7 no se detectó ni 17  $\beta$ -estradiol ni estrona (Yu *et al.*, 2007).

En otro estudio se aislaron cinco cepas de bacterias degradantes de E2 pertenecientes al género *Bacillus* de lodo activado de una planta de tratamiento de aguas residuales (*Bacillus GJ24*, *Bacillus amyloliquefaciens BCRC 11601*, *Bacillus AH-E-1*, *Bacillus subtilis CICC10075* y *Bacillus cereus*). Todas fueron capaces de convertir E2 a E1 y solo dos cepas (*Bacillus GJ24* y *Bacillus cereus*) fueron capaces de transformar E1 (Jiang *et al.*, 2010).

Para la degradación de EE2, se aisló una cepa de microorganismos *Fusarium proliferatum* HNS-1 que pueden usarlo como única fuente de carbón y remover 97% de EE2 a una concentración inicial de 25 mg/L en 15 días, probando que tiene potencial para removerlo de descargas de agua residual de industrias ganaderas, quedando todavía presentes productos de su degradación (Shi *et al.*, 2002).

En otro estudio, se aisló del lodo activado de una planta de tratamiento de aguas residuales de anticonceptivos orales una bacteria identificada como *Sphingobacterium sp. JCR5*. La cepa puede crecer en EE2 como única fuente de carbón y energía descomponiendo 87% de EE2 a una concentración inicial de 30 mg/L en 10 días a 30°C bajo condiciones aerobias. Además de EE2 la cepa puede

cultivarse en esteroides estrogénicos como estrona (E1), 17 $\beta$ -estradiol (E2) y estriol (E3) (Haiyan *et al.*, 2007).

Cepas heterótrofas aisladas de un cultivo nitrificante enriquecido relacionadas a *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *A. salmonicida*, *Paracoccus sp*, *Paracoccus versutus*, *Pseudomonas stutzeri* y *Rheinheimera aquimaris*, incubadas juntas removieron 20% de EE2 y no se observó remoción de amoníaco (De Gusseme *et al.*, 2009).

Por otro lado, las cepas *Rhodococcus zopfii* y *Rhodococcus equi* aisladas del lodo activado de una planta de tratamiento de aguas residuales también pueden degradar los esteroides estrogénicos (E1, E2, E3 y EE2) (Yoshimoto *et al.*, 2004).

### **1.7 Remoción de esteroides estrogénicos mediante biorreactores con membranas**

Altos tiempos de retención celular permiten un enriquecimiento de bacterias de lento crecimiento, aumentando la eliminación de compuestos lentamente biodegradables. En los biorreactores con membranas se pueden tener tiempos de retención celular de remoción de nutrientes, ya que trabajan a edades de lodo mayores a 20 días (Metcalf y Eddy, 2003), con los cuales se alcanza la degradación de esteroides estrogénicos debido al crecimiento de microorganismos tales como las bacterias nitrificantes (Ternes *et al.*, 2004; Melin *et al.*, 2006; Wang e Ivanov, 2009) y se ha demostrado que las bacterias oxidantes de amoníaco junto con otros microorganismos heterótrofos en lodos activados nitrificantes degradan los esteroides estrogénicos naturales y sintéticos (Shi *et al.*, 2004; Yi *et al.*, 2006; Ren *et al.*, 2007; Cajthaml *et al.*, 2009; Wang e Ivanov, 2009).

El tiempo de retención celular puede influenciar no solo en la población microbiana, también en las propiedades físicas de las partículas (Hashimoto y Murakami, 2009). El biorreactor con membranas permite una transformación 2 a 3 veces más rápida de esteroides estrogénicos que las plantas de tratamiento convencionales, debido al menor tamaño de los flocs en el lodo encontrado en los biorreactores con membrana que posee un área de superficie específica alta

favoreciendo el acceso de oxígeno y de los compuestos a los microorganismos, aumentando el nivel de actividad del sistema (Ternes *et al.*, 2004; Cirja, 2007).

Durante la filtración del licor mezclado se espera una remoción adicional de esteroides estrogénicos por las membranas, ya que esta remoción es observada para compuestos hidrofóbicos e incrementa con el tiempo de operación, lo que implica que los depósitos en la superficie de la membrana pueden actuar como barrera adicional para la permeación de estos compuestos (Urase *et al.*, 2005). Aunque la adsorción de esteroides estrogénicos sobre las membranas de ultrafiltración puede conducir a su retención en el periodo de filtración inicial, este no se considera un mecanismo de remoción a largo plazo y en los biorreactores con membrana es más relevante su transformación biológica (Jermann *et al.*, 2009). Los biorreactores con membranas también remueven esteroides estrogénicos por sorción debido a las propiedades hidrofóbicas del lodo. El 17  $\beta$ -estradiol tiene un coeficiente de partición octanol-agua log  $k_{ow}$  2.69-4.0 y para compuestos que tienen log  $K_{ow}$  entre 2.5 y 4.0 se espera sorción moderada al lodo mientras que el 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) tiene un coeficiente de partición octanol-agua más alto (log  $k_{ow}$  3.67-4.2) y los compuestos orgánicos con log  $K_{ow}$  mayor a 4.0 muestran alto potencial de sorción (Cirja, 2007, De Gusseme *et al.*, 2009).

### **1.8 Eliminación de los microorganismos patógenos en aguas residuales municipales**

La desinfección se refiere a la destrucción parcial de organismos causantes de enfermedades. El grado de tratamiento requerido para un agua residual depende fundamentalmente de los límites de vertido. La concentración de microorganismos patógenos en agua residual municipal tratada depende del número de organismos en el agua sin tratar, el nivel de tratamiento y las tecnologías empleadas, por ejemplo, el agua derivada de un tratamiento terciario y avanzado se considera segura para riego no restringido (Metcalf y Eddy, 2007).

En las lagunas de estabilización, predominantemente en las de maduración se produce la reducción de organismos patógenos incluyendo los huevos de helminto sin que sea necesario añadir desinfectantes. Bajo condiciones óptimas, su eficiencia de desinfección es 3 a 5 unidades logarítmicas de remoción de coliformes fecales, con valores máximos reportados de 5 a 6 unidades logarítmicas de remoción (Lazarova y Bahri, 2005). Su desventaja es que ocupan grandes superficies de tierra y su eficiencia se ve grandemente afectada por los cambios de temperatura y cuando se sobrecargan presentan problemas de olores.

Los humedales construidos remueven hasta 3 unidades logarítmicas de coliformes totales, *E.coli* y enterococos (Garcia *et al.*, 2008), sin embargo implementados en tratamiento de aguas residuales municipales no pueden proporcionar una remediación considerable para protozoos como *Cryptosporidium* y *Giardia* (Graczyk y Lucy, 2007). Basado en la reducción de coliformes fecales los filtros de turba operan más efectivamente seguidos de los filtros de arena y finalmente humedales construidos (Pundsack *et al.*, 2001).

Los sistemas convencionales, tipo lodos activados o filtros biológicos no pueden competir con la eficiencia de remoción de patógenos que se logra en las lagunas de estabilización, a menos que finalizado el tratamiento se haga un proceso de desinfección del efluente, esto eleva costos y hace más compleja la operación y el mantenimiento. Los sistemas de lodos activados muestran habilidad para remover alrededor de 2 unidades logarítmicas para coliformes totales y fecales, y alrededor de 3 unidades para *Escherichia coli* (Ueda, 2001; Wen *et al.*, 2009), mientras que los filtros de arena tienen capacidad de remover de 1 a 3 unidades logarítmicas de bacterias coliformes (Collins, 2006) y 1 a 2 unidades logarítmicas en filtros percoladores (Garcia *et al.*, 2008).

La desinfección es comúnmente acompañada por el uso de agentes químicos como el cloro, el cuál es uno de los principales candidatos para desinfección de agua destinada para reúso. La efectividad de la desinfección con cloro depende de numerosas variables, incluyendo temperatura, pH, tiempo de contacto, dosis de cloro, turbiedad y grado de mezclado. Para agua de reúso el tiempo de contacto

requerido puede ser de 90-120 minutos, bajo estas condiciones, ocurre buena inactivación de coliformes fecales (4 a 6 log de reducción) (Lazarova y Bahri, 2004), sin embargo, la desinfección con cloro no es efectiva para inactivar algunos huevos de helminto, además como resultado de una serie de reacciones complejas entre el cloro libre y un grupo de ácidos orgánicos conocidos como ácidos húmicos se forman los trihalometanos (THMs) y otros subproductos de la desinfección de agua residual tratada como *N*-nitrosodimetilamina, el cuál es un miembro de la clase de compuestos conocidos como nitrosaminas que se encuentran entre los más poderosos carcinógenos conocidos. El ozono es un desinfectante altamente efectivo y como con el cloro, la formación de subproductos indeseados es uno de los problemas asociados con su uso como desinfectante. El agua altamente ácida o alcalina se puede usar para destruir bacterias patógenas, debido a que el agua con pH mayor a 11 o menos de 3 es relativamente tóxica para la mayoría de las bacterias. El bromo y el yodo también han sido usados para desinfección de agua residual (Metcalf y Eddy, 2003).

La luz solar es también un desinfectante efectivo, debido principalmente a la porción de radiación ultravioleta (UV) del espectro electromagnético. El decaimiento de microorganismos observado en las lagunas de maduración es debido en parte a su exposición al componente UV de la luz solar. Se han desarrollado lámparas especiales para emitir rayos ultravioleta y se han usado exitosamente para desinfectar agua residual (Metcalf y Eddy, 2003). Datos de desinfección han indicado que 30-45 mJ/cm<sup>2</sup> de radiación UV es suficiente para asegurar 3-5 log de remoción de coliformes totales y fecales, la remoción está influenciada por la calidad del agua residual y la materia particulada (Lazarova y Bahri, 2004).

Una ruta alternativa para la eliminación de microorganismos patógenos son los biorreactores con membranas. Las membranas de microfiltración y ultrafiltración proporcionan una barrera a determinados patógenos resistentes a cloro como *Giardia* y *Cryptosporidium*, además un tratamiento secundario convencional como los lodos activados carece de la capacidad de inactivar o eliminar efectivamente

ciertos agentes patógenos. Los biorreactores con membrana han probado alcanzar consistentemente altas remociones de parámetros microbiológicos como coliformes totales y coliformes fecales (Melin *et al.*, 2006).

### **1.9 Remoción de microorganismos patógenos mediante biorreactores con membranas**

Un biorreactor con membranas es capaz de remover un amplio rango de microorganismos. Las membranas, además de retener la biomasa, retienen patógenos debido a su tamaño de poro, razón por la cual tienen altas capacidades de desinfección. Una ventaja de este método de desinfección es que los microorganismos son totalmente removidos y no solo inactivados con un riesgo de reactivación (Van der Roest *et al.*, 2002).

Las membranas de ultrafiltración tienen tamaños de poro 0.01 a 0.1  $\mu\text{m}$ , más pequeños que la mayoría de las bacterias (0.3-2  $\mu\text{m}$  en diámetro y 1-50  $\mu\text{m}$  en largo), protozoos (1-8  $\mu\text{m}$  en ancho y 6-20  $\mu\text{m}$  en largo) y huevos de helminto (20-50  $\mu\text{m}$  en ancho y 8-70  $\mu\text{m}$  en largo) (Malleville *et al.*, 1996; Ueda, 2001; Metcalf y Eddy, 2003). La *E.coli* tiene un tamaño de 0.5-1.2  $\mu\text{m}$  de diámetro y 2-3  $\mu\text{m}$  de largo, los enterococos entre 0.5-4  $\mu\text{m}$  (Metcalf y Eddy, 2003) y los coliformes de 0.5 x 2-5  $\mu\text{m}$  (Maya *et al.*, 2002), así que los biorreactores con membranas de este tipo son eficientes en su remoción. En los biorreactores con membrana se puede alcanzar al menos 4 y hasta 8 unidades logarítmicas de remoción de bacterias (Ueda y Horan, 2000; Melin *et al.*, 2006), 5 unidades logarítmicas de remoción de *E. coli* y alrededor de 4.5 de enterococos (Ottoson *et al.*, 2006). La remoción de microorganismos patógenos depende de la concentración de los organismos en el influente y por lo tanto la reducción de las unidades logarítmicas no es representativa en todos los casos.

El tamaño de poro de la membrana es el factor más importante ya que la membrana por si sola proporciona la primera obstrucción para patógenos, sin embargo, la eficiencia de remoción no puede determinarse solo por el tamaño de poro, ya que pueden afectar otros factores, como la concentración de organismos

indicadores, la biomasa suspendida, la formación de una biocapa sobre la superficie de la membrana, el flujo de permeado y el incremento de la resistencia de filtración (Ueda, 2001).

### **1.9.1 Efecto de la biomasa y la membrana con biopelícula adherida en la remoción de patógenos mediante biorreactores con membranas**

La biomasa y la membrana con biopelícula adherida juegan un papel importante en la remoción de patógenos. La remoción de contaminantes, incluyendo patógenos puede afectarse adversamente si la biomasa no se desarrolla bien, por lo tanto, la concentración de sólidos suspendidos en el licor mezclado (SSLM), el tiempo de retención celular y tiempo de residencia hidráulica tienen influencia en la remoción de patógenos. Estos parámetros operacionales afectan las características de los flocs suspendidos, tal como la distribución de tamaño de flocs (por ejemplo la biofloculación) y en la biopelícula adherida (por ejemplo la adsorción y porosidad). La contribución de la biomasa es similar a la encontrada en sistemas de lodos activados convencionales. Los patógenos se unen a los flóculos de la biomasa y entonces son removidos por floculación, predación por otros microorganismos y por el esfuerzo físico proporcionado por la membrana filtrante, por lo que los parámetros operacionales vinculados al ensuciamiento de la membrana (indicado por el aumento en la resistencia de la membrana, la presión transmembrana y un decremento en el flujo) afectan la remoción de microorganismos patógenos (Ueda y Horan, 2000; Wong, 2004).

La característica del BRM sobre el sistema convencional es la presencia de la membrana y por lo tanto, la membrana con biopelícula adherida. La biopelícula comienza a desarrollarse en la superficie de la membrana cuando se sumerge en la biomasa. La eficiencia de remoción de patógenos aumenta con la acumulación de la biopelícula sobre la superficie de la membrana, lo que se indica con el incremento en la resistencia de filtración. Los mecanismos para esta remoción comprenden un componente físico debido a la reducción del tamaño de poro, un componente químico debido a la adsorción sobre la biopelícula y un componente biológico ya que los microorganismos patógenos pueden adherirse en la capa de

lodo sobre la biopelícula y hacer posible la predación por otros microorganismos en la biopelícula (Wong, 2004).

### **1.9.2 Efecto del flux y resistencia de filtración en la remoción de microorganismos patógenos mediante biorreactores con membranas**

El flux es el flujo del líquido a través del área de filtración de la membrana, tiene influencia en la remoción de patógenos biológicamente y

físicamente. Biológicamente la remoción de patógenos puede afectarse debido a cambios en las características del lodo y en la biopelícula inducidos por los cambios en el tiempo de residencia hidráulica. Físicamente, un mayor tiempo de residencia hidráulica (bajo flux) reduce la velocidad de ensuciamiento y deposición de flocs en la membrana, mientras tanto, un menor TRH induce a mayor reducción de poro y por lo tanto incrementa la resistencia de la membrana (Ueda y Horan, 2000). Mayor fuerza de succión (menor TRH) puede dar lugar a baja remoción de patógenos cuando la formación de la biopelícula no es significativa, en este caso, la resistencia de la membrana no está relacionada a la eficiencia de remoción de patógenos. Aún cuando la biopelícula se ha desarrollado, las fuerzas hidrodinámicas pueden causar desprendimiento de la biopelícula de la superficie de la membrana, y esto es perjudicial para la remoción. La remoción de patógenos incrementa mientras el flux disminuye ya que la disminución del flux puede incrementar la posibilidad de impacto de patógenos sobre la biopelícula o superficie de la membrana (Wong, 2004).

Cuando la biopelícula se ha desarrollado, operando a mayor presión transmembrana (PTM) o flujo de permeado la porosidad de la biocapa decrece e incrementa la resistencia, ya que la mayoría de las biocapas son compresibles. La remoción de patógenos incrementa con el aumento en la resistencia de filtración, implicando que más patógenos son rechazados mientras la capa resistente se desarrolla (Ueda, 2001; Wong, 2004).

## **CAPÍTULO 2**

### **OBJETIVOS**

---

#### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la remoción de dos esteroides estrogénicos y patógenos en aguas residuales municipales mediante una planta piloto de biorreactor aerobio con membranas sumergidas aplicando diferentes condiciones de operación.

#### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar la efectividad de un biorreactor aerobio con membranas para el tratamiento de aguas residuales municipales en diferentes condiciones de operación (SSVLM y tiempo de residencia hidráulica).
- Determinar la remoción de dos esteroides estrogénicos ( $17\beta$ -estradiol y  $17\alpha$ -etinilestradiol) en las diferentes condiciones de operación del reactor.
- Determinar la remoción de coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli* y enterococos fecales en las diferentes condiciones de operación del reactor.

#### **2.3 HIPÓTESIS**

La combinación de diferentes condiciones de operación en el biorreactor aerobio con membranas sumergidas realizará una eficiente remoción de  $17\beta$ -estradiol y  $17\alpha$ -etinilestradiol e impedirá el paso de los microorganismos patógenos.

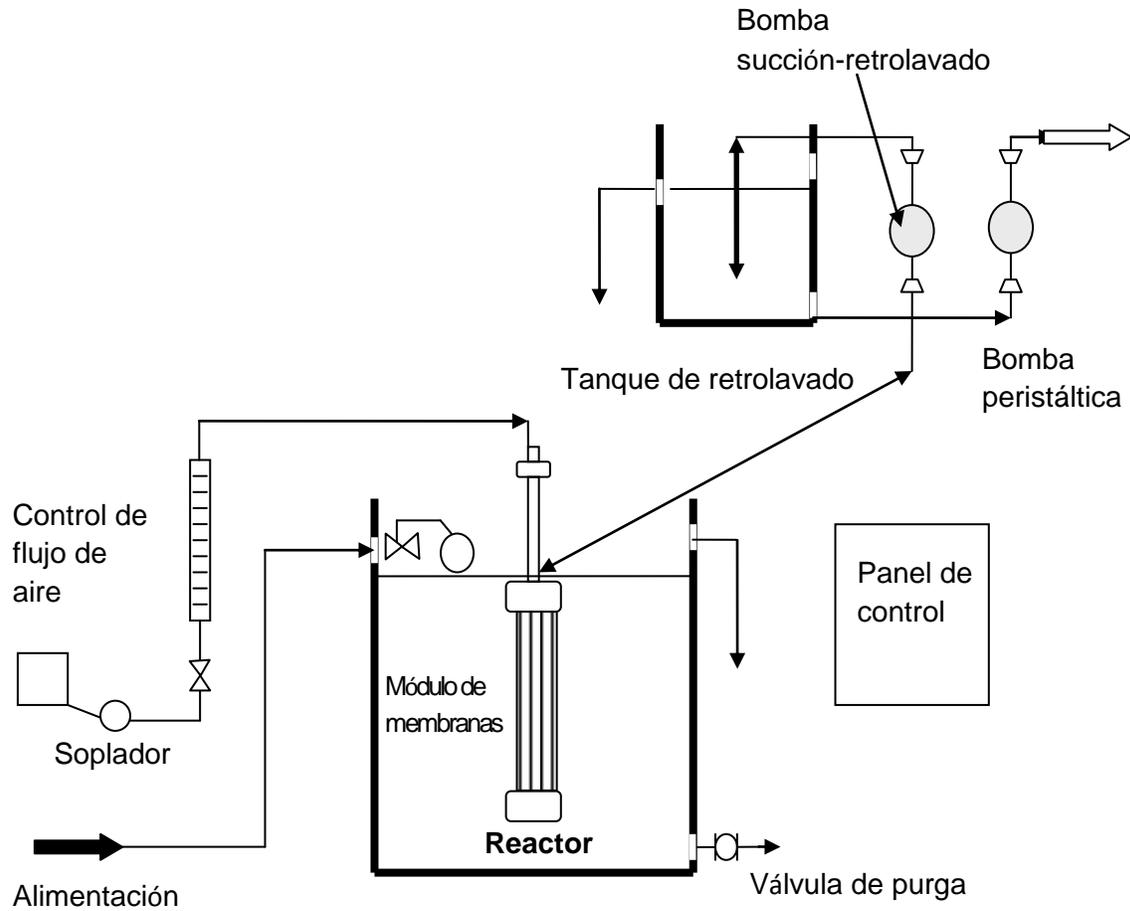
## **CAPÍTULO 3**

### **METODOLOGÍA**

---

#### **3.1 Configuración del biorreactor con membranas**

El sistema que se utilizó para la experimentación fue una planta piloto de biorreactor aerobio con membranas sumergidas, compuesta de una unidad biológica y un módulo de membranas de ultrafiltración sumergido dentro del reactor. El sistema estuvo conformado por un tanque de aeración con un volumen de trabajo de 169 L, un panel de control de proceso con sus respectivos temporizadores para controlar los tiempos de filtración/retrolavado, soplador, microbomba de succión/retrolavado. El módulo de membranas fue una unidad de fibra hueca de ultrafiltración de material polimérico polifluoruro de vinilideno (PVDF) modelo ZW-10 el cual tiene un tamaño de poro de 0.04  $\mu\text{m}$ , un área superficial de 0.93  $\text{m}^2$  y un tamaño de corte de 100 kDa. Durante el ciclo de proceso el agua residual entra al biorreactor en donde está en contacto con la biomasa y se realiza la filtración con membranas mediante succión, el agua filtrada se extrae del sistema mientras que el lodo y los compuestos de tamaño superior al poro de la membrana quedan retenidos en el biorreactor, en la Figura 3.1 se esquematiza el sistema.



**Figura 3.1** Esquema del sistema experimental



**Figura 3.2** Fotografías del sistema experimental. (a) Vista general; (b) módulo de membranas de ultrafiltración; (c) panel de control; (d) efluente del BRM; (e) vacuómetro y termómetro

El panel de control se compone de un interruptor de encendido del panel, un indicador de tiempo de operación, un controlador de tiempo, un interruptor de la bomba de presión, un interruptor de encendido del soplador, un controlador para fijar el caudal de la bomba de presión en el filtrado y en el retrolavado. En la parte inferior del panel de control se sitúa la bomba de presión que origina la presión necesaria tanto para realizar el filtrado mediante succión como para realizar el retrolavado.

Otros elementos de medida instalados son un vacuómetro que permite conocer la presión transmembrana, un rotámetro que mide el caudal de aire que fluye a través de la membrana y un termómetro.

### **3.2 Operación del biorreactor con membranas**

El reactor se inoculó con biomasa proveniente de una planta de tratamiento de lodos activados convencional. Para el trabajo experimental se utilizó aguas residuales municipales reales.

Las variables del proceso fueron el TRH (7-12 h) y la concentración de la biomasa (4,000-6,000 mg/L), la cual varió en tres niveles dentro del intervalo indicado.

Para evaluar el funcionamiento del biorreactor con membranas sumergidas se midió la turbiedad, DQO, nitrógeno amoniacal, nitritos y nitratos.

### **3.3 Métodos de análisis**

En la Tabla 3.1 se enlistan los parámetros, métodos y equipos usados en el seguimiento del proceso. Los análisis de la demanda química de oxígeno (DQO) y sólidos suspendidos volátiles (SSV) se realizaron de acuerdo con las técnicas publicadas en *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 1998.

Los esteroides estrogénicos y los indicadores de patógenos se determinaron únicamente en fase líquida y su remoción se evaluó por la diferencia entre la concentración del influente y efluente. Además de la biodegradación, también pueden removerse por sorción en la biomasa, pero no se hicieron determinaciones en fase sólida, por lo tanto, no se realizó un balance de masas.

Tabla 3.1 Métodos de análisis durante la operación del biorreactor con membranas

Parámetro	Método de Análisis	Equipo
Temperatura pH	Electrodo	Potenciómetro HACH sens 10n150
Oxígeno disuelto (OD)	Oximétrico	Oxímetro YSI 5100 Biological Oxygen Monitor
17 $\beta$ -estradiol 17 $\alpha$ -etinilestradiol	Cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas-masas (Estrada y Mijaylova, 2008) ver anexo 1	Cromatógrafo de gases con trampa iónica VARIAN CP-3800 acoplado a un espectrómetro de masas-masas VARIAN SATURN 2200
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Espectrofotométrico	Espectrofotómetro HACH DR/2400
Sólidos suspendidos totales (SST)	Gravimétrico	Estufa de secado. Mufla
Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	Gravimétrico	Estufa de secado. Mufla
Coliformes totales Coliformes fecales <i>E. coli</i>	IMTA CAMB6-03 (NMX-AA-42-1987)	Incubadora
Enterococos fecales	IMTA CAMB6-17 (Método del Sustrato Cromogénico). ENTEROLER IDEXX QUANTI-TRAY	Incubadora. Lámpara UV
Turbiedad	Turbidímetro	Turbidímetro HACH 2100P
Nitritos (NO <sub>2</sub> )	Sulfato ferroso	Espectrofotómetro HACH DR/2400
Nitratos (NO <sub>3</sub> )	Reducción con cadmio	Espectrofotómetro HACH DR/2400
Nitrógeno amoniacal (N-NH <sub>4</sub> )	Nessler	Espectrofotómetro HACH DR/2400

### **3.4 Estrategia experimental**

El estudio realizado consistió de seis periodos experimentales, los primeros tres, variando las concentraciones de sólidos suspendidos volátiles en el licor mezclado (4,000, 5,000 y 6,000 mg/L de SSVLM) con el mismo tiempo de residencia hidráulica (7-8 h) para así observar su influencia en los parámetros analizados durante la operación del biorreactor con membranas y encontrar la mejor concentración. Se realizaron purgas periódicas para mantener las concentraciones en estudio. Posteriormente se tomó como variable el TRH.

#### **Periodo 1**

El primer periodo correspondió a una aclimatación de la biomasa proveniente de una planta de tratamiento de lodos activados a las nuevas condiciones de operación del biorreactor con membranas, se trabajó a concentraciones de 4,000 mg/L SSVLM, TRH de 7-8 h y se observó el funcionamiento del biorreactor bajo esas condiciones de operación.

#### **Periodo 2**

En el segundo periodo, se aumentó a 5,000 mg/L de SSVLM manteniendo el mismo TRH (7-8 h) para observar si hubo una mejora en la remoción de los parámetros en estudio.

#### **Periodo 3**

Durante este periodo se incrementó a 6,000 mg/L de SSVLM y se mantuvo el TRH de 7-8 h. Al observar que esta concentración de SSVLM tuvo mejores resultados en comparación con los periodos 1 y 2, se continuó trabajando con ésta y se variaron ahora los tiempos de residencia hidráulica como se ve en la Tabla 3.2 para observar su influencia en los parámetros analizados.

#### **Periodo 4**

En el periodo 4 se trabajó con 6,000 mg/L de SSVLM y se aumentó el TRH a 12 h. A partir de este periodo, se variaron los tiempos de residencia hidráulica de

acuerdo a la evolución de los parámetros en el efluente durante la experimentación.

### Periodo 5

Durante este periodo se mantuvo la concentración de SSVLM en 6,000 mg/L y se disminuyó el TRH a 10-11 h. Debido a que al trabajar con TRH de 12 h se observó un comportamiento eficiente del biorreactor, se disminuyó el tiempo de residencia hidráulica para observar si los parámetros de salida eran similares a los obtenidos en el periodo anterior.

### Periodo 6

Al inicio del sexto periodo se ejecutó una limpieza química debido al aumento en la presión transmembrana. Se trabajó con 6,000 mg/L de SSVLM y se disminuyó nuevamente el TRH a 9-10 h.

**Tabla 3.2** Variables del experimento en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un biorreactor aerobio con membranas

Variable	Periodo 1	Periodo 2	Periodo 3-6
SSVLM (mg/L)	4,000	5,000	6,000
TRH (h)	7-8	7-8	7-8 12 10-11 9-10

### 3.5 Limpieza de la membrana

Como control del ensuciamiento reversible de las membranas se determinaron ciclos de limpieza programables de retrolavado en donde una parte del agua tratada se utilizó para los retrolavados.

Los retrolavados se realizaron en ciclos periódicos:

-Ciclo de filtrado de 20 minutos.

-Ciclo de retrolavado de 20 segundos.

La bomba de presión invierte el flujo enviando el agua tratada que se ha almacenado en el tanque de retrolavado hacia las membranas de fibra hueca removiendo los flóculos y las partículas que hayan podido quedar incrustadas.

Las membranas estuvieron continuamente aireadas por una corriente de aire tangencial para evitar que se depositen sólidos en el exterior de la fibra. Este aire a la vez sirve para suministrar el oxígeno necesario para el proceso biológico.

Cuando la presión transmembrana se incrementa debido a las incrustaciones y ensuciamiento que van sufriendo los poros de la membrana, se tiene que proceder a una limpieza química.

### **3.5.1 Limpieza química**

La limpieza química es una técnica adoptada para recuperar la permeabilidad de la membrana, es una forma de realizar la remoción de materia colmatante de la membrana. La secuencia del lavado químico que se llevó a cabo fue primeramente un tratamiento alcalino en forma de baño sumergido con 200 ppm NaOCl a temperatura ambiente por un mínimo de 5 horas, seguido por un enjuague de agua, después se dio un tratamiento ácido con baño sumergido con una solución de HCl a pH 2 por un mínimo de 5 horas y finalmente un último enjuague de agua ([www.zenon.com](http://www.zenon.com)).

### **3.6 Aguas residuales municipales**

Las aguas residuales municipales utilizadas en el trabajo experimental fueron provenientes de la Ciudad de México y tomadas del Emisor Central (día 1 al 106) y del Gran Canal del Desagüe (día 107 al 213). Se hizo un muestreo en estos puntos cada mes, realizándose un total de ocho muestreos durante el tiempo de experimentación. En cada uno de éstos, se determinaron los parámetros

mostrados en la Tabla 3.3. El agua residual se transportaba en pipa y se almacenaba en tanques de almacenamiento a temperatura ambiente. De los tanques el agua se alimentaba al biorreactor con membranas. Las características del agua residual pueden cambiar durante el tiempo de almacenamiento, por lo que durante la experimentación se muestreó el influente al biorreactor con una frecuencia de dos a tres veces por semana, de la misma forma que el efluente.

**Tabla 3.3 Caracterización del agua residual municipal**

Muestreo	Emisor Central				Gran Canal del Desagüe			
	1	2	3	4	5	6	7	8
DQO (mg/L)	175	193	132	364	390	408	294	520
Turbiedad (UTN)	77	70.3	62.6	268	132	118	143	328
N-NH <sub>4</sub> (mg/L)	18.8	20.6	23.4	36.4	64	57	60	50
E2 (ng/L)	38	16	16.9	14.4	10.3	30.1	18.6	60
EE2 (ng/L)	4	3.6	2.4	3.5	6.2	15.4	8.7	81.5

### 3.7 Condiciones experimentales del biorreactor con membranas

En la Tabla 3.4 se muestran las condiciones experimentales para los distintos periodos de la investigación con el objetivo de analizar su influencia en la remoción de los contaminantes en estudio. Dentro del reactor se midió el oxígeno disuelto, la temperatura, pH y SSVLM. El caudal de agua tratada en la instalación osciló entre 0.35 y 0.62 m<sup>3</sup>/d.

La investigación se realizó en condiciones ambientales, por ello en la Tabla 3.4 se observa que la temperatura en el biorreactor estuvo entre 21 y 23°C. Se midió el pH en el agua de entrada, en el BRM y el agua de salida a lo largo de los experimentos realizados. El sistema se mantuvo en condiciones adecuadas con valores promedio de pH de 7.6 en el biorreactor, favoreciendo la nitrificación. La presión transmembrana y resistencia de filtración refleja que durante la

experimentación se realizaron dos limpiezas químicas a la membrana, la primera en el día 54 y la segunda en el día 170.

**Tabla 3.4** Condiciones experimentales del biorreactor con membranas

Parámetros	Periodo 1 (1-30 días)	Periodo 2 (31-60 días)	Periodo 3 (61-85 días)	Periodo 4 (86-125 días)	Periodo 5 (126-170 días)	Periodo 6 (171-213 días)
TRH (h)	7-8	7-8	7-8	12	10-11	9-10
Temperatura (°C)	22.5	22.6	22.8	21.1	20.6	22
Flux (m/d)	0.59-0.66	0.59-0.63	0.59-0.62	0.37-0.39	0.39-0.46	0.45-0.54
Presión transmembrana (kPa)	15.5-22.5	14.5-22.5	15.0-19.5	9.5	13.5-21.5	20.5-21.5
Resistencia (m <sup>-1</sup> )	2.0 x10 <sup>12</sup> - 3.2x10 <sup>12</sup>	2.9 x10 <sup>12</sup> - 3.3x10 <sup>12</sup>	2.0 x10 <sup>12</sup> - 2.8x10 <sup>12</sup>	2.0 x10 <sup>12</sup> - 2.2x10 <sup>12</sup>	2.5 x10 <sup>12</sup> - 4.7x10 <sup>12</sup>	3.3 x10 <sup>12</sup> - 4.0x10 <sup>12</sup>
F/M (gDQO/g SSVLM · d)	0.13	0.08	0.12	0.09	0.12	0.21
COV (kg DQO/m <sup>3</sup> · d)	0.6	0.36	0.74	0.59	0.76	1.24
DQO influyente (mg/L)	170±40	112±24	234±74	298±71	327±70	481±119
SSVLM (mg/L)	4,000	5,000	6,000	6,000	6,000	6,000
TRC (d)	48	64	59	68	48	38
pH	7.4	7.4	7.6	7.6	7.7	7.5
OD (mg/L)	2.6±1.2	3.4±1.5	2.8±0.9	3.8±1.2	1.8±0.9	1.3±0.5

### 3.7.1 Tiempo de residencia hidráulica (TRH)

Los diferentes tiempos de residencia hidráulica (tiempo de permanencia del agua en el volumen del reactor) se calcularon de la siguiente forma:

$$\tau = \frac{V}{Q}$$

V: volumen del reactor (L)

Q: flujo de permeado (L/h)

### 3.7.2 Flux

El flux es el flujo del líquido a través del área de filtración de la membrana, la Tabla 3.4 también presenta el flux en los diferentes periodos de experimentación y se calculó como:

$$Flux = \frac{Q}{A}$$

Q: flujo de permeado (m<sup>3</sup>/d)

A: superficie de la membrana (m<sup>2</sup>)

### 3.7.3 Presión transmembrana (PTM)

Se midió la presión transmembrana que es la presión con la cual el flujo atraviesa la membrana. Es el gradiente de presión entre ambos lados de la membrana, llamada fuerza directriz del proceso de filtración. Para el caso de una membrana sumergida se trata de una presión negativa o de succión, a diferencia de las membranas externas que trabajan con presiones positivas.

### 3.7.4 Resistencia de filtración

La resistencia de filtración es otro parámetro usado para evaluar el sistema de membranas. La deposición de lodos sobre la membrana está asociada con la obstaculización del flujo permeado producto de la filtración, lo que se puede medir como una resistencia al flujo a través de la membrana, conforme la resistencia aumente al paso del líquido se verá reflejado en un incremento de la presión

transmembrana lo que conlleva una disminución en el flux permeado. La resistencia de filtración se calculó de la siguiente manera:

$$R_t = \frac{\Delta P_t}{\mu J_v}$$

$R_t$  : resistencia de filtración ( $m^{-1}$ )

$J_v$  : flux permeado (m/s)

$\Delta P_t$  : presión transmembrana (Pa)

$\mu$  : viscosidad del permeado (Pa/ s)

Donde:

$$R_t = R_m + R_p + R_c$$

$R_m$ : resistencia intrínseca de la membrana

$R_p$ : resistencia por la obstrucción de poro

$R_c$ : resistencia por la formación de biocapa

### 3.7.5 Relación alimento/microorganismo (F/M)

La relación alimento/microorganismo (F/M) se definió como:

$$F / M = \frac{S_0}{\tau X}$$

$S_0$ : concentración de DQO en el influente ( $g/m^3$ )

$\tau$ : tiempo de residencia hidráulica (d)

$X$ : concentración de biomasa en el licor mezclado ( $g/m^3$ )

### 3.7.6 Carga orgánica volumétrica (COV)

$$COV = \frac{(Q)(S_0)}{(V)(10^3 g / kg)}$$

$Q$ : flujo del influente del agua residual ( $m^3/d$ )

$S_0$ : concentración de materia orgánica medida como DQO en el influente ( $g/m^3$ )

$V$ : Volumen del tanque de aeración ( $m^3$ )

### 3.7.7 Tiempo de retención celular (TRC)

El tiempo medio de retención de la biomasa en el reactor, conocido como tiempo de retención celular, se calculó como el volumen del reactor entre el caudal de purga.

$$TRC = \frac{V}{Q_w}$$

### 3.8 Cálculo de eficiencias de remoción

El cálculo del porcentaje de remoción se realizó empleando la siguiente fórmula:

$$\% = 100 * \frac{(A - B)}{A}$$

A: concentración en el influente

B: concentración en el efluente

Las unidades logarítmicas de remoción para patógenos se calcularon usando la siguiente ecuación:

$$r = \log_{10}\left(\frac{A}{B}\right)$$

## **CAPÍTULO 4**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

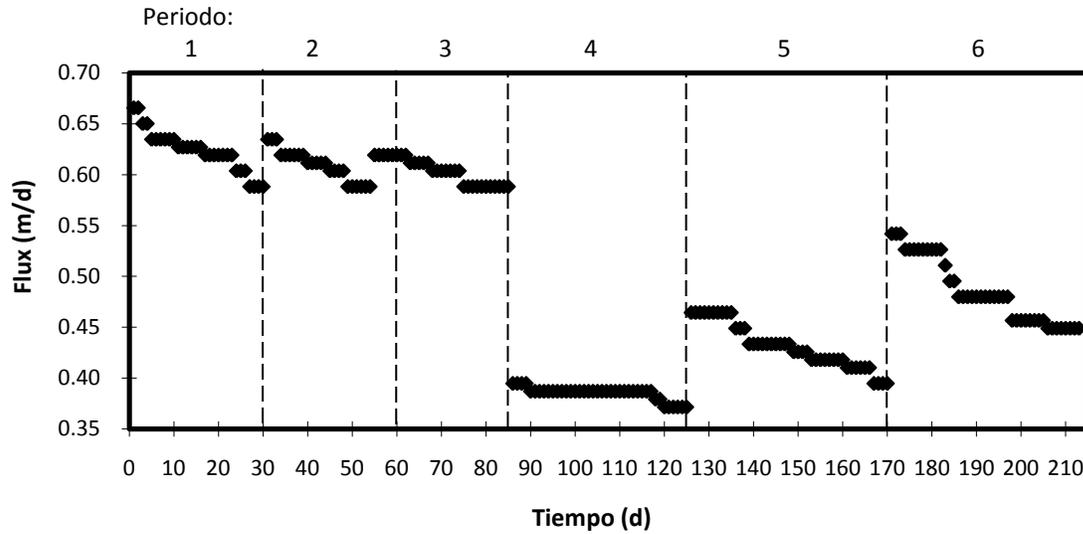
---

#### **4.1 Flux y presión transmembrana (PTM)**

Se dio seguimiento al flux y a la presión transmembrana en todos los periodos de la investigación, en el modo de operación del biorreactor con membranas, tanto el flux como la PTM variaron con el tiempo.

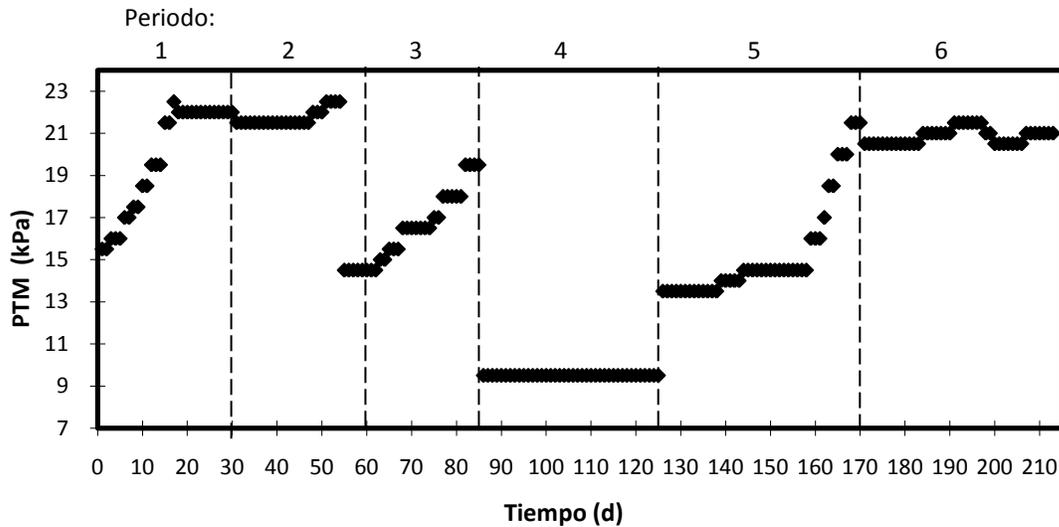
El flux es el flujo del líquido a través del área de filtración de la membrana, por lo tanto, cambió con los diferentes tiempos de residencia hidráulica. A través del tiempo, el flux fue decayendo en cada periodo como se ve en la Figura 4.1. Esta disminución del flux se explica por el ensuciamiento de la membrana, que es la deposición y acumulación de coloides, macromoléculas y suspensiones en la superficie o dentro de la membrana (Metcalf y Eddy, 2003; Judd, 2005).

Durante los periodos 1, 2 y 3 se operó con flux similar (0.59-0.66 m/d) manteniendo el TRH de 7-8 h (Figura 4.1). En el día 54 se realizó una limpieza química de la membrana y se observó un aumento en el flux debido a que se ajustó nuevamente el TRH a 7 h. Durante el periodo 4 se operó con un flux bajo (0.37-0.39 m/d) ya que se trabajó con TRH de 12 h, en estas condiciones el flux se mantuvo sin variaciones durante largo tiempo (28 días). En el periodo 5 se aumentó el flux (0.39-0.46 m/d) manteniendo el TRH de 10-11 h, al finalizar este periodo (día 170) se realizó una limpieza química de la membrana, después de lo cual el flux se cambió a 0.45-0.54 m/d, con TRH de 9-10 h.



**Figura 4.1** Evolución del flux durante la operación del biorreactor aerobio con membranas

La disminución del flux se explica por el ensuciamiento de la membrana y está relacionado con un aumento en la presión transmembrana. En la Figura 4.2 se muestra la evolución de la presión transmembrana y se puede ver que la PTM aumenta con el tiempo de operación hasta el final de cada periodo. Al finalizar el primer periodo se realizó un lavado con agua a la membrana para retirar los sólidos acumulados en la superficie, esto se ve reflejado con una disminución en la PTM. En el día 54 al realizarse la limpieza química, se observó que hubo una gran disminución de la PTM, incrementándose nuevamente con el transcurso del tiempo de operación. Durante el periodo 4 se operó con una PTM baja y constante debido a que se trabajó el mayor TRH (12 h), posteriormente, en el periodo 5 se observó un incremento en la PTM por una disminución en el TRH (10-11 h), al final de este periodo se realizó una limpieza química, por lo tanto, se observó una disminución en la PTM al inicio del último periodo, además en el periodo 6 se trabajó con TRH de 9-10 h.

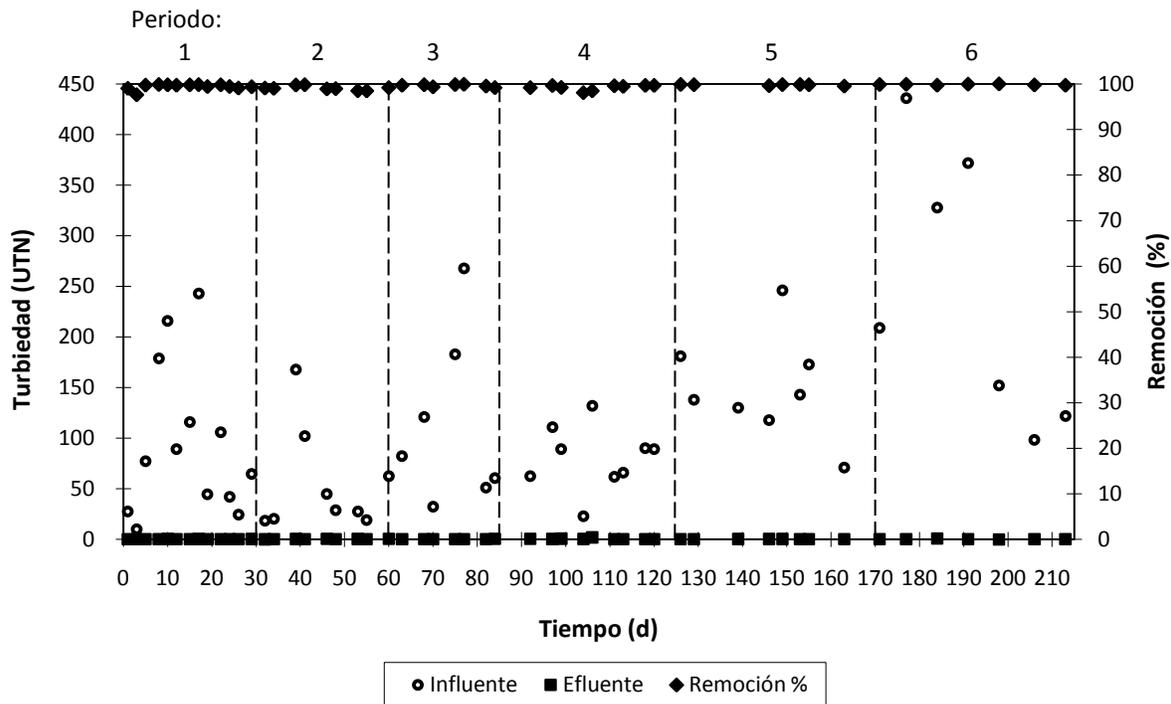


**Figura 4.2** Evolución de la presión transmembrana durante la operación del biorreactor aerobio con membranas

A continuación se presentan los resultados de los parámetros analizados y la influencia de las condiciones de operación en la calidad del efluente.

## 4.2 Turbiedad

Se determinó la capacidad de eliminación de turbiedad que tiene el biorreactor con membranas. En la Figura 4.3 se muestra la turbiedad en el influente y en el efluente del BRM. En el influente se midieron turbiedades desde 10 hasta 436 Unidades de Turbiedad Nefelométricas (UTN), en cambio no se detectó turbiedad en el agua de salida, representando una remoción mayor de 99% y valores en el efluente menores de 1 UTN, resultado que concuerda con los datos de rendimiento típico para un BRM (Metcalf y Eddy, 2003).



**Figura 4.3** Remoción de la turbiedad en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un BRM

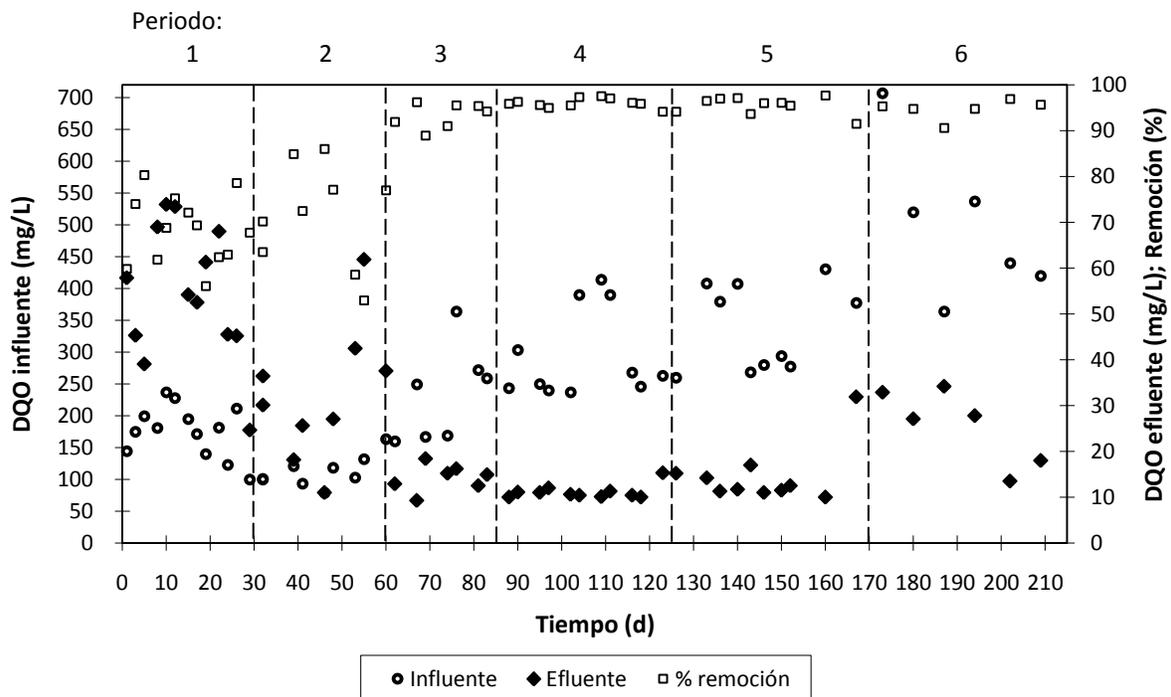
### 4.3 Demanda química de oxígeno (DQO)

Se estudió la remoción de materia orgánica medida como demanda química de oxígeno (DQO) para distintas concentraciones de sólidos suspendidos volátiles en el licor mezclado y varios tiempos de residencia hidráulica.

La variación de DQO y su remoción se presentan en la Figura 4.4 y Tabla 4.1. Se observa que debido al uso de aguas residuales reales, en los periodos 1 y 2 se encontraron valores bajos en el influente ( $170 \pm 40$  y  $112 \pm 24$  mg DQO/L, respectivamente).

En un principio se observa un comportamiento inestable en las concentraciones de salida, la eliminación de DQO durante el periodo de aclimatación fue en promedio 68%, lo que proporcionó una salida de  $54 \pm 14$  mg DQO/L y se observó que hasta

el día 60 del experimento no se consiguió que la DQO disminuyera por debajo de 30 mg/L de forma continua. En la Figura 4.4 se aprecia que con el aumento de 4,000 a 5,000 mg/L SSVLM no se ve una mejora significativa en la eliminación. Como cabe esperar, a partir del día 63, al incrementar la concentración de SSVLM a 6,000 mg/L, durante los periodos 3-6, se observó mayor eliminación de DQO para los distintos tiempos de residencia hidráulica (7-12 h), obteniéndose de 11 a 26 mg DQO/L en el efluente y consiguiéndose remociones hasta de 96%. Como se muestra en la Tabla 4.1, en el periodo 6 aumentó la relación alimento/microorganismo y la carga orgánica volumétrica dando como resultado menor remoción ( $94\pm 2.3\%$ ) en comparación con los periodos 4 y 5 en donde se obtuvo la mayor remoción (6,000 mg/L SSVLM y 10-12 h de TRH), mostrando un comportamiento estable con valores en el efluente menores o iguales a 17 mg DQO/L. Estos resultados fueron satisfactorios ya que se encuentran dentro de los datos de rendimiento típicos para un biorreactor con membranas presentando DQO menor a 30 mg/L en el efluente (Metcalf y Eddy, 2003).



**Figura 4.4** Remoción de materia orgánica medida como DQO en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un BRM

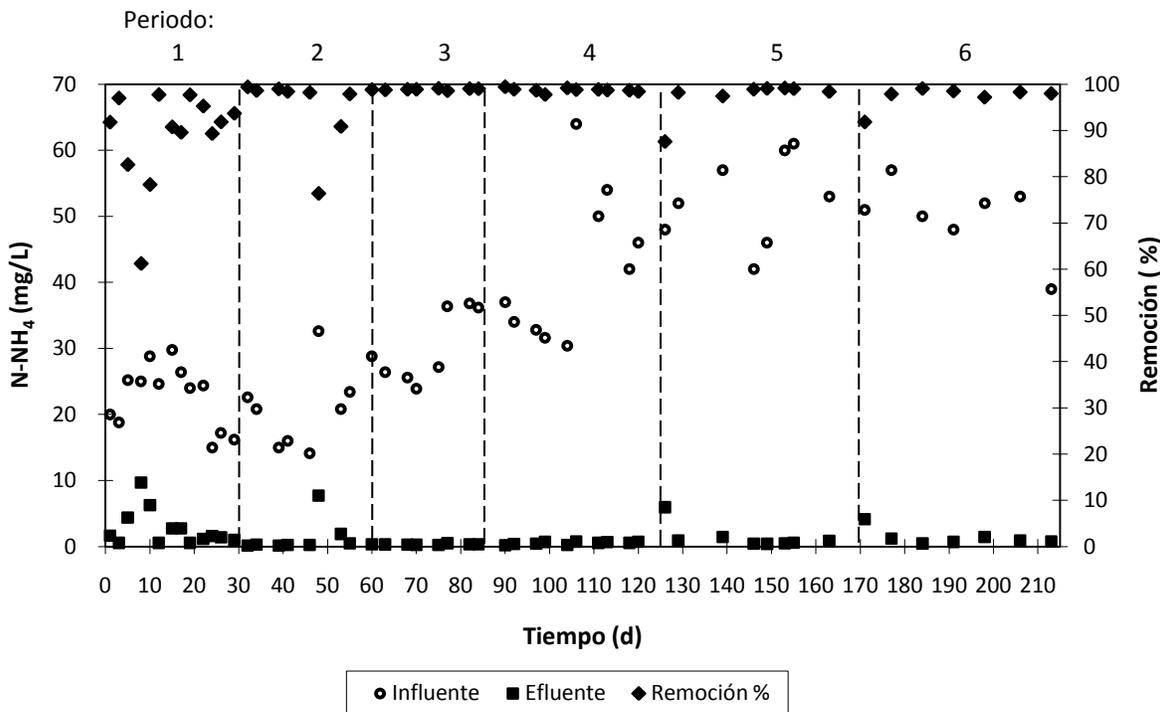
**Tabla 4.1** Condiciones experimentales y remociones de materia orgánica, nitrógeno amoniacal y nitrificación en el biorreactor con membranas

Periodo	1	2	3	4	5	6
TRH (h)	7-8	7-8	7-8	12	10-11	9-10
SSVLM (mg/L)	4,000	5,000	6,000	6,000	6,000	6,000
TRC (d)	48	64	59	68	48	38
F/M (g DQO/ g SSVLM · d)	0.13	0.08	0.12	0.09	0.12	0.21
COV (kg DQO/m <sup>3</sup> · d)	0.6	0.36	0.74	0.59	0.76	1.24
OD (mg/L)	2.6±1.2	3.4±1.5	2.8±0.9	3.8±1.2	1.8±0.9	1.3±0.5
DQO Influyente (mg/L)	170±40	112±24	234±74	298±71	327±70	481±119
DQO Efluente (mg/L)	54±14	32±14	14±2	11±0.7	13±2	26±8
DQO Remoción (%)	68±7	71±11	93±2	96±0.8	96±1	94±2
N-NH <sub>4</sub> Influyente (mg/L)	22.7±4.8	21.5±6.2	30±5.8	42±11.2	53±7.1	50±5.6
N-NH <sub>4</sub> Efluente (mg/L)	2.6±2.7	1.3±2.5	0.3±0.09	0.5±0.2	0.7±0.4	1.4±1.3
N-NH <sub>4</sub> Remoción (%)	89±10.1	95±7.6	99±0.2	99±0.5	98.6±0.6	97±2.6
N-NO <sub>2</sub> (mg/L)	5.1±3.08	2.7±1.22	2.9±4.3	3.6±3.3	0.9±1.5	3.9±3.3
N-NO <sub>3</sub> (mg/L)	5.6±2.83	9.5±3.43	8.8±2.3	13.9±3.8	11.1±4.1	11.7±3.0

#### **4.4 Eliminación de nitrógeno amoniacal y nitrificación en el sistema**

En este apartado se presentan los resultados de nitrógeno amoniacal, nitritos y nitratos, además se muestra la influencia de la concentración de SSVLM, tiempos de residencia hidráulica y tiempos de retención celular en la eliminación de nitrógeno amoniacal y en la capacidad nitrificante del biorreactor con membranas trabajando con tiempos de retención celular de 38 a 68 días.

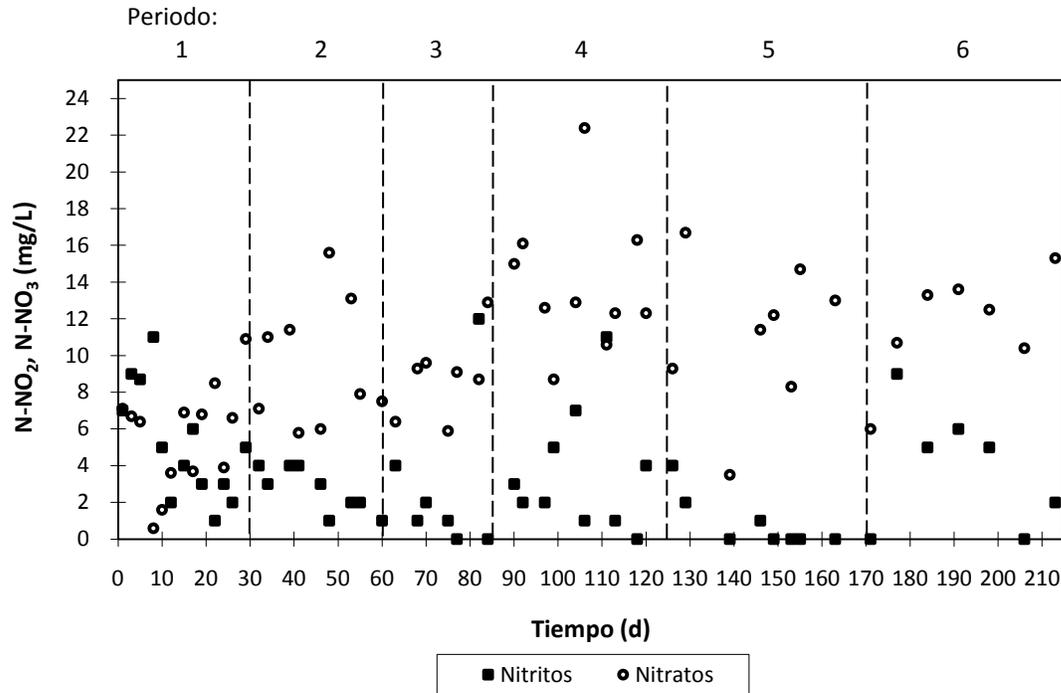
Se observó que durante la aclimatación (periodo 1) la remoción de  $N-NH_4$  fue en promedio 89%, lo que proporcionó una concentración de  $2.6 \pm 2.7$  mg/L  $N-NH_4$  en la salida (Tabla 4.1). La Figura 4.5 muestra que tras cambiar la concentración de SSVLM a 5,000 mg/L hubo una mejora en su eliminación, consiguiéndose valores en el efluente de  $1.3 \pm 2.5$  mg/L  $N-NH_4$ . Posteriormente, durante los periodos 3 al 5, al cambiar a 6,000 mg/L SSVLM se presentaron remociones de  $N-NH_4$  de 99% para los distintos tiempos de residencia hidráulica (7-12 h) y tiempos de retención celular (48-68 días) con valores constantes en el efluente menores de 1 mg/L  $N-NH_4$ , lo cual está de acuerdo con los datos de rendimiento típico para un BRM (Metcalf y Eddy, 2003). Como se ve en la Tabla 4.1, la disminución del tiempo de retención celular y oxígeno disuelto en el biorreactor (periodo 6) provocó una disminución en la remoción de  $N-NH_4$ .



**Figura 4.5** Remoción de N-NH<sub>4</sub> en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un BRM

En la Figura 4.6 se presentan los nitritos y nitratos formados durante el tratamiento, indicando un proceso de nitrificación. Se observa que a partir del periodo 4, donde hubo mayor eliminación de DQO, tras cambiar el TRH a 12 h, incrementar el oxígeno disuelto en el biorreactor y el aumento en la concentración de N-NH<sub>4</sub> en el influente (Tabla 4.1) hay incremento en la concentración de nitratos a la salida del biorreactor.

Se alcanzó la mayor concentración de nitratos ( $13.9 \pm 3.8$  mg/L) y la mayor remoción de N-NH<sub>4</sub> ( $99 \pm 0.5\%$ ) para tiempo de residencia hidráulica de 12 h, tiempo de retención celular de 68 días, OD de  $3.8 \pm 1.2$  mg/L y una concentración de 6,000 mg/L SSVLM (periodo 4). A pesar del aumento en la concentración de N-NH<sub>4</sub> a la entrada durante los periodos 5 y 6, al disminuir el tiempo de residencia hidráulica a 9-11 h, TRC 38-48 días y OD promedio a 1.3-1.8 mg/L, disminuyó también la concentración de nitratos en el efluente (Tabla 4.1).



**Figura 4.6** N-NO<sub>2</sub> y N-NO<sub>3</sub> presentes en el efluente del biorreactor con membranas

No en todos los periodos de la investigación se logró una nitrificación completa en el sistema ya que el crecimiento de las bacterias nitrificantes en fase I que son las responsables de originar NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, es más rápido que el crecimiento de las bacterias nitrificantes en fase II que son las responsables de producir el NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, por lo tanto cuando hay presencia de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> se necesita que se le dé tiempo suficiente a las bacterias nitrificantes en fase II y así transformar ese NO<sub>2</sub><sup>-</sup> a NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Poyatos, 2007).

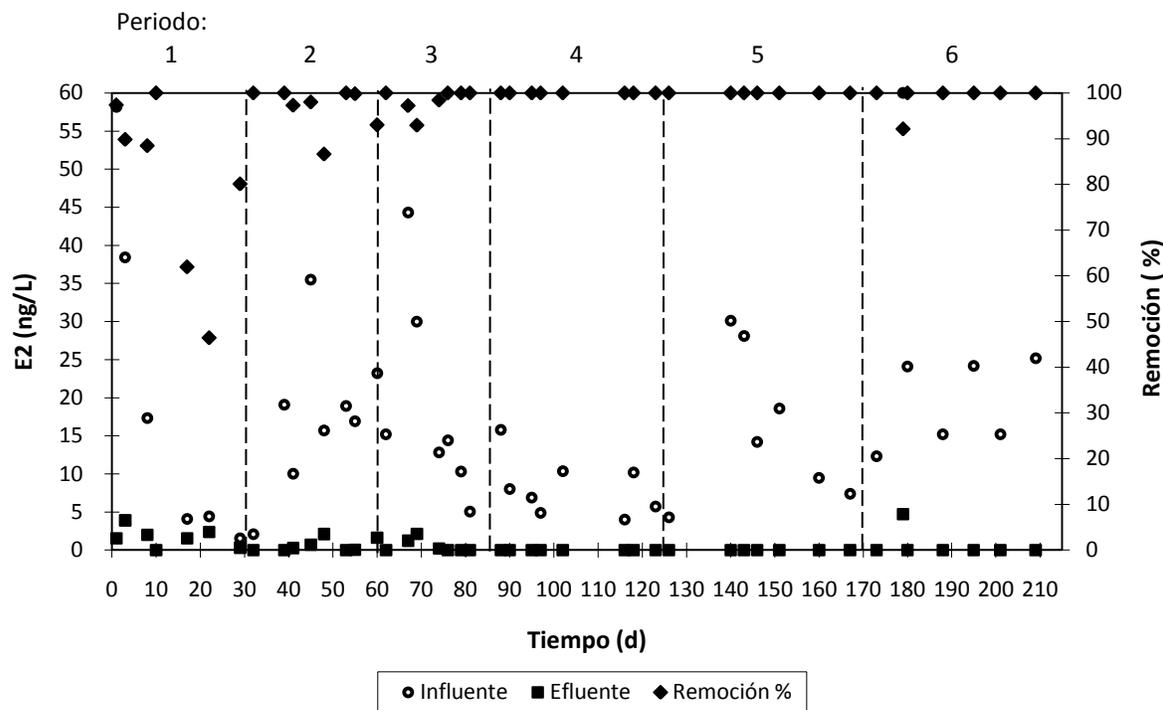
#### 4.5 Remoción de esteroides estrogénicos

Se realizó la evaluación de la remoción de los esteroides estrogénicos 17 $\beta$ -estradiol y 17 $\alpha$ -etinilestradiol en el biorreactor con membranas sumergidas, los cuales se determinaron en el influente y en el efluente. La Tabla 4.2 presenta las concentraciones medidas para los dos esteroides estrogénicos.

**Tabla 4.2** Condiciones experimentales y remoción de E2 y EE2 en el biorreactor con membranas

Periodo	1	2	3	4	5	6
TRH (h)	7-8	7-8	7-8	12	10-11	9-10
SSVLM (mg/L)	4,000	5,000	6,000	6,000	6,000	6,000
F/M (g DQO/ gSSVLM · d)	0.13	0.08	0.12	0.09	0.12	0.21
COV (kg DQO/m <sup>3</sup> · d)	0.6	0.36	0.74	0.59	0.76	1.24
TRC (d)	48	64	59	68	48	38
<b>N-NH<sub>4</sub> Influyente (mg/L)</b>	22.7±4.8	21.5±6.2	30±5.8	42±11.2	53±7.1	50±5.6
<b>N-NH<sub>4</sub> Remoción (%)</b>	89±10.1	95±7.6	99±0.2	99±0.5	98.6±0.6	97±2.6
<b>N-NO<sub>2</sub> (mg/L)</b>	5.1±3.08	2.7±1.22	2.9±4.3	3.6±3.3	0.9±1.5	3.9±3.3
<b>N-NO<sub>3</sub> (mg/L)</b>	5.6±2.83	9.5±3.43	8.8±2.3	13.9±3.8	11.1±4.1	11.7±3.0
<b>E2 Influyente (ng/L)</b>	27±26.9	17.7±9.7	18.9±13.6	8.6±3.99	15.8±10.3	22.9±16.3
<b>E2 Efluente (ng/L)</b>	1.7±1.3	0.6±0.8	0.5±0.8	0	0	0.6±1.6
<b>E2 Remoción (%)</b>	81±19.7	97±4.8	98.4±2.6	100	100	99±2.7
<b>EE2 Influyente (ng/L)</b>	3.8±5.2	5.3±5.6	19.2±15.1	5.9±2.83	10±5.7	61±73.5
<b>EE2 Efluente (ng/L)</b>	0.1±0.2	0.5±0.3	1.2±1.1	0.5±0.09	0	0
<b>EE2 Remoción (%)</b>	81±36.9	95±6.2	95.4±4.2	96±8.91	100	100

Las concentraciones en el agua residual de entrada al sistema fueron variadas y se encontraron valores hasta de 60ng/L de 17 $\beta$ -estradiol (Figura 4.7). Las remociones durante el periodo 1 (4,000 mg/L SSVLM, TRH de 7-8 h y TRC de 48 días) fueron de 81 $\pm$ 19.7% y sus concentraciones en el efluente variaron (1.7 $\pm$ 1.3 ng/L) encontrándose valores hasta de 4 ng/L, estos valores son altos considerando los datos de exposición acuática de 1-5 ng/L que indican que el 17 $\beta$ -estradiol presenta riesgo para los peces y otros vertebrados acuáticos en términos de efectos de disrupción endócrina (Johnson y Harvey, 2002). Con el aumento de SSVLM a 5,000 mg/L y TRC de 64 días hubo mejora en la remoción (97 $\pm$ 4.8%) y al aumentar a 6,000 mg/L SSVLM (periodo 3) se consiguieron remociones de 98.4 $\pm$ 2.6%, durante los primeros días de este periodo se encontró de 0.2 a 2.1 ng/L en el efluente, y remoción completa a partir del día 76. Para la completa remoción de estos compuestos son necesarios tiempos de residencia hidráulica (TRH) y tiempos de retención celular (TRC) suficientemente largos (Suidan *et al.*, 2005; Chang *et al.*, 2006; Hashimoto y Murakami, 2009), por lo tanto, cuando se aumentó el tiempo de residencia hidráulica a 12 h y el tiempo de retención celular a 68 días se obtuvo de forma continua 100% de remoción de 17 $\beta$ -estradiol, esta remoción se mantuvo aún con la disminución del TRH a 10-11 h y TRC de 48 días, manteniéndose igual durante el periodo 6 (TRH 9-10 h y TRC 38 días).

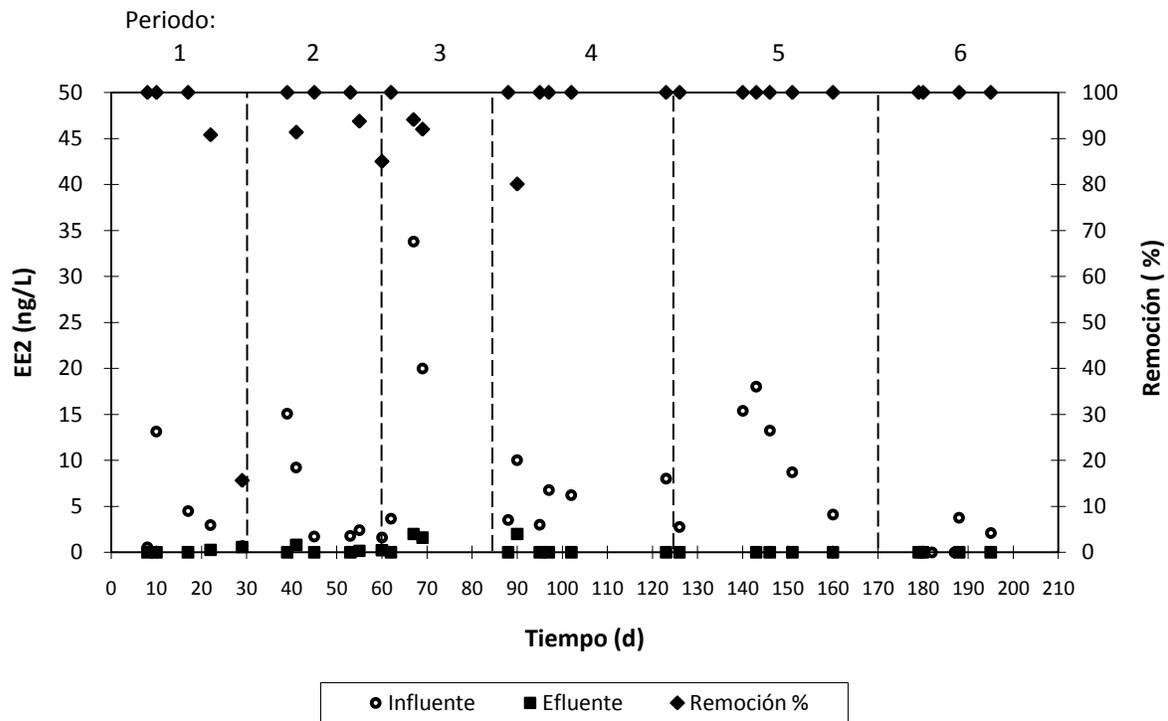


**Figura 4.7** Remoción de  $17\beta$ -estradiol (E2) en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un BRM

El  $17\alpha$ -etinilestradiol también presenta un riesgo para peces y otros vertebrados acuáticos en términos de efectos de disrupción endócrina. Los resultados referentes al  $17\alpha$ -etinilestradiol se muestran en la Figura 4.8 y Tabla 4.2, las concentraciones en el agua residual de entrada al sistema variaron y se encontraron hasta de 82 ng/L de EE2.

Como se presenta en la Tabla 4.2, las concentraciones medidas en el efluente durante los periodos 1 y 2 fueron  $0.1\pm 0.2$  y  $0.5\pm 0.3$  ng/L, respectivamente y a pesar del aumento a 6,000 mg/L SSVLM (periodo 3) se encontraron en el efluente  $1.2\pm 1.1$  ng/L de  $17\alpha$ -etinilestradiol ya que se mantuvo el mismo tiempo de residencia hidráulica y también aumentaron las concentraciones a la entrada. Es importante recordar que en peces sus efectos considerados endócrinos ocurren aun a bajas concentraciones como las detectadas en el efluente ( $> 0.3$ -1 ng/L) (Johnson y Harvey, 2002), por lo tanto, se requiere completa remoción de este compuesto. A partir del periodo 4 donde se trabajó con TRH de 9-12 h, 6,000 mg/L

de SSVLM y TRC de 38-68 días se obtuvieron de manera constante remociones de 100%.



**Figura 4.8** Remoción de  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2) en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante un BRM

El mecanismo de remoción global en biorreactores con membranas es a través de un proceso de biodegradación-adsorción simultáneamente y se ha encontrado que el mecanismo de eliminación principal de los esteroides estrogénicos es la biodegradación (Estrada y Mijaylova, 2010). También se remueven por sorción en el lodo (Cirja, 2007, De Gussemme *et al.*, 2009), una pequeña fracción se queda en la biomasa extraída de los reactores como lodo secundario. Con altas concentraciones iniciales de amoníaco el papel de la biodegradación se vuelve más importante que la sorción (Yi *et al.*, 2006) ya que las bacterias oxidantes de amoníaco junto con otros microorganismos heterótrofos en lodos activados nitrificantes degradan los esteroides estrogénicos  $17\beta$ -estradiol (E2) y  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2) (Shi *et al.*, 2004; Yi *et al.*, 2006; Cajthaml *et al.*, 2009; Ren *et al.*, 2007; Wang e Ivanov, 2009).

En este estudio, el  $17\beta$ -estradiol y el  $17\alpha$ -etinilestradiol se determinaron únicamente en fase líquida y su remoción se evaluó por la diferencia entre la concentración del influente y efluente. Debido a que no se realizaron determinaciones en fase sólida, no se puede cuantificar la fracción de estos compuestos que se removió con la extracción del lodo secundario debido a su adsorción en la biomasa.

#### **4.6 Remoción de esteroides estrogénicos y nitrificación**

Se ha demostrado que los lodos activados nitrificantes son capaces de remover los esteroides estrogénicos naturales y sintéticos (Shi *et al.*, 2004; Yi *et al.*, 2006; Ren *et al.*, 2007; Cajthaml *et al.*, 2009; Wang e Ivanov, 2009), por lo tanto la nitrificación también influye en su remoción. En el punto 4.4 se presentó la eliminación de nitrógeno amoniacal y nitrificación en el sistema.

La concentración de amoniacal regula la actividad de la enzima amonio monooxigenasa, la cual cataliza el primer paso en la nitrificación. A más alta concentración inicial de amoniacal, hay más actividad cometabólica responsable de la degradación de estos compuestos (Yi *et al.*, 2006) y la máxima remoción se alcanza cuando casi todo el amoniacal es oxidado a nitrato (De Gussemme *et al.*, 2009), así que la concentración inicial de nitrógeno amoniacal también influye en su degradación, por lo tanto, en este estudio se puso atención a la relación entre la nitrificación y la remoción de E2 y EE2.

En la Tabla 4.2 se presentan las concentraciones medidas en cada periodo de la experimentación y puede observarse que desde el periodo 4, donde a pesar del incremento en la relación F/M y COV se observó mayor eliminación de DQO (arriba de 95%), hubo más  $N-NH_4$  entrando al sistema (mayor de 30 mg/L) y mejor remoción del mismo (arriba de 97%), además de concentraciones mayores a 11 mg/L de  $N-NO_3$  en el efluente, se lograron también remociones constantes de 100% de E2 y EE2 a pesar de sus variaciones en el influente.

#### **4.7 Remoción de esteroides estrogénicos y tiempo de retención celular**

La degradación de esteroides estrogénicos mediante procesos biológicos puede ocurrir a edades de lodo mayores o iguales a 10 d, esto debido al crecimiento de microorganismos tales como las bacterias nitrificantes, capaces de degradarlos (Ternes *et al.*, 2004; Melin *et al.*, 2006; Wang e Ivanov, 2009).

Al evaluar el efecto del TRC en relación con la remoción de  $17\beta$ -estradiol y  $17\alpha$ -etinilestradiol, se observó que trabajando con tiempos de retención celular de 38 a 68 días se puede obtener remoción completa de ambos (Tabla 4.2) y su remoción no solo estuvo influenciada por el tiempo de retención celular. Tiempo de retención celular de 48 días, 6,000 mg/L SSVLM y tiempo de residencia hidráulico de 10-11 h combinado con nitratos de  $11.1\pm 4.1$  mg/L en el efluente y  $53\pm 7.1$  mg/L  $N-NH_4$  entrando al sistema se logró remoción de 100% para  $17\beta$ -estradiol y  $17\alpha$ -etinilestradiol, en cambio, durante el periodo de aclimatación de la biomasa a las nuevas condiciones de operación, cuando se trabajó con el mismo tiempo de retención celular (48 días), 4,000mg/L SSVLM y un tiempo de residencia hidráulico de 7-8 h junto con menor concentración de nitratos a la salida ( $5.6\pm 2.83$  mg/L) y menor  $N-NH_4$  a la entrada ( $22.7\pm 4.8$  mg/L) se obtuvo menor remoción de ambos esteroides estrogénicos, alrededor de 81%, por lo tanto, la remoción de estos compuestos dependió de la combinación del tiempo de retención celular, tiempo de residencia hidráulica, SSVLM y nitrificación en el sistema.

#### **4.8 Remoción de microorganismos patógenos**

Con la finalidad de estudiar la capacidad del sistema para eliminar microorganismos patógenos se evaluó el funcionamiento del biorreactor con membranas sumergidas con respecto a la remoción de coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli* y enterococos fecales, los cuales se determinaron en el influente y en el efluente. Debido a que la eficiencia de remoción no puede determinarse únicamente por el tamaño de poro de la membrana, las condiciones de operación fueron examinadas variando las concentraciones de SSVLM (4,000-6,000 mg/L) y tiempos de residencia hidráulica (7-12 h).

La Tabla 4.3 presenta los coliformes totales y fecales en el efluente del BRM a diferentes niveles de SSVLM (4,000, 5,000 y 6,000 mg/L). Basado en los resultados obtenidos, operar a 6,000 mg/L SSVLM fue lo mejor entre los tres niveles junto con TRH de 9-12 h (periodos 4 a 6) y a partir del día 68 de la experimentación hubo valores en el efluente de coliformes totales menores o iguales a 23 NMP/100mL y coliformes fecales menores o iguales a 4 NMP/100mL. La limpieza química de la membrana en los días 54 y 170 no afectaron la remoción (ver Anexo 3). Es importante recordar que la remoción de patógenos también se relaciona a cambios de flux y resistencia de filtración.

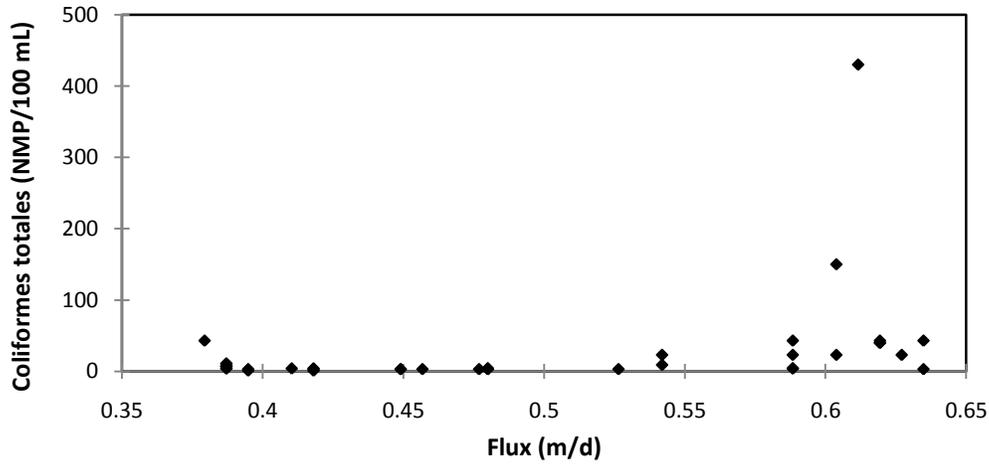
**Tabla 4.3 Microorganismos indicadores de patógenos en el efluente y condiciones de operación en el biorreactor con membranas**

	TRH (h)	SSVLM (mg/L)	Flux m/d	PTM kPa	Resistencia m <sup>-1</sup>	Coliformes totales (NMP/100L) Efluente	Coliformes fecales (NMP/100L) Efluente
<b>Periodo 1</b>	7-8	4,000	0.59-0.66	15.5-22.5	$2.0 \times 10^{12}$ - $3.2 \times 10^{12}$	26±15	18±16
<b>Periodo 2</b>	7-8	5,000	0.59-0.63	14.5-22.5	$2.9 \times 10^{12}$ - $3.3 \times 10^{12}$	167±182	160±189
<b>Periodo 3</b>	7-8	6,000	0.59-0.62	15.0-19.5	$2.0 \times 10^{12}$ - $2.8 \times 10^{12}$	19±19	19±19
<b>Periodo 4</b>	12	6,000	0.37-0.39	9.5	$2.0 \times 10^{12}$ - $2.2 \times 10^{12}$	10±13	4±0.5
<b>Periodo 5</b>	10-11	6,000	0.39-0.46	13.5-21.5	$2.5 \times 10^{12}$ - $4.7 \times 10^{12}$	3±1	3±0.5
<b>Periodo 6</b>	9-10	6,000	0.45-0.54	20.5-21.5	$3.3 \times 10^{12}$ - $4.0 \times 10^{12}$	6±6	4±2

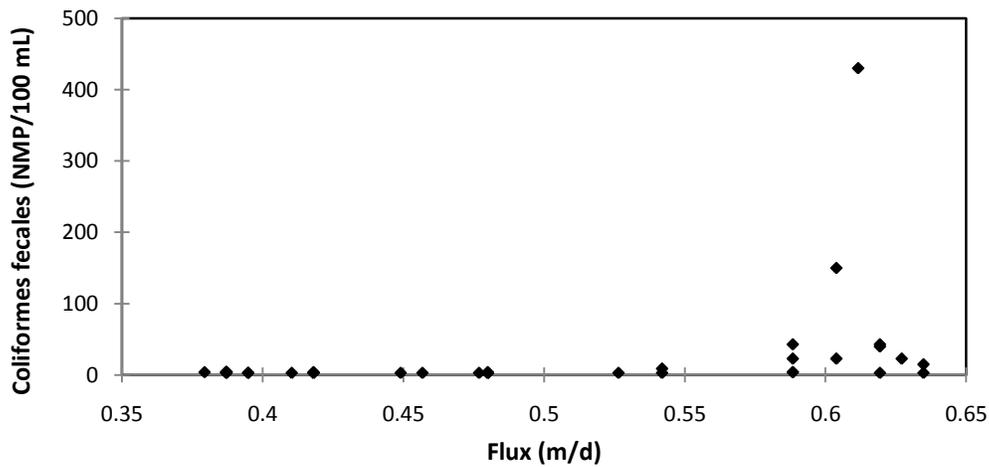
#### 4.8.1 Relación entre el flux y los coliformes totales y fecales

En las Figuras 4.9 y 4.10 se observó la relación entre el flux y los coliformes totales y fecales en el efluente, es notorio que cuando se trabajó con flux relativamente bajo, de 0.37 a 0.54 m/d, correspondiente al TRH de 9-12 h, hubo mayor remoción, con valores en el efluente de coliformes totales menores o iguales a 23 NMP/100mL y coliformes fecales menores o iguales a 4 NMP/100mL, ya que la disminución del flux puede incrementar la posibilidad de impacto de coliformes sobre la biopelícula o superficie de la membrana favoreciendo su

remoción. Como se puede ver en la Tabla 4.3, este flux corresponde a los periodos 4-6 (TRH 9-12 h y 6,000 mg/L SSVLM).



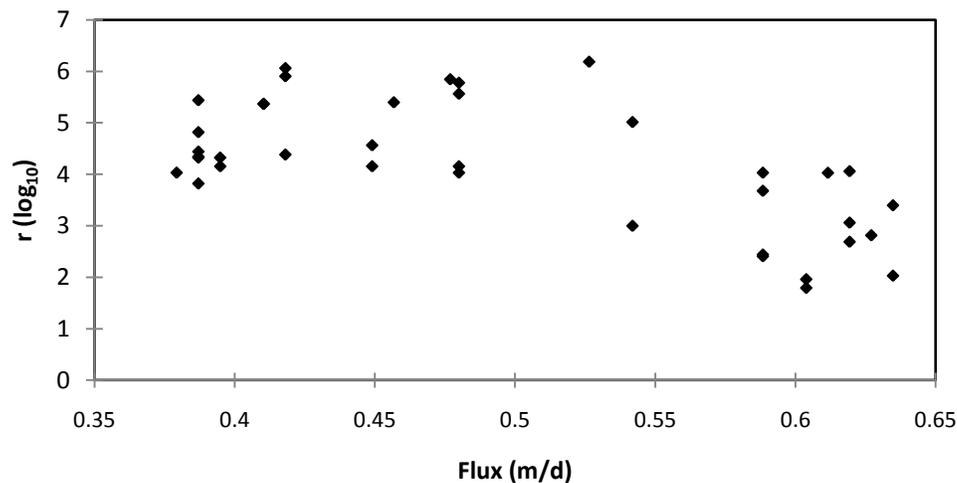
**Figura 4.9** Relación entre el flux y coliformes totales en el efluente del BRM



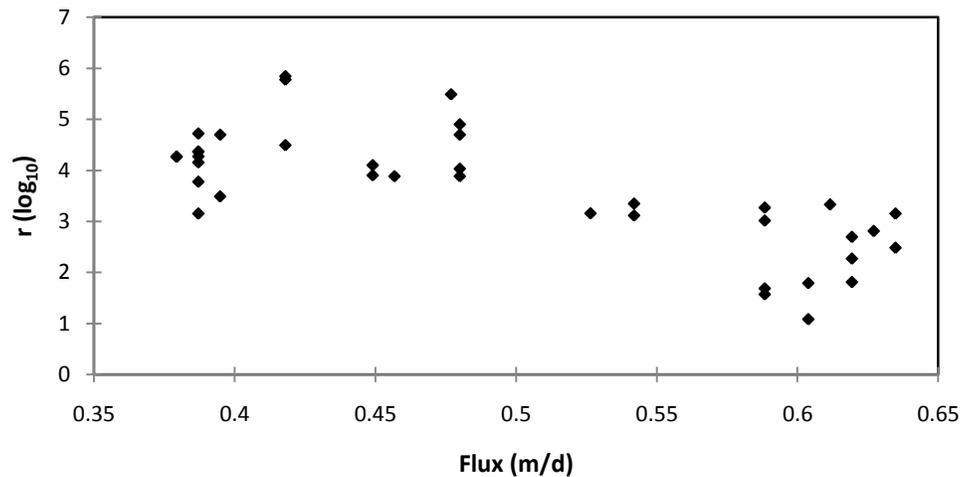
**Figura 4.10** Relación entre el flux y coliformes fecales en el efluente del BRM

En cambio no se presenta una relación entre el flux y la remoción de enterococos fecales y *E. coli* ya que fueron completamente removidos durante los seis periodos del experimento con valores a la salida menores a 1 y menores a 3 NMP/100mL respectivamente, a pesar de que su entrada fue variable, enterococos fecales hasta de  $1.4 \times 10^9$  NMP/100mL y  $2.4 \times 10^6$  NMP/100mL para *E. coli* (Anexo 3).

La remoción de microorganismos patógenos puede depender de su concentración en el influente y por lo tanto la reducción de las unidades logarítmicas no es representativa en todos los casos. A pesar de la gran variación de concentraciones en el influente presentadas en el Anexo 3, en las Figuras 4.11 y 4.12 se observa el mismo comportamiento al relacionar el flux y las unidades logarítmicas de remoción de coliformes totales y fecales, mayor remoción (de 3 a 6 unidades logarítmicas) con flux menor a 0.55 m/d.



**Figura 4.11** Relación entre el flux y las unidades logarítmicas de remoción de coliformes totales en el tratamiento de aguas residuales municipales

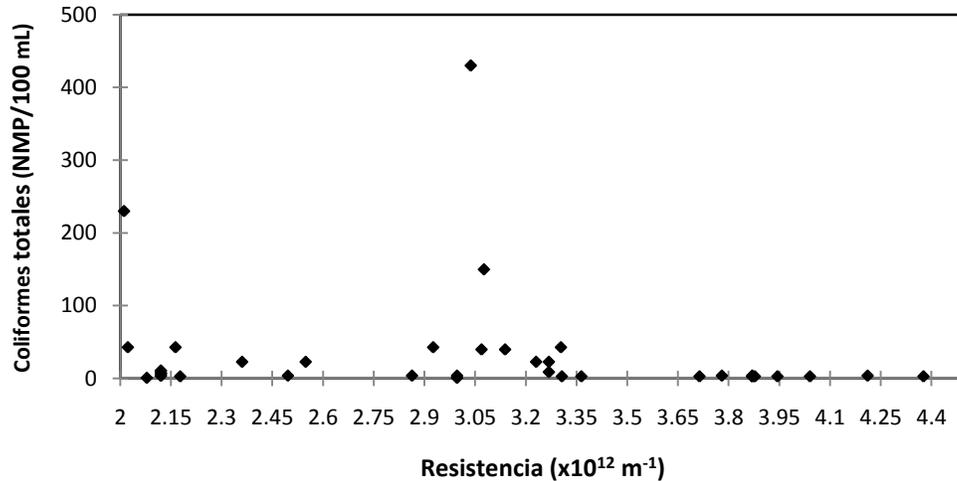


**Figura 4.12** Relación entre el flux y las unidades logarítmicas de remoción de coliformes fecales en el tratamiento de aguas residuales municipales

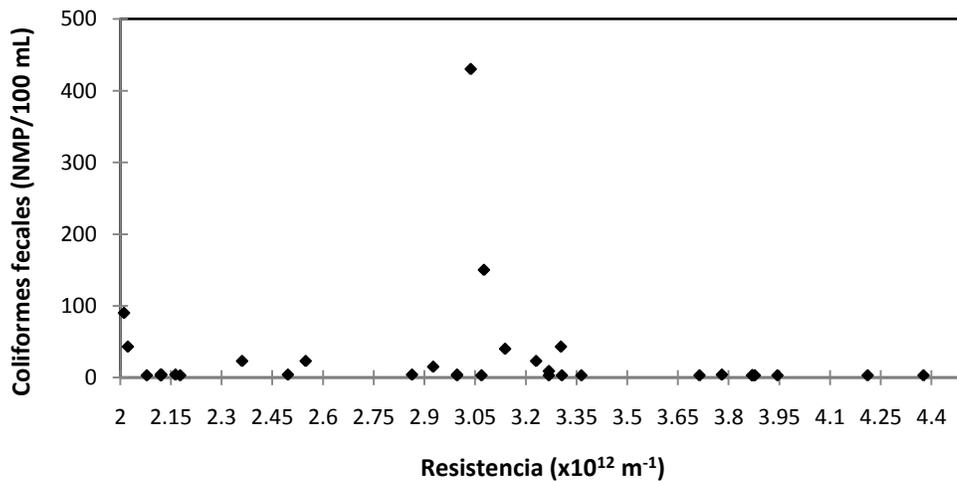
#### 4.8.2 Relación entre la resistencia de filtración y los coliformes totales y fecales

La remoción de patógenos también puede relacionarse con la resistencia de filtración, la cual es proporcional a la PTM e inversamente proporcional al flux. Se tomaron las lecturas de presión transmembrana para determinar la resistencia y así relacionar su influencia en la remoción.

De acuerdo a la relación entre la resistencia de filtración y los coliformes totales y fecales en el efluente mostrada en las Figuras 4.13 y 4.14, la remoción fue mayor y se mantuvo constante trabajando con resistencia de filtración mayor a  $3.35 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$ , obteniéndose valores menores o iguales a 4 NMP/100mL, implicando que más coliformes son rechazados cuando la capa resistente se desarrolla en la membrana, estas resistencias corresponden a los periodos 5 y 6.



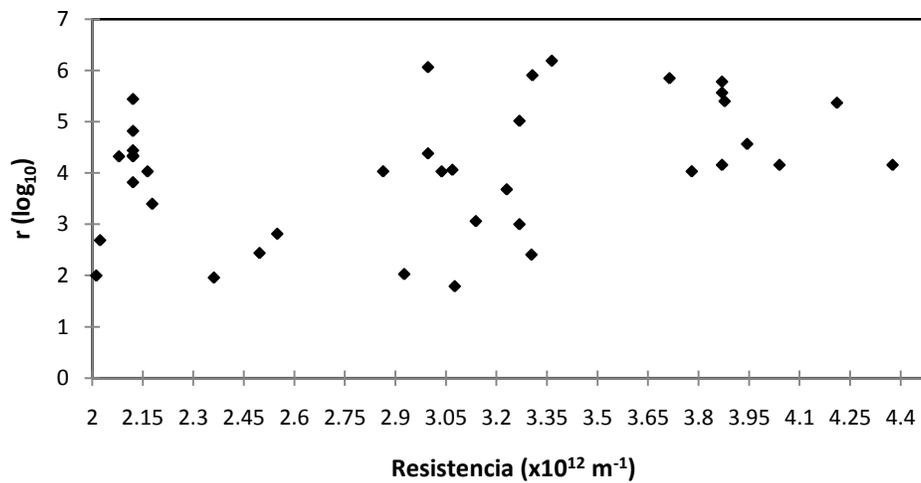
**Figura 4.13** Relación entre la resistencia de filtración y coliformes totales en el efluente del BRM



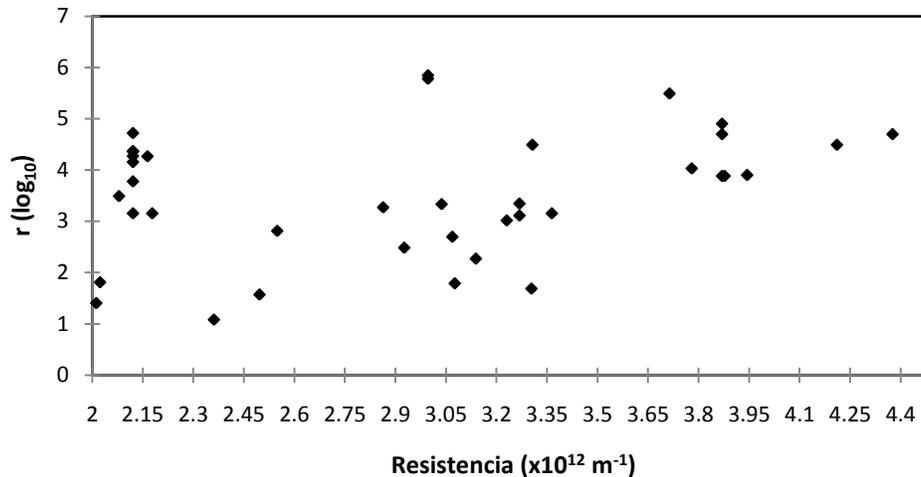
**Figura 4.14** Relación entre la resistencia de filtración y coliformes fecales en el efluente del BRM

En las Figuras 4.13 y 4.14 también pueden observarse algunos valores menores o iguales a 4 NMP/100mL de coliformes totales y fecales al trabajar resistencias de filtración menores a  $3.35 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$ , esto puede explicarse porque durante el periodo 4 (Tabla 4.3) se tuvieron las menores resistencias de filtración ( $2.0\text{-}2.2 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$ ) y a pesar de esto, se logró remoción total de coliformes ya que en

este periodo se trabajó el menor flux (0.37-0.39 m/d), por lo tanto, su remoción se favorece trabajando a bajo flux y/o alta resistencia de filtración. Debido a esto y a las variaciones en el influente, en las Figuras 4.15 y 4.16 no se observó de forma marcada el incremento en las unidades logarítmicas de remoción de coliformes totales y fecales al aumentar la resistencia de filtración. Al trabajar resistencias de filtración mayores a  $3.35 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$ , se lograron remociones de 4 a 6 unidades logarítmicas.



**Figura 4.15** Relación entre la resistencia de filtración y las unidades logarítmicas de remoción de coliformes totales en el tratamiento de aguas residuales municipales

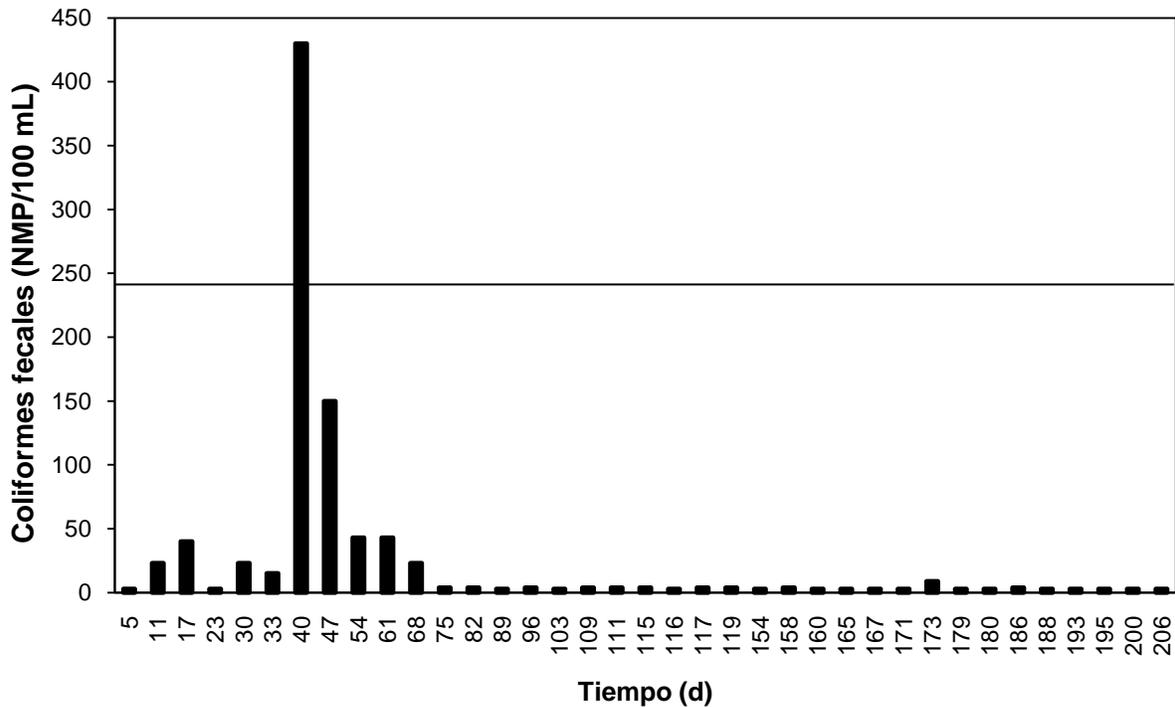


**Figura 4.16** Relación entre la resistencia de filtración y las unidades logarítmicas de remoción de coliformes fecales en el tratamiento de aguas residuales municipales

El límite máximo permisible por la normativa mexicana NOM-001-Semarnat-1996 para las descargas de aguas residuales vertidas a aguas y bienes nacionales, así como las descargas vertidas a suelo (uso en riego agrícola) es de 1000 y 2000 como número más probable (NMP) de coliformes fecales por cada 100 mL para el promedio mensual y diario, respectivamente.

El límite máximo permisible para reúso en servicios al público con contacto directo es coliformes fecales 240 NMP/100mL y para servicios al público con contacto indirecto u ocasional es 1000 NMP/100mL (NOM-003-Semarnat-1997).

En la Figura 4.17 se observó que los coliformes fecales en el efluente del BRM estuvieron por debajo de 1000 NMP/100mL, y solo un resultado sobrepasó el límite de 240 NMP/100mL, por lo tanto el agua es adecuada para su reúso en servicios al público con contacto directo.



**Figura 4.17** Coliformes fecales en el efluente del biorreactor con membranas

Como se ha visto, los microorganismos en estudio pueden ser removidos completamente por el biorreactor con membranas. La membrana de ultrafiltración usada tiene un tamaño de poro de  $0.04 \mu\text{m}$ , por lo tanto se espera completa remoción de estos. Sin embargo se observó que bajo ciertas condiciones de operación que incluyen el flux y la resistencia de filtración se pueden presentar algunas fugas a través de la membrana que pueden ser debido a que bajo la presión aplicada a la membrana, la estructura de la célula de las bacterias puede deformarse y reducirse su volumen, facilitando de este modo su paso a través de la membrana (Ghayeni *et al.*, 1999).

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES

---

El biorreactor aerobio con membranas sumergidas permite remover de manera eficiente los esteroides estrogénicos  $17\beta$ -estradiol y  $17\alpha$ -etinilestradiol, además de los coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli* y enterococos fecales en aguas residuales municipales.

La remoción de los esteroides estrogénicos estuvo influenciada por los sólidos suspendidos volátiles en el licor mezclado, tiempo de residencia hidráulica, tiempo de retención celular, la concentración de  $N-NH_4$  en el influente y el proceso de nitrificación. Se obtuvieron remociones constantes de 100% de  $17\beta$ -estradiol (E2) y  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2) cuando se trabajó con 6,000 mg/L de SSVLM, TRH de 9 a 12 h y TRC de 38 a 68 días. Durante la operación en estas condiciones, el agua residual a la entrada del BRM contenía más de 30 mg/L de  $N-NH_4$ , cuya remoción en el biorreactor fue arriba de 97% y debido al proceso de nitrificación, la concentración del  $N-NO_3$  en el efluente fue mayor de 11 mg/L.

Se obtuvieron remociones de materia orgánica medida como DQO de 96% operando el BRM con una concentración de 6,000 mg/L de SSVLM y TRH entre 10 y 12 h, lográndose valores de DQO en el efluente menores o iguales a 17 mg/L.

Se presentaron remociones de  $N-NH_4$  de 99% operando el BRM con 6,000 mg/L de SSVLM, tiempos de residencia hidráulica de 7 a 12 h y tiempos de retención celular de 48 a 68 días, obteniéndose en el efluente concentraciones de  $N-NH_4$  menores de 1 mg/L. En el proceso de nitrificación, se alcanzó mayor

concentración de nitratos ( $13.9 \pm 3.8$  mg/L) cuando hubo remociones de  $99 \pm 0.5\%$  de  $N-NH_4$ , mientras el BRM operó con tiempo de residencia hidráulica de 12 h, tiempo de retención celular de 68 días y OD de  $3.8 \pm 1.2$  mg/L.

La turbiedad en el efluente del BRM durante todo el experimento fue menor de 1 UTN, representando una remoción mayor a 99%.

La remoción de los coliformes totales y fecales se logró exitosamente operando el BRM con 6,000 mg/L de SSVLM y TRH de 9 a 12 h. Se observó que existe una relación entre el flux y la remoción de coliformes totales y fecales. Cuando se trabajó con flux relativamente bajo (0.37 a 0.54 m/d), correspondiente al TRH de 9 a 12 h, hubo mayor remoción (3 a 6 unidades logarítmicas), con valores en el efluente de coliformes totales menores o iguales a 23 NMP/100mL y de coliformes fecales menores o iguales a 4 NMP/100mL.

La remoción de coliformes totales y fecales se relacionó con la resistencia de filtración. La remoción fue mayor (4 a 6 unidades logarítmicas) y se mantuvo constante cuando se trabajó con resistencias mayores a  $3.35 \times 10^{12}$  m<sup>-1</sup>, obteniéndose valores en el efluente menores o iguales a 4 NMP/100mL de coliformes totales y fecales. Aún con menores resistencias de filtración, se pudo lograr la misma remoción, esto ocurrió cuando se operó con bajo flux (0.37 a 0.46 m/d), por lo tanto, la remoción se favoreció trabajando con alta resistencia de filtración y/o bajo flux.

La *E. coli* y los enterococos fecales fueron removidos con alta eficiencia durante toda la experimentación, a pesar de que su concentración en el influente fue variable. Se obtuvieron valores en el efluente de *E. coli* menores a 3 NMP/100mL y enterococos fecales menores a 1 NMP/100mL.

## REFERENCIAS

---

- Ascenzo G.D., Di Corcia A., Gentili A., Mancini R., Mastropasqua R., Nazzari M., Samperi R. (2003). Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *The Science of the Total Environment*. 302, pp. 199-209.
- Birkett J.W. and Lester J.N. (2003). *Endocrine Disruptors in Wastewater and Sludge Treatment Processes*. Chap 1. Lewis Publishers.
- Blasco A. (2001). Biomembranas. Colaboración Técnica N° 2 Asercop on-line. [<http://www.asecorponline.com/ficheros/demo/coltec/biomembranas.pdf>, Diciembre 2004].
- Bodzek M. and Dudziak M. (2006). Elimination of steroidal sex hormones by conventional water treatment and membrane processes. *Desalination*. 198, pp. 24-32.
- Botham C., Harrison P.T.C., Holmes P., Koller K., Rumsby P. (2003). Information Exchange and International Coordination on Endocrine Disruptors. *Institute for Environment and Health for European Commission*.
- Bouhabila H., Aïm R.B., Buisson H. (1998). Microfiltration of activated sludge using submerged membrane with air bubbling (application to wastewater treatment). *Desalination*. 118, pp. 315-322.
- Braga O., Smythe G.A., Schafer A.I. and Feitz A.J. (2005). Steroid estrogens in primary and tertiary wastewater treatment plants. *Water Science & Technology*. 52, pp. 273-278.
- Bruchet A., Prompsy C., Filippi G., and Souali A. (2002). A broad spectrum analytical scheme for the screening of endocrine disruptors (EDS), pharmaceuticals and personal care products in wastewaters and natural waters. *Water Science & Technology*. 46, pp. 97-104.
- Cajthaml T., Křesinová Z., Svobodová K., Sigler K., Řezanka T. (2009). Microbial transformation of synthetic estrogen 17  $\alpha$ -ethinylestradiol. *Environmental Pollution*. Doi: 10.16/j.envpol.2009.06.027.
- Centro Canario del Agua. (2003). Introducción a los Biorreactores de membranas. [<http://www.fcga.es/Docs/introMBR.pdf>. Diciembre 2004].

- Chang S., Jang N., Yeo Y., Kim S. (2006). Fate and transport of endocrine-disrupting compounds (oestrone and 17  $\beta$ -oestradiol) in membrane bioreactor used for water re-use. *Water Science & Technology*. 53, pp. 123-130.
- Cirja M. (2007). Studies on the behaviour of endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor. Thesis Aachen University.
- Clara M., Strenn B., Saracevic E., Kreuzinger N. (2004). Adsorption of bisphenol-A, 17 $\beta$ -estradiol and 17 $\alpha$ -ethinylestradiol to sewage sludge. *Chemosphere*. 56, pp. 843-851.
- Clouzot L., Doumenq P., Roche N. (2010). Kinetic parameters for 17 $\alpha$ -ethinylestradiol removal by nitrifying activated sludge developed in a membrane bioreactor. *Bioresource Technology*. Doi: 10.1016/j.biortech.2010.03.039.
- CNA (2008). Estadísticas del agua en México, 1ª Edición.
- Collins M. R. (2006). Recent Progress in Slow Sand and Alternative Biofiltration Processes. First published. *IWA Publishing*. UK.
- Crespi M. (2008). Tratamiento con bioreactores de membrana. Jornada: Regeneració i reutilització d'aigües a la indústria.
- De Gusseme B., Pycke B., Hennebel T., Marcoen A., Vlaeminck S.E., Nopp H., Boon N., Verstraete W. (2009). Biological removal of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol by a nitrifier enrichment culture in a membrane bioreactor. *Water Research*. doi:10.1016/j.watres.2009.02.028.
- Esperanza M., Suidan M.T., Marfil-Vega R., Gonzalez C., Sorial G.A., McCauley P., Brenner R. (2007). Fate of sex hormones in two pilot-scale municipal wastewater treatment plants: Conventional treatment. *Chemosphere*. 66, pp. 1535-1544.
- Estrada E. and Mijaylova P. (2008). Fate of natural and synthetic steroid estrogens in membrane bioreactor. Proceedings of the 1st IWA Young Water Professionals Conferences, April 9-11, 2008, Mexico City.
- Estrada E. and Mijaylova P. (2010). Calculation methods to perform mass balance of estrogens in submerged membrane bioreactor. Proceedings of the 2nd IWA Young Water Professionals Conferences, April 12-14, 2010, Querétaro, México.
- Fane A. and Chang S. (2002). Membrane Bioreactors: Design & Operational Options. *Filtration & Separation*. pp. 26-28.

- Garcia-Armisen T., Prats J., Marrero Y., Servais P. (2008). Faecal bacterial indicators removal in various wastewater treatment plants located in Almendares River watershed (Cuba). *Water Science & Technology*. 58.4, pp. 773-779.
- Gaulke L.S., Strand S.E., Kalhorn T.K., Stensel D. (2008). 17 $\alpha$ -ethinylestradiol Transformation via Abiotic Nitration in the Presence of Ammonia Oxidizing Bacteria. *Environmental Science and Technology*. 42, pp. 7622-7627.
- Ghayeni S.B.S., Beatson P.J., Fane A.J., Scheneider R.P. (1999). Bacterial passage through microfiltration membranes in wastewater applications. *Journal of Membrane Science*. 153, pp. 71-82.
- Graczyk T. K., and Lucy F. E. (2007). Quality of reclaimed waters: a public health need for source tracking of wastewater-derived protozoan enteropathogens in engineered wetlands. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 101, pp. 532-533.
- Gutierrez M., Rodriguez M., Lopez R., Romero R. (1994). *Microbiología y parasitología médicas*. Capitulo 8. Segunda Edición. Méndez Editores. México.
- Guttau S., Günther R., Hapke Jobst. (2002). Investigations and simulation of a membrane bioreactor system for application in remote areas. *Desalination*. 144, pp. 405-409.
- Haiyan R., Shulan Ji., Ahmad N., Dao W., Chengwu C. (2007). Degradation characteristics and metabolic pathway of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol by *Sphingobacterium* sp. JCR5. *Chemosphere*. 66, pp. 340-346.
- Hashimoto T. and Murakami T. (2009). Removal and degradation characteristics of natural and synthetic estrogens by activated sludge in batch experiments. *Water Research*. 43, pp. 573-582.
- Hernández A., Cortacans A., del castillo I., Hernández A. (2006). Eficacia de los tratamientos avanzados en la eliminación de sustancias estrogénicas. III Congreso de ingeniería civil. Territorio y Medio Ambiente.
- Janex-Habibi M., Hoyard A., Esperanza M., Bruchet A. (2009). Reduction of endocrine disruptor emissions in the environment: The benefit of wastewater treatment. *Water research*. doi:10.1016/j.watres.2008.12.051.
- Jermann D., Pronk W., Boller M., Schäfer A.I. (2009). The role of NOM fouling for the retention of estradiol and ibuprofen during ultrafiltration. *Journal of Membrane Science*. 329, pp. 75-84.

- Jiang L., Yang J., Chen J. (2010). Isolation and characteristics of  $17\beta$ -estradiol degrading *Bacillus* spp. strains from activated sludge. *Biodegradation*. Doi: 10.1007/s10532-010-9338-z.
- Johnson and Harvey P. (2002). Study on the scientific evaluation of 12 substances in the context of endocrine disrupter priority list of actions. *European Commission*. Report No. UC6052.
- Judd S. (2005). Fouling control in submerged membrane bioreactors. *Water Science & Technology*. 51, pp. 27-34.
- Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., Thurman E.M., Zaugg S.D., Barber L.B., Buxton H.T. (2002). Pharmaceuticals, Hormones and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A National Reconnaissance.
- Kreuzinger N., Clara M., Strenn B., Kroiss B. (2004). Relevance of the sludge retention time (SRT) as design criteria for wastewater treatment plants for the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals from wastewater. *Water Science and Technology*. 50, pp. 149–156.
- Lazarova and Bahri. (2005). *Water Reuse for Irrigation. Agriculture, Landscapes, and Turf Grass*. CRC Press. Florida.
- Leiknes T. and Ødegaard H. (2007). The development of a biofilm membrane bioreactor. *Desalination*. 202, pp. 135-143.
- Liu Z., Kanjo Y., Mizutani S. (2009). Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewater treatment-physical means, biodegradation, and chemical advanced oxidation: A review. *Science of the Total Environment*. 407, pp. 731-748.
- Manahan S.E. (2007). *Introducción a la química ambiental*. Primera edición. Editorial Reverté. España.
- Maya C., Beltrán N.A., Jimenez B.E. (2002). Inactivación de bacterias y amibas anfizoicas por medio de la aplicación de un proceso de desinfección con luz UV. XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Cancún, México.
- Melin T., Jefferson B., Bixio D., Thoeye C., De Wilde W., De Koning J., Van der Graaf J., Wintgens T. (2006). Membrane bioreactor technology for wastewater treatment and reuse. *Desalination*. 187, pp. 271-282.
- Melo y Cuamatzi. (2007). *Bioquímica de los Procesos Metabólicos*. 2a. Edición. Reverté. México.

- Metcalf and Eddy. (2003). *Wastewater Engineering. Treatment and Reuse*. Fourth Edition. Mc Graw Hill. New York.
- Metcalf and Eddy. (2007). *Water reuse: Issues, Technologies, and Applications*. Part 2. First Edition. Mc Graw Hill. New York.
- Nghiem L.D., Schäfer A.I. and Waite T.D. (2002). Adsorption of estrone on nanofiltration and reverse osmosis membranes in water and wastewater treatment. *Water Science and Technology*. 46, pp. 265–272.
- Noir M., Lepeuple A., Guieysse B., Mattiasson B. (2007). Selective removal of 17 $\beta$ -estradiol at trace concentration using molecularly imprinted polymer. *Water Research*. 41, pp. 2825-2831.
- NOM-001-Semarnat-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
- NOM-003-Semarnat-1997. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público.
- Onda K., Nakamura Y., Takatoh C., Miya A. and Katsu Y. (2003). The behavior of estrogenic substances in the biological treatment process of sewage. *Water Science and Technology*. 47, pp. 109-116.
- Ottoson J., Hansen A., Björlenius B., Norder H., Stenström T.A. (2006). Removal of viruses, parasitic protozoa and microbial indicators in conventional and membrane processes in a wastewater pilot plant. *Water Research*. 40, pp. 1449-1457.
- Pant A. and Mittal A. (2008). New Protocol for the enumeration of Salmonella and Shigella from Wastewater. *Journal of Environmental Engineering*. 134, pp.222-226.
- Poyatos J.M. (2007). Biorreactores de membrana aplicados al tratamiento de aguas residuales urbanas y su influencia en la calidad del agua tratada. Tesis doctoral. Universidad de Granada.
- Pundsack J., Axler R., Hicks R., Henneck J., Nordman D., McCarthy B. (2001). Seasonal Pathogen Removal by Alternative On-Site Wastewater Treatment Systems. *Water Environment Research*. 73, pp. 204-212.
- Reid E., Xingrong Liu., Judd S. (2008). Sludge characteristics and membrane fouling in full-scale submerged membrane bioreactors. *Desalination*. 219, pp. 240-249.

- Ren Y., Nakano K., Nomura M., Chiba N., Nishimura O. (2007). Effects of bacterial activity on estrogen removal in nitrifying activated sludge. *Water Research*. 41, pp. 3089-3096.
- Rittman B. y McCarty. (2001). *Biotecnología del Medio Ambiente Principios y Aplicaciones*. Editorial Mc-Graw Hill. Madrid, España.
- Shi J., Fujisawa S., Nakai S., Hosomi M. (2004). Biodegradation of natural and synthetic estrogens by nitrifying activated sludge and ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea*. *Water Research*. 38, pp. 2323-2330.
- Snyder S.A., Adham S., Redding A.M., Cannon F.S. (2006). Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals. *Desalination*. pp. 156–181.
- Solarte Y., Peña M., Madera C. (2006). Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. *Colombia Médica*. 37, pp. 74-82.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (1998). 20<sup>th</sup> edition, American Public Health. Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Suidan M.T., Esperanza., Zein M., McCauley P., Brenner R.C., Venosa A.D. (2005). Challenges in biodegradation of trace organic contaminants-gasoline oxygenates and sex hormones. *Water Environment Research*. 77, pp. 4-11.
- Ternes T.A., Janex-Habibi M.J., Knacker T., Kreuzinger N., Siegrist H. (2004). Assessment of Technologies for the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Sewage and Drinking Water Facilities to Improve the Indirect Potable Water Reuse. *Project acronym. POSEIDON*. Contract No. EVKI-CT-2000-00047.
- Trenholm R.A., Vanderford B.J., Holady J.C., Rexing D.J., Snyder S.A. (2006). Broad range analysis of endocrine disruptors and pharmaceuticals using gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Chemosphere*. 65, pp. 1990-1998.
- Ueda T. (2001). Removal of microorganisms from wastewater with a membrane bioreactor. *Bull. Natl. Res. Inst. Agric. Eng. Japan*. 40, pp. 1-94.
- Ueda T. and Horan N.J. (2000). Fate of indigenous bacteriophage in a membrane bioreactor. *Water Research*. 34, pp. 2151-2159.
- Urase T., Kagawa C., Kikuta T. (2005). Factors affecting removal of pharmaceutical substances and estrogens in membrane separation bioreactors. *Desalination*. 178, pp. 107-113.

- Vader J.S., van Ginkel C.G., Sperling F.M.G.M., de Jong J., de Boer W., de Graaf J.S., van der Most M., Stokman P.G.W. (2000). Degradation of ethinyl estradiol by nitrifying activated sludge. *Chemosphere*. 41, pp. 1239-1243.
- Van der Roest H.F., Lawrence D.P., van Bentem A.G.N. (2002). Membrane Bioreactors for Municipal Wastewater Treatment: Membrane Bioreactors for Municipal Wastewater Treatment. Second edition. IWA. London.
- Van Nieuwenhuijzen A., Evenblij H., Uijterlinde C., Schulting F. (2008). Review on the state of science on membrane bioreactors for municipal wastewater treatment. *Water Science & Technology*. pp. 979-985.
- Wang X. and Ivanov V. (2009). Microbial structure of nitrifying granules and their estrogens degradation properties. *Water Science & Technology*. 59.9, pp. 1855-1862.
- Wen Q., Tutuka C., Keegan A., Jin B. (2009). Fate of pathogenic microorganisms and indicators in secondary activated sludge wastewater treatment plants. *Journal of Environmental Management*. 90, pp. 1442-1447.
- Wintgens T., Rosen J., Melin T., Brepols C., Drensla K., Engelhardt N. (2003). Modelling of a membrane bioreactor system for municipal wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*. 216, pp. 55-65.
- Wong Him Man. (2004). Removal of pathogens by membrane bioreactor : removal efficiency, mechanisms and influencing factors. Thesis Hong Kong University of Science and Technology.
- Yi T., Harper W.F., Holbrook D., Love N.G. (2006). Role of Particle Size and Ammonium Oxidation in Removal of 17 $\alpha$ -Ethinyl Estradiol in Bioreactors. *Journal of Environmental Engineering* © ASCE. 132, pp. 1527-1529.
- Yoshimoto T., Nagai F., Fujimoto J., Watanabe K., Mizukoshi H., Makino T., Kimura K., Saino H., Sawada H., Omura H. (2004). Degradation of estrogens by *Rhodococcus zopfii* and *Rhodococcus equi* isolates from activated sludge in wastewater treatment plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 70, pp. 5283-5289.
- Yu C., Roh H., Chu K. (2007). 17  $\beta$ -Estradiol-Degrading Bacteria Isolated from Activated Sludge. *Environmental Science and Technology*. 41, pp. 486-492.

## **Anexo 1**

### **Determinación de 17 $\beta$ -estradiol (E2) y 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) mediante cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas-masas (Estrada y Mijaylova, 2008)**

Se utilizó un cromatógrafo de gases Varian GC CP-3800 acoplado a un espectrómetro de masas-masas con analizador de trampa de iones Varian Saturn 2200. Un volumen de la muestra (5  $\mu$ L) fue inyectada en el modo splitless dentro de una columna capilar de sílica fundida Varian VF-5MS (30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m). El gas acarreador fue helio.

Como primer paso para la detección de los compuestos se realizaron ensayos con las condiciones de operación del cromatógrafo, del espectrómetro de masas-masas y de la derivatización. Se encontraron los valores óptimos de las condiciones de operación y de la derivatización, de esta manera se establecieron los límites de detección y cuantificación de los esteroides estrogénicos en concentraciones de ng/L en fase líquida. En todas las determinaciones de los compuestos se trabajó en el modo de *monitoreo selectivo de iones*. Para el 17 $\beta$ -estradiol (E2) y 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) sus iones son 416 y 425, respectivamente.

### **Tratamiento de la muestra en fase líquida**

Los esteroides estrogénicos fueron determinados en la fase líquida con un volumen de 500 mL de agua residual (influyente) y 1,000 mL del efluente (permeado) del BRM aplicando una filtración como primer paso, seguida de una extracción en fase sólida con cartuchos C<sub>18</sub> (Varian), limpieza con sílica gel y por último una derivatización de los analitos.

### **Filtración**

La muestra de agua residual (influyente y permeado) fue ajustada a pH 3 con ácido sulfúrico y filtrada a través de filtros de fibra de vidrio (Whatman) de 120 mm  $\times$  1.0  $\mu$ m.

### **Extracción en fase sólida**

La extracción en fase sólida se realizó utilizando cartuchos C<sub>18</sub> con una capacidad de la resina de 500 mg los cuales fueron acondicionados con 5 mL de metanol seguido por 10 mL de agua desionizada a pH 3. Una vez acondicionados los cartuchos, la muestra filtrada fue extraída con vacío en un equipo manifold (Varian) con un flujo entre 10-20 mL/min a una presión de -0.5 bares. Los cartuchos fueron secados durante 30 min con vacío. Los analitos fueron eluidos con 5 mL de metanol. El extracto de metanol fue reducido hasta ~200 µL mediante una corriente suave de N<sub>2</sub>.

### **Limpieza con silica gel**

Se calentó 3 g de silica gel (silica gel grado 60, 70-230, de Aldrich) durante 8 h a 150°C y fue desactivada con 1.5% de agua desionizada (m/m). La silica gel desactivada fue transferida a una columna de plástico (Varian) de 20 mL a la cual se le adicionó 5 mL de una mezcla de hexano/acetona (65:35, v/v) y fue agitada durante 10 min. Antes de usarse, la columna fue limpiada con 5 mL de hexano/acetona. El extracto de metanol de la fase de extracción fue transferido a la columna de silica gel. Finalmente los analitos fueron eluidos con 10 mL de la solución de hexano/acetona aplicando vacío con el equipo manifold a una presión de -0.5 bares. El extracto de hexano/acetona fue evaporado completamente mediante una corriente suave de N<sub>2</sub>.

### **Derivatización**

Para la detección por CG/MS/MS, la muestra extraída y evaporada de la columna de silica gel fue derivatizada adicionando 50 µL de la mezcla de agentes derivatizantes (MSTFA/TMSI/DTE) (n-metil-n(trimetilsilil) trifluoroacetamida (Sigma-Aldrich)/1-(trimetilsilil) imidazola (Fluka)/1,4-ditioeritriol (Sigma-Aldrich), fueron con un grado de pureza >97% con una proporción de 1,000/2/2: v/v/m con un tiempo de reacción de 15 min a una temperatura de 80°C. La muestra se dejó enfriar a temperatura ambiente y fue aforada a 1 mL con tolueno. Finalmente la muestra se analizó por CG/MS/MS.

Las condiciones óptimas de operación del cromatógrafo de gases y del espectrómetro de masas-masas para la detección y cuantificación de los esteroides estrogénicos en concentraciones trazas fueron las siguientes:

### Condiciones de operación del cromatógrafo de gases

Temperatura del inyector	250 °C
Inyección	5 µL splitless
Flujo en la columna	1 mL/min
Gas acarreador	Helio, presión 13.9 psi
Gradiente de temperatura	160°C (3.5 min); 25°C/min hasta 260°C; 1°C/min hasta 270°C; 270°C (7 min); 1°C/min hasta 272°C; 20°C/min hasta 300°C

### Condiciones de operación del espectrómetro de MS/MS

Tiempo de escaneo	1 segundo/scan
Voltaje del multiplicador	300 volts
Electroionización	70 eV
Temperatura de la trampa de ion	250 °C
Amplitud de excitación	0.2 volts
Corriente de emisión	100 microamperes
Ventana para MS/MS	3 m/z

### Límites de detección y cuantificación en fase líquida

	E2	EE2
Límite de Detección (LD)	0.05	0.5
Límite de Cuantificación (LC)	0.16	1.6

Con los valores que se presentan en la siguiente Tabla se mostró que los cartuchos C<sub>18</sub> de Varian son adecuados para la adsorción del E2 y EE2. De la misma forma para la silica gel se obtuvieron recobros entre un 84 y 89%.

#### Porcentaje de recuperación de los esteroides estrogénicos en cartuchos C<sub>18</sub> y silica gel

Compuesto	Extracción en fase sólida (C <sub>18</sub> ) (n=7)	Silica gel (n = 7)
17β-estradiol (E2)	92 ±6%	88.8 ±8%
17αEtinilestradiol (EE2)	88 ±7%	84 ±11%

En la siguiente tabla se observa que en la fase líquida se obtuvieron recobros mayores al 90%. Estos datos nos indican que cerca del 5 y 10% de los analitos se pierden cuando la muestra es derivatizada.

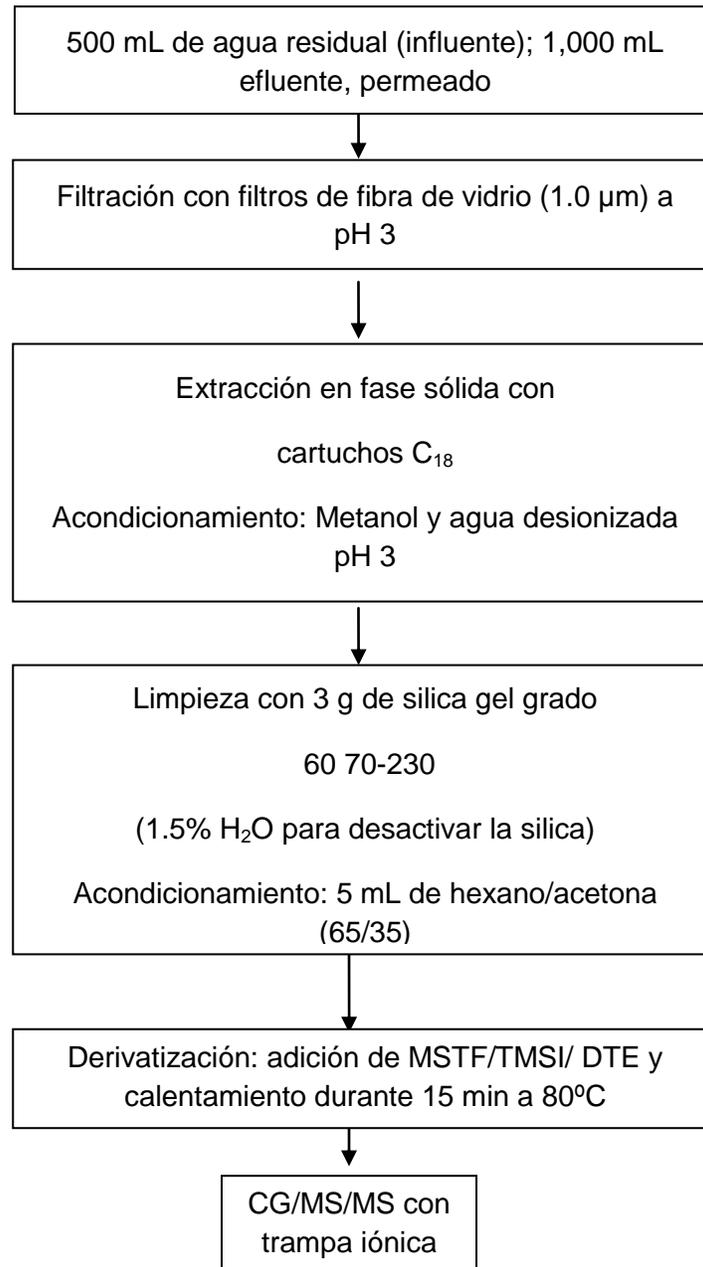
#### Porcentajes de recuperación (exactitud) de los esteroides estrogénicos en la fase líquida cuando la muestra es derivatizada

17β-estradiol (E2)	92 ±3 %
17α-etinilestradiol (EE2)	90 ±3 %

Se mostró la linealidad del método en la fase líquida. Los resultados demuestran la linealidad de la técnica la cual presentó un coeficiente *r* igual a 0.99 y CV del 5% para cada compuesto, lo que indica que en el procedimiento no existe una pérdida significativa de las hormonas.

#### Linealidad del procedimiento en el tratamiento de la muestra en fase líquida

	E2	EE2
Linealidad ( <i>r</i> )	0.99066441	0.99247829
σ (área)	2217	592
CV (%)	5.5	5

**Diagrama del procedimiento del tratamiento de la muestra en la fase líquida**

## Anexo 2

### Promedio del rendimiento del BRM

Parámetros	Unidades	Influente	Efluente	Remoción
<b>Periodo 1 (1-30 días)</b>				
Turbiedad	UTN	95.4±75	0.3±0.08	99.4±0.6%
DQO	mg/L	170±40.4	54±14.6	68±7.5%
N-NH <sub>4</sub>	mg/L	22.7±4.8	2.6±2.7	89±10.1%
E2	ng/L	27±26.9	1.7±1.3	81±19.7%
EE2	ng/L	3.8±5.2	0.1±0.2	81±36.9%
Coliformes totales	NMP/100mL	1.0 x 10 <sup>5</sup> ± 1.9 x 10 <sup>5</sup>	26±15	3.4 ± 0.5 log
Coliformes fecales	NMP/100mL	9.9 x 10 <sup>3</sup> ± 9.1 x 10 <sup>3</sup>	18±16	2.8 ± 0.3 log
<i>E. coli</i>	NMP/100mL	1.18 x 10 <sup>4</sup> ± 1.59 x 10 <sup>4</sup>	6±9	3 ± 0.9 log
Enterococos fecales	NMP/100mL	1.6 x 10 <sup>3</sup> ± 2.24 x 10 <sup>3</sup>	2±4	2.5 ± 1.4 log
<b>Periodo 2 (31-60 días)</b>				
Turbiedad	UTN	54.7±50.5	0.3±0.1	99±0.5%
DQO	mg/L	112±24.8	32±14.8	71±11.4%
N-NH <sub>4</sub>	mg/L	21.5±6.2	1.3±2.5	95±7.6%
E2	ng/L	17.7±9.7	0.6±0.8	97±4.8%
EE2	ng/L	5.3±5.6	0.5±0.3	95±6.2%
Coliformes totales	NMP/100mL	1.16 x 10 <sup>6</sup> ± 2.29 x 10 <sup>6</sup>	167±182	2.6±1 log
Coliformes fecales	NMP/100mL	2.36 x 10 <sup>5</sup> ± 4.62 x 10 <sup>5</sup>	160±189	2.3±0.8 log
<i>E. coli</i>	NMP/100mL	3.67 x 10 <sup>5</sup> ± 6.34 x 10 <sup>5</sup>	<3±0	3.6±1.4 log
Enterococos fecales	NMP/100mL	8.96 x 10 <sup>3</sup> ± 1.7 x 10 <sup>4</sup>	<1±0	3±1 log

Parámetros	Unidades	Influente	Efluente	Remoción
<b>Periodo 3 (61-85 días)</b>				
Turbiedad	UTN	114±84.6	0.3±0.1	99.6±0.3%
DQO	mg/L	234±74.6	14±2.9	93±2.7%
N-NH <sub>4</sub>	mg/L	30±5.8	0.3±0.09	99±0.2%
E2	ng/L	18.9±13.6	0.5±0.8	98.4±2.6%
EE2	ng/L	19.2±15.1	1.2±1.1	95.4±4.2%
Coliformes totales	NMP/100mL	1.68 x 10 <sup>4</sup> ±1.97 x 10 <sup>4</sup>	19±19	2.8±0.9 log
Coliformes fecales	NMP/100mL	2.68 x 10 <sup>3</sup> ±3.43 x 10 <sup>3</sup>	19±19	1.9±0.9 log
<i>E. coli</i>	NMP/100mL	2.67 x 10 <sup>3</sup> ±3.45 x 10 <sup>3</sup>	<3	2.5±0.9 log
Enterococos fecales	NMP/100mL	3.5 x 10 <sup>8</sup> ±6.99 x 10 <sup>8</sup>	<1	4.4±3.3 log
<b>Periodo 4 (86-125 días)</b>				
Turbiedad	UTN	80.6±31.6	0.6±0.6	99.2±0.57%
DQO	mg/L	298±71.8	11±0.7	96±0.8%
N-NH <sub>4</sub>	mg/L	42±11.2	0.5±0.2	99±0.5%
E2	ng/L	8.6±3.99	0	100%
EE2	ng/L	5.9±2.83	0.5±0.09	96±8.91%
Coliformes totales	NMP/100mL	3.12 x 10 <sup>5</sup> ±3.53 x 10 <sup>5</sup>	10±13	4.4±0.5 log
Coliformes fecales	NMP/100mL	6.89 x 10 <sup>4</sup> ±6.28 x 10 <sup>4</sup>	4±0.5	4±0.5 log
<i>E. coli</i>	NMP/100mL	1.6 x 10 <sup>5</sup> ±2.42 x 10 <sup>5</sup>	<3	4.2 ±0.5 log
Enterococos fecales	NMP/100mL	167±130	<1	2±0.4 log

Parámetros	Unidades	Influente	Efluente	Remoción
<b>Periodo 5 (126-170 días)</b>				
Turbiedad	UTN	153±54.9	0.3±0.09	99.8±0.1%
DQO	mg/L	327±70.1	13±2.3	96±1.4%
N-NH <sub>4</sub>	mg/L	53±7.1	0.7±0.4	98.6±0.6%
E2	ng/L	15.8±10.3	0	100%
EE2	ng/L	10±5.7	0	100%
Coliformes totales	NMP/100mL	1.87 x 10 <sup>6</sup> ±1.99 x 10 <sup>6</sup>	3±1	5±0.9 log
Coliformes fecales	NMP/100mL	1.37 x 10 <sup>6</sup> ±1.25 x 10 <sup>6</sup>	3±0.5	5±0.7 log
<i>E. coli</i>	NMP/100mL	1.42 x 10 <sup>6</sup> ±1.04 x 10 <sup>6</sup>	<3	5.4±0.6 log
Enterococos fecales	NMP/100mL	6.0 x 10 <sup>6</sup> ±1.19 x 10 <sup>7</sup>	1±1	4±2.1 log
<b>Periodo 6 (171-213 días)</b>				
Turbiedad	UTN	310±274.2	0.3±0.3	99.9±0.1%
DQO	mg/L	481±119.4	26±7.9	94±2.3%
N-NH <sub>4</sub>	mg/L	50±5.6	1.4±1.3	97±2.6%
E2	ng/L	22.9±16.3	0.6±1.6	99±2.7%
EE2	ng/L	61±73.5	0	100%
Coliformes totales	NMP/100mL	1.04 x 10 <sup>6</sup> ±1.43 x 10 <sup>6</sup>	6±6	5±1 log
Coliformes fecales	NMP/100mL	1.32 x 10 <sup>5</sup> ±2.71 x 10 <sup>5</sup>	4±2	4±0.8 log
<i>E. coli</i>	NMP/100mL	1.52 x 10 <sup>5</sup> ±3.22 x 10 <sup>5</sup>	<3	4±1 log
Enterococos fecales	NMP/100mL	538±640	<1	2±0.8 log

### Anexo 3

Microorganismos indicadores de patógenos a la entrada y salida del BRM								
Días	Coliformes totales (NMP/100mL)		Coliformes fecales (NMP/100mL)		<i>E. Coli</i> (NMP/100mL)		Enterococos fecales (NMP/100mL)	
	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente
5	$7.5 \times 10^3$	<3	$4.3 \times 10^3$	<3	110	<3	$5.3 \times 10^3$	<1
11	$1.5 \times 10^4$	23	$1.5 \times 10^4$	23	213	<3	20	10
17	$4.6 \times 10^4$	40	$7.5 \times 10^3$	40	$2.0 \times 10^3$	<3	245	<1
23	$4.6 \times 10^5$	40	$1.5 \times 10^3$	<3	$3.4 \times 10^4$	<3	865	<1
30	$1.1 \times 10^5$	23	$2.4 \times 10^4$	23	$2.4 \times 10^4$	23	$3.0 \times 10^3$	<1
33	$4.6 \times 10^3$	43	$4.6 \times 10^3$	15	$1.5 \times 10^3$	<3	500	<1
40	$4.6 \times 10^6$	430	$9.3 \times 10^5$	430	$1.1 \times 10^6$	<3	$3.45 \times 10^4$	<1
47	$9.3 \times 10^3$	150	$9.3 \times 10^4$	150	$3.0 \times 10^3$	<3	110	<1
54	$1.1 \times 10^4$	43	$2.1 \times 10^3$	43	$1.3 \times 10^3$	<3	710	<1
61	$2.1 \times 10^4$	43	$2.8 \times 10^3$	43	$2.8 \times 10^3$	<3	$7.9 \times 10^3$	<1
68	$2.1 \times 10^3$	23	$2.8 \times 10^2$	23	280	<3	310	<1
75	$1.1 \times 10^3$	4	$1.5 \times 10^2$	4	93	<3	100	<1
82	$4.3 \times 10^4$	4	$7.5 \times 10^3$	4	$7.5 \times 10^3$	<3	$1.4 \times 10^9$	<1
89	$2.1 \times 10^4$	1	$9.3 \times 10^3$	<3	$3.5 \times 10^4$	<3	204	<1
96	$4.6 \times 10^4$	7	$2.4 \times 10^4$	4	$2.4 \times 10^4$	<3	40	<1
103	$1.1 \times 10^5$	4	$4.3 \times 10^3$	<3	$3.0 \times 10^3$	<3	110	<1
109	$1.1 \times 10^6$	4	$9.3 \times 10^4$	4	$1.1 \times 10^5$	<3	400	<1

Días	Coliformes totales (NMP/100mL)		Coliformes fecales (NMP/100mL)		<i>E. Coli</i> (NMP/100mL)		Enterococos fecales (NMP/100mL)	
	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente
115	$2.4 \times 10^5$	11	$9.3 \times 10^4$	4	$1.1 \times 10^5$	<3	190	<1
116	$1.1 \times 10^5$	7	$4.3 \times 10^4$	<3	$4.6 \times 10^4$	<3	62	<1
117	$2.1 \times 10^5$	10	$2.1 \times 10^5$	4	$2.1 \times 10^5$	4	40	<1
119	$4.6 \times 10^5$	43	$7.4 \times 10^4$	4	$7.5 \times 10^4$	<3	30	<1
154	$2.4 \times 10^4$	1	$2.1 \times 10^6$	<3	$2.1 \times 10^6$	<3	$2.4 \times 10^7$	3
158	$4.6 \times 10^6$	4	$2.4 \times 10^6$	4	$2.4 \times 10^6$	<3	$2.4 \times 10^3$	<1
160	$2.4 \times 10^5$	<3	$9.3 \times 10^4$	<3	$1.1 \times 10^6$	<3	$2.4 \times 10^3$	<1
165	$9.3 \times 10^5$	4	$9.3 \times 10^4$	<3	$1.1 \times 10^5$	<3	74	<1
167	$4.3 \times 10^4$	<3	$1.5 \times 10^4$	9	$1.5 \times 10^4$	<3	41	<1
171	$2.3 \times 10^4$	23	$3.9 \times 10^3$	<3	$3.9 \times 10^3$	<3	31	<1
173	$9.3 \times 10^5$	9	$2.0 \times 10^4$	9	$2.0 \times 10^4$	<3	562	9
179	$2.1 \times 10^6$	<3	$9.3 \times 10^5$	<3	$1.1 \times 10^6$	<3	$1.93 \times 10^3$	<1
180	$4.6 \times 10^6$	<3	$4.3 \times 10^3$	<3	$2.4 \times 10^5$	<3	560	<1
186	$4.3 \times 10^4$	4	$4.3 \times 10^4$	4	$4.6 \times 10^4$	<3	10	<1
188	$4.3 \times 10^4$	<3	$2.3 \times 10^4$	<3	$2.4 \times 10^4$	<3	52	<1
193	$1.1 \times 10^6$	<3	$2.4 \times 10^5$	<3	$1.1 \times 10^5$	<3	84	<1
195	$2.4 \times 10^6$	4	$1.5 \times 10^5$	<3	$2.4 \times 10^5$	<3	695	<1
200	$7.5 \times 10^5$	<3	$2.3 \times 10^4$	<3	$2.4 \times 10^4$	<3	213	<1
206	$1.1 \times 10^5$	<3	$2.4 \times 10^4$	<3	240	<3	$1.44 \times 10^3$	<1