



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

**REMOCIÓN DE FÁRMACOS REGULADORES DE LÍPIDOS
MEDIANTE BIORREACTORES CON MEMBRANAS SUMERGIDAS**

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

PRESENTA:
M.I.TANIA GUTIERREZ MACIAS

DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA, FACULTAD INGENIERÍA
DR. SIMÓN GONZÁLEZ MARTÍNEZ- INSTITUTO DE INGENIERÍA
DRA. BLANCA ELENA JIMÉNEZ CISNEROS- INSTITUTO DE INGENIERÍA

MÉXICO, D. F. MAYO DEL 2015

JURADO ASIGNADO:

Presidente: DR. SIMÓN GONZÁLEZ MARTÍNEZ
Secretario: DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA
Vocal: DR. GERMÁN CUEVAS RODRÍGUEZ
1 er. Suplente: DRA. FERNÁNDEZ VILLAGÓMEZ GEORGINA
2 d o. Suplente: DRA. JIMÉNEZ CISNEROS BLANCA ELENA

Lugar o lugares donde se realizó la tesis:

FACULTAD DE INGENIERÍA CAMPUS- MORELOS

TUTOR DE TESIS:

DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA

FIRMA

DEDICATORIA

*A mi amado esposo **Alberto** por su amor incondicional, sus enseñanzas, su apoyo y ayuda interminable. Por hacer que cada día de mi vida a su lado sea único, pero sobre todo por su paciencia para conmigo. Eres mi vida.*

*A mis padres **Cristina** y **Pedro**, por darme la vida, quererme mucho, creer en mí y nunca negarme su apoyo, y sobre todo por dame la educación necesaria para poder llegar hasta este lugar.*

*A mis hermanos: **Jared** por ayudarme y corregirme cuando es necesario; a mi **Kenya** que con sus ocurrencias siempre logra sacarme una sonrisa. Y a mi hermana **Liliana García** que no es de sangre pero sí de corazón, con la que viví y compartí estos años durante el doctorado con risas, lágrimas e intensos desafíos, sin ti mujercita no sería lo mismo.*

*A mi amigo **Norberto** que siempre ha sido como un hermano para mí y que pese a la distancia siempre está a mi lado.*

*A mi madre de profesión: Dra. **Petia Mijaylova** por su cariño y apoyo incondicional. Por creer en mí y ser un ejemplo de lealtad, disciplina e integridad. Por qué a lo largo de estos nueve años me ha visto crecer y me ha compartido sus conocimientos de manera desinteresada. Sin usted nada de esto sería posible.*

*A mi tía **Rosa**, porque cuando me encontraba cabizbaja siempre me brindó palabras de aliento haciendo que sacara lo mejor de mí.*

*A mi amigo y mentor **Edson Estrada** porque siempre que tenía dudas me ayudaste a resolverlas y no solo eso, sino también, por compartir tus experiencias y conocimientos conmigo.*

Lo que caracteriza a un hombre de ciencia no es la posesión del conocimiento o de verdades irrefutables, sino la búsqueda desinteresada e incesante de la verdad.

Karl Popper

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** y al **Instituto Mexicano de Tecnología del Agua** por permitirme el uso de sus instalaciones.

A **mi tutora** la Dra. Petia Mijaylova Nacheva por su apoyo incondicional y por buscar siempre sacar lo mejor de mí y enseñarme a no desistir.

A **todos los miembros de mi comité tutorial**: Dr. Simón González Martínez por siempre brindarme su apoyo y hacerme analizar las cosas de diferentes ángulos. A la Dra. Blanca Jiménez Cisneros por buscar mi mejora de manera continua. Y a los miembros de mi comité ampliado, la Dra. Georgina Fernández Villagómez y el Dr. German Cuevas Rodríguez por sus aportaciones para enriquecer esta investigación.

A **mis amigos** Diego C., Liliana G., Erika L., Liliana A., Roxana A., Jessica M. Edson E., Marco G., Alejandro R. y Serge, que durante esta etapa siempre me brindaron palabras de aliento y me hacían ver que todo es posible.

A **Ernesto Bahena** Jefe de la planta piloto, por brindarme su ayuda y apoyo en el laboratorio.

A **Manuel Sánchez** y **Luis Alberto González** por todo su apoyo en cromatografía.

A la **Ing. Cristina Araoz** y a **Olga Ma. Guzmán** porque pese a sus labores en el posgrado, siempre están dispuestas a apoyarnos, solucionar nuestras dudas y ayudarnos a buscar soluciones.

A mi equipo **CerónRunners** porque siempre exigen lo mejor de mi sabiendo que puedo darlo, por hacer del running una experiencia única, donde soy libre y el estrés queda atrás, pero sobre todo por la nueva familia que hemos formado.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	Problemática de los fármacos en las aguas residuales.....	2
1.2	Fármacos reguladores de lípidos.....	5
1.3	Tecnología de membranas.....	14
1.4	Remoción de fármacos mediante biorreactores con membranas.....	19
1.5	Técnicas analíticas para la determinación de fármacos reguladores de lípidos.....	23
2.	OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	27
3.	METODOLOGÍA.....	28
3.1	Implementación de la técnica analítica.....	28
3.2	Sistema experimental.....	29
3.3	Agua residual modelo.....	30
3.4	Presión crítica y subcrítica.....	30
3.5	Pruebas abióticas.....	31
3.6	Arranque y condiciones de operación del sistema.....	32
3.7	Muestreo del sistema y métodos de análisis.....	32
3.8	Determinación del coeficiente de adsorción K_d en el lodo activado.....	34
3.9	Determinación de la cinética de remoción en reactores discontinuos.....	35
3.10	Balances de masa.....	36
4.	RESULTADOS.....	39
4.1	Método analítico.....	39
4.2	Determinación de las presiones críticas y subcríticas.....	44
4.3	Pruebas abióticas.....	45
4.4	Desempeño de los reactores en la remoción de materia orgánica.....	48
4.5	Remoción de ACL y GFZ con los diferentes parámetros de operación.....	52
4.6	Seguimiento del nitrógeno en el sistema.....	63
4.7	Determinación del coeficiente de adsorción K_d	68
4.8	Cinéticas de remoción.....	73
4.9	Determinación de los coeficientes cinéticos.....	79
5.	CONCLUSIONES.....	82
6.	REFERENCIAS.....	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Fármacos detectados en agua residual, información de 134 artículos publicados de 1997 al 2009 (Santos <i>et al.</i> , 2010).	4
Figura 1.2 Operación de las membranas.	14
Figura 1.3 Correlación de las propiedades de las membranas con los rangos de separación (HidroWater, 2010).	15
Figura 1.4 Operación del sistema BRM a) membrana sumergida; b) membrana externa...	17
Figura 3.1 Diagrama del sistema experimental.	30
Figura 3.2 Balance de masa en el BRM.	36
Figura 4.1 Ion precursor m/z del ACL y GFZ.	39
Figura 4.2 Cromatograma del ACL utilizando ambos derivatizantes.	40
Figura 4.3 Cromatograma del GFZ utilizando ambos derivatizantes.	40
Figura 4.4 Optimización de los tiempos de detección del ACL y GFZ.	42
Figura 4.5 Extracción en fase sólida de las muestras	43
Figura 4.6 Comportamiento de la PTM con agua desionizada.	44
Figura 4.7 Comportamiento de la PTM con agua residual.	44
Figura 4.8 Concentración de fármacos a través del tiempo durante las pruebas abióticas.	45
Figura 4.9 Concentración de fármacos a través del tiempo con nutrientes y oligoelementos	46
Figura 4.10 Comparación de concentración en agua desionizada y con oligo-elementos	47
Figura 4.11 F/M y remoción DQO durante la experimentación del sistema en R1	49
Figura 4.12 F/M y remoción DQO durante la experimentación del sistema en R2	51
Figura 4.13 Tasa de remoción durante las diferentes cargas orgánicas aplicadas en R1 y R2	51
Figura 4.14 Remoción de ACL y GFZ en R1	52
Figura 4.15 Remoción de ACL y GFZ en el R2.	53
Figura 4.16 Promedio de la remoción del GFZ y ACL con respecto a F/M	55
Figura 4.17 Promedio de la remoción del GFZ y ACL con respecto al TRC	55
Figura 4.18 Concentración en R1 de ACL y GFZ en la biomasa.	57
Figura 4.19 Concentración en R2 de ACL y GFZ en la biomasa.	57
Figura 4.20 Remoción del ACL en R1 por diferentes mecanismos	58
Figura 4.21 Remoción del ACL en R2 por diferentes mecanismos	60
Figura 4.22 Remoción del GFZ en R1 por diferentes mecanismos	60
Figura 4.23 Remoción del GFZ en R2 por diferentes mecanismos	61
Figura 4.24 Mecanismos de remoción de ACL con respecto al TRC	62
Figura 4.25 Mecanismos de remoción de GFZ con respecto al TRC	62
Figura 4.26 Seguimiento del nitrógeno en R1 durante la operación del sistema	64
Figura 4.27 Seguimiento del nitrógeno en R2 durante la operación del sistema	64
Figura 4.28 Tasa de remoción del ACL	67
Figura 4.29 Tasa de remoción del GFZ.	68
Figura 4.30 Concentración de ACL a través del tiempo en el equilibrio	69
Figura 4.31 Concentración de GFZ a través del tiempo hasta el equilibrio	69
Figura 4.32 Determinación de Kd y n del ACL	71
Figura 4.33 Determinación de Kd y n del GFZ.	72
Figura 4.34 Concentración del ACL a través del tiempo	74

Figura 4.35 Concentración de GFZ a través del tiempo durante las cinéticas de remoción	74
Figura 4.36 Remoción del ACL y GFZ durante las cinéticas de degradación	75
Figura 4.37 Modelos cinéticos de orden cero.....	76
Figura 4.38 Modelos cinéticos de primer y pseudo primer orden	76
Figura 4.39 Modelo cinético de Monod y pseudo primer orden con K_d	77
Figura 4.40 Concentración y remoción de DQO durante las cinéticas de remoción.....	78
Figura 4.41 Comportamiento de compuestos nitrogenados durante las cinéticas de remoción	79
Figura 4.42 Determinación de los coeficientes cinéticos k y K_s	81
Figura 4.43 Determinación de los coeficientes cinéticos Y y kd	81

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 3.1	34
Ecuación 3.2	34
Ecuación 3.3	35
Ecuación 3.4	35
Ecuación 3.5	35
Ecuación 3.6	38
Ecuación 3.7	38
Ecuación 3.8	38
Ecuación 4.1	63
Ecuación 4.2	79
Ecuación 4.3	79
Ecuación 4.4	80
Ecuación 4.5	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Características físico-químicas de los fármacos reguladores de lípidos.	6
Tabla 1.2 Concentración de ACL, GFZ y BZF en Europa y Asia	7
Tabla 1.3 Concentraciones de ACL y GFZ en PTAR municipales.....	9
Tabla 1.4 Toxicidad del ACL y GFZ sobre diferentes especies.....	11
Tabla 1.5 Efecto y concentraciones reportadas en organismos del ACL y GFZ.	12
Tabla 1.6 Características de los diferentes tipos de membranas.	16
Tabla 3.1 Composición del agua residual sintética.	31
Tabla 3.2 Pruebas abióticas en cada reactor.	31
Tabla 3.3 Condiciones de operación del sistema durante la experimentación.	32
Tabla 3.4 Monitoreo del sistema	33
Tabla 3.5 Técnicas utilizadas para el control del sistema.....	33
Tabla 3.6 Parámetros de operación cinéticas de remoción en reactores discontinuos	35
Tabla 3.7 Especificación de las variables utilizadas en el balance de masa del sistema BRM.	37
Tabla 4.1 Condiciones cromatográficas para la detección del ACL y GFZ.....	41
Tabla 4.2. LD, LC y % recuperación (para $n=4$) en la fase líquida.....	42
Tabla 4.3 LD, LQ y % recuperación (para $n=4$) en la fase sólida	43
Tabla 4.4 Resumen de los resultados de las pruebas abióticas.....	45
Tabla 4.5 Resumen de los resultados de las pruebas abióticas con oligo-elementos	47
Tabla 4.6 Concentración de los influentes a diferentes tiempos de análisis.....	48
Tabla 4.7 F/M y remoción de DQO promedio en los diferentes periodos de operación.....	50
Tabla 4.8 Promedio de la remoción del ACL y GFZ por fase en los diferentes reactores ...	54
Tabla 4.9 Flujo másico y remociones del ACL y GFZ	59
Tabla 4.10 Concentración promedio del nitrógeno en las diferentes fases de operación.....	65
Tabla 4.11 Balance de nitrógeno durante las diferentes fases experimentales.....	66
Tabla 4.12 Comparación de nitrificación de la biomasa y tasa de nitratos	67
Tabla 4.13 Valores tabulados para la determinación de K_d	70
Tabla 4.14 Valores determinados para K_d y n para el ACL y GFZ.....	71
Tabla 4.15 Valores de K_d reportados por otros autores.....	73
Tabla 4.16 Velocidades obtenidas con las diferentes cinéticas aplicadas	77
Tabla 4.17 Coeficientes cinéticos	81

LISTA DE ABREVIATURAS

ACL	Ácido Clofbrico
APHA	Standar Methods For Examination of Water and Wastewater
AMO	Amonio monooxigensa
BRM	Biorreactores con membrana
BZF	Bezafibrato
CE	Contaminantes emergentes
DQO	Demanda química de oxígeno
EFS	Extracción en fase sólida
EPA	Agencia de Protección Ambiental
F/M	Carga orgánica: relación alimento/microorganismos
GC-MS	Cromatografía de gases y espectrometría de masas
GFZ	Gemfibrozil
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
HDL	Lipoproteína de alta densidad
LCM	Límite de cuantificación
LDM	Límite de detección
MF	Microfiltración
MTBSTFA	N-(t-butildimetilsilil)-N-metiltrifluoroacetamida
MTSDM	Trimetilsilil diazometano
NF	Nanofiltración
NTK	Nitrógeno Total Kjeldahl
OD	Oxígeno disuelto
PM	Peso molecular
PTAR	Planta de tratamiento de aguas residuales
PTM	Presión transmembrana
RPM	Revoluciones por minuto
SPE	Sustancias poliméricas extracelulares
SSTLM	Sólidos suspendidos totales en el licor mezclado
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
TRC	Tiempo de retención celular
TRH	Tiempo de residencia hidráulica
TMSCl.	Trimetilsililclorano
UE	Unión Europea
UF	Ultrafiltración
X	Concentración de la biomasa

RESUMEN

En la actualidad el uso de biorreactores de membrana sumergida (BRM) han llamado la atención para el tratamiento de aguas residuales municipales, especialmente por la alta concentración de biomasa y altos tiempos de retención de lodos que se pueden obtener en ellos favoreciendo la biodegradación de contaminantes orgánicos y obteniendo sistemas de tratamiento de alta tasa. La creciente preocupación por la posible acumulación de microcontaminantes fármacos en el medio ambiente acuático hace que se lleven a cabo investigaciones sobre su degradación o destino en sistemas de tratamiento de aguas residuales.

Esta investigación estuvo enfocada en la determinación de los principales mecanismos de remoción de dos fármacos reguladores de lípidos ACL y GFZ en aguas sintéticas tratadas mediante un sistema constituido por dos biorreactores con membranas sumergidas a escala piloto. Las concentraciones de los fármacos en los influentes, permeados y en el licor mezclado fueron determinadas mediante el desarrollo de un método analítico por cromatografía de gases. Además se establecieron cuáles son los principales parámetros de operación y los procesos que integran el mecanismo de remoción de los fármacos

Los biorreactores R1 y R2 operaron durante 390 días divididos en tres diferentes fases experimentales en las cuales trabajó con diferentes cargas orgánicas (F/M) de 0.43, 0.48 y 0.77 $\text{kgDQO}\cdot\text{kgSSTLM}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ y 0.21, 0.26, 0.34 $\text{kgDQO}\cdot\text{kgSSTLM}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ para cada uno respectivamente. Parámetros como tiempo de retención celular (TRC), sólidos suspendidos totales en el licor de mezcla y tiempo de retención hidráulico también se variaron en cada fase. Las concentraciones de los fármacos en el agua sintética fue de 0.4 y 0.8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de ACL y GFZ respectivamente.

Como resultado se observó que el mecanismo de remoción de los fármacos ACL y GFZ fue la biodegradación y adsorción simultánea, siendo la biodegradación la principal vía de remoción tanto para GFZ (93-100%) como para el ACL (60-79%). Los altos TRC utilizados en esa investigación y la nitrificación obtenida por la presencia de la enzima amonio monooxigenasa favorecieron la remoción de estos fármacos

La persistencia del ACL fue mayor en comparación al GFZ logrando una máxima remoción de 79% la cual fue favorecida al aumentar el tiempo de retención hidráulico a 10 h, F/M a 0.34 $\text{kgDQO}\cdot\text{kgSSTLM}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ y con una retención celular mayor a 20 d. La remoción del GFZ no se observó afectada por el tiempo de retención hidráulico. La mayor remoción fue al utilizar TRC mayores a 10 d proporcionando remociones de 98 a 100%.

Palabras clave: Biorreactores con membrana, mecanismos de remoción, reguladores de lípidos.

ABSTRACT

Membrane bioreactors (MBRs) for the treatment of municipal wastewater have currently called serious attention, especially because of the high biomass concentrations and longtime sludge retention, which enhance the biodegradation of organic pollutants, resulting in high rate treatment systems.. The increasing concern about the potential accumulation of micro-pollutants such as pharmaceuticals, in the aquatic environment has triggered several researches about their biological degradation or fate in wastewater treatment systems.

The aim of this investigation was to determinate the main mechanisms of removal for both blood lipid pharmaceutical compounds CLA and GFZ in synthetical wastewater by the use of two pilot scale submerged membrane bioreactors systems. The influent, permeated and mixed liquor concentrations were determined by the development of a gas chromatographic analytical method. Furthermore the main mechanism of removal and operating parameters were settled

The bioreactors R1 and R2 operated for 390 days divided in three different experimental phases with different organic loads (F/M) of 0.43, 0.48 and 0.77 $\text{kgCOD}\cdot\text{kgTSSML}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ for R1 and 0.21, 0.26, 0.34 $\text{kgCOD}\cdot\text{kgTSSML}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ for R2. Cellular retention time (CRT), total suspended solids in the mixed liquor and hydraulic retention time were also varied in each phase. The synthetic water was fortified with 0.4 and 0.8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of ACL and GFZ respectively.

As a result it was observed that the mechanisms of removal of pharmaceutical compounds (ACL Y GFZ) were biodegradation and simultaneous adsorption, while biodegradation was the main route of removing for both GFZ (93-100%) and ACL (60-79%). The high CRT used in this research enhance the removal of both pharmaceutical compounds. The presence of ammonia monooxygenase enzyme in the nitrification process also contributed the removal.

CLA was more persistent than GFZ achieving removals up to 79% favored by the increase of hydraulic retention time to 10 h, F/M at 0.34 $\text{kgCOD}\cdot\text{kgTSSLM}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ and greater CRT than 20 d. GFZ removal was not affected by the hydraulic retention time and the highest removal of GFZ obtained was 98 to 100% and it was achieved with CRT higher than 10 d .

Keywords: Membrane bioreactor, removal mechanism, lipid regulator.

1. INTRODUCCIÓN

Durante décadas la comunidad científica ha realizado estudios de diversos contaminantes químicos cuya presencia en el ambiente está regulada por distintas legislaciones (Pressman *et al.*, 2004; Xia *et al.*, 2005; Bandala *et al.*, 2006; Mattson, 2007; Becker *et al.*, 2008). Sin embargo, el desarrollo de nuevos métodos de análisis más sensibles ha permitido alertar la presencia de otros contaminantes potencialmente peligrosos, denominados globalmente como “emergentes”. La agencia de protección ambiental de Estados Unidos de América (US-EPA) se refiere a los contaminantes emergentes (CE) como materiales o productos químicos relativamente nuevos, de los cuales no se tienen un amplio conocimiento de su impacto y a su vez, se carece de una normativa que los regule. Su principal característica es ser una amenaza para la salud humana y para el ambiente (EPA, 2008).

La lista de contaminantes emergentes incluye una amplia variedad de productos de uso diario y con aplicaciones tanto industriales como domésticas. Dentro de ellos se encuentran los compuestos bromados retardantes de llama, parafinas cloradas, plaguicidas polares, metabolitos, fármacos y compuestos perfluorados.

Para la mayoría de los contaminantes emergentes, su presencia, evaluación de riesgos, y datos ecotoxicológicos no están disponibles, y por lo tanto es difícil predecir los efectos a la salud que pueden presentarse en los seres humanos y organismos acuáticos. Actualmente se han diseñado numerosos estudios de campo con el objeto de proporcionar información científica básica relacionada con la presencia y el transporte potencial de clases específicas de CE en el medio ambiente, así como también para identificar las fuentes y los puntos de entrada para poder cuantificar y determinar sus concentraciones tanto en aguas residuales municipales como industriales (Barceló y Petrovick, 2006).

Como consecuencia de un alto consumo de fármacos y a sus elevadas tasas de excreción, la presencia de productos farmacológicamente activos en las aguas residuales se ha demostrado (Ternes, 2001; Soliman *et al.*, 2004; Lajeunesse y Gagnon, 2007) y ha llamado la atención de la comunidad científica por los posibles efectos en el ambiente y su baja biodegradabilidad (Kanda *et al.*, 2003; Perez y Barceló, 2007; Sumpter, 2007; Muñoz *et al.*, 2008; Parrott y Bennie, 2009; Salgado *et al.*, 2012).

Los fármacos pueden estar presentes (en el ambiente) como: metabolito principal, conjugados de glucurónidos, o mezcla de metabolitos con o sin cambios (Coimbra *et al.*, 2015). En las plantas de tratamiento de agua residual convencional (PTAR) las concentraciones pueden presentar variaciones estacionales, semanales e incluso diurnas contribuyendo de esta manera al incremento de su concentración donde pueden ser nula o parcialmente removidos (Schröder, 2002; Petrovic *et al.*, 2003; Joss *et al.*, 2004; Miao *et al.*, 2004; Paxeus, 2004; Poseidon, 2004; Strenn *et al.*, 2004; Clara *et al.*, 2005b; Bellido, 2006; Pomati *et al.*, 2006; Antonić y Heath, 2007; Diedrich, 2007; Flores *et al.*, 2008; Plósz *et al.*, 2010; Camacho-Muñoz *et al.*, 2014; Yunlong *et al.*, 2014).

1.1 Problemática de los fármacos en las aguas residuales

Estudios revelan que en el agua residual se han encontrado fármacos de distinta composición, según el país y el consumo (Poblete, 2007). Actualmente la venta de fármacos se ha incrementado en todo el mundo en un 25% (European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations, 2003; Robinson *et al.*, 2007), tal es el caso de E.U.A, donde se producen grandes cantidades de fármacos y drogas, tanto recetadas y no recetadas; aproximadamente el consumo humano de antibióticos en este país es de 11,000,000 kg cada año (Soliman *et al.*, 2004).

La Unión Europea (UE) tiene registrados más de 3,000 fármacos que al ser excretados pueden provocar posibles efectos a nivel ambiental, resistencia bacteriana, genotoxicidad que en algunos casos puede llegar a dañar al ser humano (Robinson *et al.*, 2007; Sumpter, 2007; Muñoz *et al.*, 2008; Petrovic *et al.*, 2008). Larson (2009) menciona que el impacto de las aguas residuales de las empresas farmacéuticas en países desarrollados no está todavía claro, sin embargo, Associated Press (2009) informa que datos no publicados del Servicio Geológico de E.U.A. y la EPA muestran que las plantas de E.U.A emiten altas concentraciones de productos farmacéuticos (Dallas, Orlando y Phenix), esto debido a que liberan cantidades mucho más altas en el medio ambiente cercanas a las generadas por la población de una comunidad.

Yunlong *et al.* (2014), y un grupo de investigadores (Ternes, 2001; Hirsch *et al.*, 1999; Huschek *et al.*, 2004; Jemba, 2006) clasificaron a los productos farmacéuticos comúnmente encontrados en las aguas residuales de acuerdo a su tasa de excreción en:

- Baja excreción (5%): Aspirina, carbamezapina, gemfibrozil (GFZ) e ibuprofeno.
- Moderado: (3-39%): Diclofenaco, metropol, primidona y sulfametoxazol.
- Relativamente alto: (40-69%): Bezafibrato (BZF), trimetoprima, norfloxacino.
- Alto (70%): Amoxicilina, ciproflaxino, tetraciclina.

Se puede observar que los fármacos de baja tasa no necesariamente están presentes en niveles bajos en las aguas residuales. Esto es posiblemente debido a que las bajas tasas de excreción se compensan por su uso masivo, además las enfermedades comunes de cada localidad pueden inducir a un mayor consumo de fármacos específicos durante ciertos periodos.

Las condiciones climáticas son un factor importante para causar fluctuaciones en la entrada de los microcontaminantes (Kolpin *et al.*, 2004). El uso de pesticidas puede ser estacional debido a la prevalencia de plagas en diferentes condiciones climáticas. Otro factor importante es la lluvia, ya que afecta al influente en las aguas residuales cuando se utiliza en combinación con sistemas de alcantarillado. Las condiciones climáticas, como la temperatura y el nivel de la luz del sol también pueden afectar las descargas de microcontaminantes en las PTAR (Kasprzyk *et al.*, 2009).

Las PTAR están diseñadas para controlar una amplia gama de sustancias, como partículas, sustancias carbonosas, nutrientes y patógenas. Cuando estas sustancias son eficientemente removidas o eliminadas, la eliminación de microcontaminantes es a menudo insuficiente. Por lo tanto, la evaluación de la remoción y destino de los microcontaminantes durante el proceso de tratamiento es imprescindible para la optimización de los procesos y evitar de esta manera la liberación de microcontaminantes potencialmente dañinos.

Los efectos potencialmente acumulativos de los fármacos en el agua residual (a mediano o largo plazo) pueden ocasionar daños en el medio ambiente y en el hombre causando procesos psicológicos anormales, debilitación reproductiva (USA Department of Health and Human Services, 1998; EMEA, 2006; Youglong *et al.*, 2014), efectos crónicos e incluso toxicidad (Verenitch *et al.*, 2006; Radjenovic *et al.*, 2007a; Galus *et al.*, 2013; Coimbra *et al.*, 2015), además de crear una proliferación de microorganismos resistentes a los fármacos.

La persistencia de los fármacos en el medio ambiente es desde más de un año (fármacos como la eritromicina, ciclosfamida, naproxeno y sulfametoxazol) hasta varios años para el ácido clofíbrico (ACL). En estudios de suelo (en los primeros 10 cm) se han encontrado fármacos como: ibuprofeno, naproxeno, triclosan y bisfenol, y a profundidades de 30 cm se ha encontrado ACL y estrona (Xu *et al.*, 2009). También se han encontrado fármacos en sedimentos de ríos (Antonic y Heath., 2007) y en residuos y suelos agrícolas (Siemens *et al.*, 2010; Cháves *et al.*, 2011; Tamtam *et al.*, 2011; Zhanguang *et al.*, 2013).

México no es la excepción, en estudios de suelo en el Valle del Mezquital se ha reportado la de acumulación de fármacos y productos del cuidado personal (Jiménez y Chávez 2004; Siemens *et al.*, 2010). Gibson *et al.* (2010) y Durán-Álvarez *et al.* (2012) reportaron una acumulación de bisfenol-A, triclosan y carbamezapina en sedimentos tomados de diversos puntos a lo largo del Valle del Mezquital. Dalkmann *et al.* (2012) reportaron la acumulación de productos farmacéuticos en su artículo de cero a 100 años en el centro de México y concluyen que el riego de los suelos con aguas residuales no tratadas en el Valle del Mezquital que se realiza desde hace varias décadas dando como resultado una acumulación de sulfametoxazol, ciprofloxacina, y carbamezapina, sin embargo, durante los últimos 19 a 28 años se alcanzó un límite superior el cual es reflejo de las condiciones entre la entrada y la disipación de los fármacos así como también por la emisión de las aguas residuales durante largos periodos de tiempo, reportándose concentraciones de ciproflaxina de $1.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ en el suelo. Además de reportarse contaminación fecal (Chávez *et al.*, 2011; Durán-Álvarez *et al.*, 2012; Jiménez- Cisneros., 2014).

En los últimos 12 años se han reportado que los fármacos más prevalecientes en las aguas residuales en el mundo son los anti-inflamatorios en un 16%, antibióticos en un 15% y reguladores de lípidos en un 12% (Figura 1.1). En algunos casos su prevalencia en el ambiente puede atribuirse a su persistencia y baja biodegradabilidad.

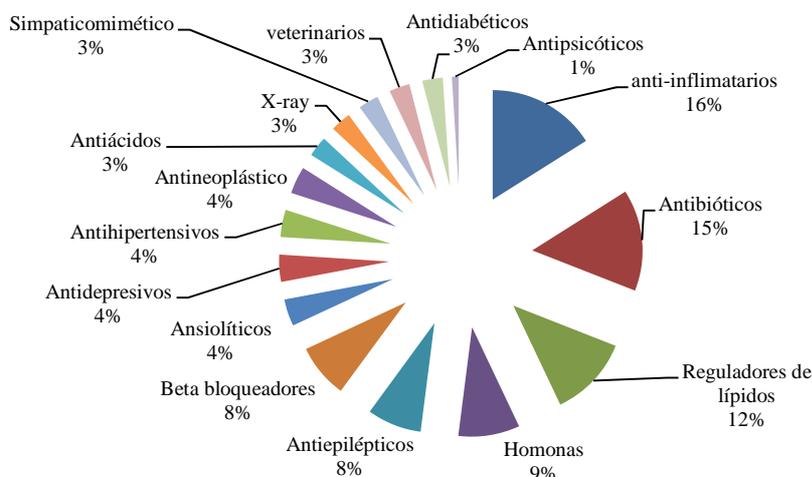


Figura 1.1 Fármacos detectados en agua residual, información de 134 artículos publicados de 1997 al 2009 (Santos *et al.*, 2010).

Una manera integral para evaluar los efectos de toxicidad al que son objeto los organismos, debe incluir el desarrollo de pruebas específicas que abarca tanto los efectos agudos (donde las tasas de mortalidad se registran frecuentemente), como los efectos crónicos (a través de la exposición a diferentes concentraciones de un compuesto químico durante un período prolongado de tiempo). En este último caso, los efectos se miden a través de parámetros específicos, tales como el índice de crecimiento o las tasas de reproducción. Desafortunadamente, los estudios sobre los efectos agudos en los organismos pertenecientes a diferentes niveles tróficos (algas, zooplancton y otros invertebrados y peces) predominan relativamente a los de toxicidad crónica.

Las pruebas de toxicidad crónica y de bioacumulación son escasas, probablemente debido a la compleja experimentación que este trabajo implica. Sin embargo, el desarrollo de nuevos y sensibles métodos para la identificación y cuantificación de los medicamentos presentes en el ambiente ha ido evolucionando con el tiempo, permitiendo conocer sus posibles daños y efectos sobre la flora y fauna. Se ha reportado que los fármacos pueden generar toxicidad a niveles específicos en organismos acuáticos, tales como algas, moluscos, crustáceos y peces (Smital, 2008; Sovadinová *et al.*, 2014). Se ha observado que el triclosan causa toxicidad en el crecimiento de las algas (Orvos *et al.*, 2002), la carbamezapina ha mostrado toxicidad aguda en algas, invertebrados y peces (Ferrari *et al.*, 2003), y en conjunto con el ibuprofeno y ACL se han encontrado efectos sinérgicos en algas (Cleuvers, 2003). Algunos fármacos son clasificados por algunos autores como disruptores endocrinos (Deborde y Gunten, 2008; Benotti *et al.*, 2009; Comerton *et al.*, 2009; Saravanan *et al.*, 2014; Yunlong *et al.*, 2014).

Las aguas superficiales y las aguas subterráneas son actualmente la mayor fuente de producción de agua potable en todo el mundo, sin embargo estudios han revelado recientemente la presencia de fármacos en ellas, tal es el caso de países como Alemania,

Italia, USA, Canadá, algunos de los fármacos mencionados son: ACL ($270 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$), BZF ($27 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$), GFZ ($70 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$), carbamezapina ($258 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$), diclofenaco ($6 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$), penazona ($400 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$), provocando un alta preocupación al presentarse en agua potable en países del primer mundo (Drewes *et al.*, 2003; Quintana y Reemtsma, 2004; Yi Hua *et al.*, 2006; Farre *et al.*, 2007; Gross *et al.*, 2007; Zwiener, 2007; Xu *et al.*, 2008).

Debido a que se ha demostrado la presencia de fármacos en el organismo de los peces la EPA ha decidido apoyar algunas investigaciones orientadas a la búsqueda de estos compuestos en el ambiente con la finalidad de conocer sus posibles efectos y determinar si las concentraciones reportadas son significativas para la salud humana (Lehrer, 2009; Schmidt *et al.*, 2012; Galus *et al.*, 2013; Coimbra *et al.*, 2015). En Suiza se detectó que el sistema inmunológico de los peces se debilita debido a las concentraciones de diclofenaco presentes en las aguas superficiales, además de presentar daños fisiológicos al estar expuestos a los fibratos (Observatorio DKV salud y medio ambiente en España, 2008). En Canadá se reportó una disminución significativa en la producción de embriones del pez Zebra al estar expuesto por 6 semanas en agua residual más una mezcla de fármacos de acetaminofen, carbamazepina, GFZ y venlafaxina (Galus *et al.*, 2013). Los efectos tóxicos, agudos y crónicos en truchas, carpas hindúes *Cirrhinus mrigala* han sido reportados (Prindiville *et al.*, 2011; Magdeburg *et al.*, 2014; Saravanan *et al.*, 2014).

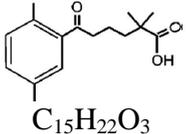
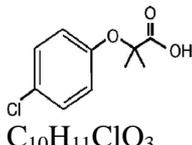
1.2 Fármacos reguladores de lípidos

Los clofibratos han sido utilizados desde 1962 como drogas antilipidemicas, posteriormente fueron desarrollados el GFZ, BZF y fenofibrato (Cortancans *et al.*, 2005; Sampayo *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2008; Sui *et al.*, 2010; Behera *et al.*, 2011; Prindiville *et al.*, 2011). Los fibratos y sus derivados (clofibrato) son fármacos que se utilizan para el tratamiento de la hipertrigliceridemia, la prevención de arterosclerosis (Krakoff *et al.*, 2000; Sampayo *et al.*, 2006; Sovadinová *et al.*, 2014) y para reducir los niveles de triglicéridos (Flores *et al.*, 2008; Csay *et al.*, 2014).

En México, la hipertrigliceridemia es la dislipidemia más común (Aguilar *et al.*, 2005) y está asociada con la diabetes tipo 2 ya que el 74% de los casos tiene triglicéridos sanguíneos por arriba de $150 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$. Para prevenir y controlar esta enfermedad se utilizan los fármacos reguladores de lípidos, también son considerados como CE (Yunlong *et al.*, 2014).

En la Tabla 1.1 se muestran algunas características físico-químicas de estos fármacos como, su peso molecular (PM), la constante de disociación (pKa) donde se observa que la disociación de las molécula se da a pH ácido, el coeficiente de partición octanol-agua ($\text{Log}K_{ow}$) el cual cuantifica la tendencia relativa de un compuesto para separarse entre una fase orgánica y una acuosa y se puede observar que los compuestos en estudio son hidrofílicos por consiguiente tienden a tener alta solubilidad en agua y la constante de la ley de Henry (k_H) la cual indica la volatilización de los compuestos, en el caso del ACL y el GFZ se puede observar que no son volátiles.

Tabla 1.1 Características físico-químicas de los fármacos reguladores de lípidos.

FÁRMACO	ESTRUCTURA MOLECULAR	PM, g·mol ⁻¹	pKa ^b	LogK _{OW} ^a	k _H ^a , atm·m ³ ·mol ⁻¹
GFZ	 C ₁₅ H ₂₂ O ₃	250.33	4.8	4.77	1.19E-008
ACL	 C ₁₀ H ₁₁ ClO ₃	214.65	3.2	2.88	2.19E-008

^a Ramos, 2009; ^b Rosal *et al.*, 2009.

La presencia de los fármacos reguladores de lípidos no se limita a detectarse solo en aguas residuales, ya que también se ha demostrado su presencia en el mar, ríos y diversas corrientes de agua. En Río de Janeiro las concentraciones reportadas son de 40 ng·L⁻¹ de ácido fenofíbrico en corrientes naturales (Stumpf *et al.*, 1999). En la Tabla 1.2 se presentan concentraciones reportadas en diversas investigaciones de los fármacos reguladores de lípidos en diferentes sitios y países del mundo.

Estudios sobre la remoción de fármacos en plantas de tratamiento de aguas residuales han revelado que las remociones varían según los procesos que se utilicen, así como según las condiciones de operación, tales como carga orgánica (F/M), tiempo de residencia hidráulica (TRH), concentración de la biomasa (X), tiempo de retención celular (TRC) (Radjenovic *et al.*, 2007a; Yunlong *et al.*, 2014). En la Tabla 1.3 se muestran concentraciones de fármacos reguladores de lípidos, determinadas por diferentes autores, tanto en el influente, como en el efluente de diferentes plantas de tratamiento de aguas residuales.

El ACL es catalogado como un fármaco persistente en las aguas residuales (Buser *et al.*, 1998), prueba de ello es un estudio realizado por Haseborg y Frimmel (2007) en Alemania, utilizando reactores con biomasa suspendida para el tratamiento de agua residual industrial y como resultado observaron la no degradación del ACL. Autores como Wang *et al.* (2008), mencionan que los metabolitos de fármacos como el ACL son tóxicos y responsables de bajo crecimiento microbiano ya que inhibe sus actividades metabólicas.

En Italia se llevó a cabo un estudio en 6 diferentes plantas de tratamiento de agua residual con el fin de identificar y cuantificar los fármacos más prevalentes, así como su remoción. Los fármacos más destacados fueron: anti-inflamatorios, cardiovasculares y reguladores de lípidos, tales como el BZF y ACL. Las remociones de estos últimos fueron de 66 % y 30 % respectivamente (Castiglioni *et al.*, 2006).

Tabla 1.2 Concentración de ACL, GFZ y BZF en Europa y Asia

FÁRMACO	CONCENTRACIÓN, ng·L ⁻¹	LUGAR	REFERENCIA
ACL y GFZ	600	Río Ebro	Segarra, 2006
ACL	250	El río Llobregat	Barceló y López, 2007
ACL	101	Río Taff	Kasprzyk <i>et al.</i> , 2008
BZF	60		
BZF	425-1,500	Río Tone	Nakada <i>et al.</i> , 2007
ACL	1	Mar del Norte	Weigel <i>et al.</i> , 2002
GFZ	65	Río Tíber	Grenni <i>et al.</i> , 2013
GFZ	750-1500	En aguas superficiales	Sanderson <i>et al.</i> , 2003
	41		Spongberg <i>et al.</i> , 2011
	1.9-3.5		Lin <i>et al.</i> , 2011
GFZ	190- 790	Cuerpos de irrigación	Pedersen <i>et al.</i> , 2005
	160 – 360	Corrientes de agua	
ACL	270	Aguas superficiales subterráneas	Zwiener, 2007; Yi Hua <i>et al.</i> , 2006; Quintana y Reemtsma, 2004
BZF	27		
GFZ	70		
GFZ	165	Aguas subterráneas	Postigo <i>et al.</i> , 2010
	12-574		Teijon <i>et al.</i> , 2010
	100,000		Köck <i>et al.</i> , 2010 y 2013
	9-10		Félix-Cañedo <i>et al.</i> , 2013

Félix-Cañedo *et al.* (2013) reportaron la presencia de fármacos en importantes cuerpos de agua que abastecen a la ciudad de México. Para observar la dimensión de la problemática es necesario saber que la zona metropolitana de la Ciudad es abastecida de agua para consumo humano de dos diferentes fuentes: aguas subterráneas y agua superficial. El acuífero local es la principal fuente de agua, suministrando un 66% de la demanda total; adicionalmente, un río local ofrece un 1%. El resto proviene de otras cuencas como el acuífero del Lerma (en un 8%) localizado a 60km del oeste de la ciudad; y el otro 33% proviene de un grupo de presas conocido como Cutzamala, (154 km al oeste y 1.100 m por debajo de la ciudad de México). El Sistema Cutzamala, es uno de los mayores proyectos de abastecimiento de agua en América Latina, está compuesto de siete embalses y una planta de tratamiento de agua potable de una capacidad de $20 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (Jiménez-Cisneros, B., 1995).

El agua de la Ciudad de México tanto en el interior de la cuenca como del sistema Cutzamala pueden ser inyectados directamente en la red de distribución de agua o bien mezclarlos en tanques de almacenamiento previo a su distribución. Dependiendo de la calidad del agua bruta.

Conociendo el sistema de distribución de agua potable de la ciudad y sus dimensiones, se tomaron muestras de agua de fuentes superficiales y subterráneas durante época de lluvia (mayo-agosto 2008) y época sequía (enero-junio de 2009), monitoreando un total de 7 pozos, 4 represas y 15 tanques de almacenamiento. Como resultado no se reportaron concentraciones de ACL en aguas subterráneas y superficiales, sin embargo esto no ocurrió en los tanques de almacenamiento y se reportaron concentraciones de 1-9 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$. Con respecto al GFZ se reportó su presencia en aguas superficiales y en los tanques de almacenamiento en concentraciones entre 4-10 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ para ambos puntos, pero aún sigue siendo difícil estimar los posibles efectos tóxicos causados por la ingesta de microcontaminantes orgánicos como el ACL y GFZ.

En otro estudio realizado en México por Siemens *et al.* (2008) reportó concentraciones de GFZ y BZF entre 20-220 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ y de 80-100 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ respectivamente, en muestras de agua residual municipal provenientes del Valle del Mezquital. Se puede observar que las concentraciones son menores en comparación con los resultados de los estudios en ciudades europeas (Carballa *et al.*, 2005).

Para evaluar el riesgo tóxico que existe al tener la presencia de fármacos en el ambiente es necesario el desarrollo de procedimientos y planeamiento de nuevas regulaciones (U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, 1998; EMEA, 2001; Gorman, 2001; Ferrari *et al.*, 2004).

El análisis químico tradicional permite identificar y cuantificar los contaminantes presentes pero no ofrece suficiente información de su toxicidad. Algunos de los métodos utilizados para determinar la toxicidad se realizan en algas, peces, bacterias, células de embriones entre otros (Pomati *et al.*, 2006; Corcoran *et al.*, 2015).

Tabla 1.3 Concentraciones de ACL y GFZ en PTAR municipales

FÁRMACO	INFLUENTE, ng·L ⁻¹	EFLUENTE, ng·L ⁻¹	REFERENCIA
GFZ	453-965	-	Lishman <i>et al.</i> , 2006
	nd-360	-	Gross <i>et al.</i> , 2006
	-	1	Metcalf <i>et al.</i> , 2003a, b
	-	4,760	Andreozzi <i>et al.</i> , 2003
	-	143	Rodríguez <i>et al.</i> , 2008
	90	-	Radjenovic <i>et al.</i> , 2007a
	5,900	-	Radjenovic, <i>et al.</i> , 2009
	-	4,800	Perdersen <i>et al.</i> , 2005
	15,050	5,230	Rosal <i>et al.</i> , 2009
	7,300	1,000	Kosma <i>et al.</i> , 2010
	318	26	Behera <i>et al.</i> , 2011
	3.6		Loos <i>et al.</i> , 2013
	160-2,120	150-1,240	Gracia-Lor <i>et al.</i> , 2012
	-	17.1	Verlicchie <i>et al.</i> , 2012
	-	2,700-16,000	Camacho-Muñoz <i>et al.</i> , 2014
	140	150	Lacey <i>et al.</i> , 2012
-	640-680	Gibson <i>et al.</i> , 2007 y 2010	
ACL	nd-720	-	Gross <i>et al.</i> , 2006
	360	-	Tauxe-Wuersh <i>et al.</i> , 2005
	-	680	Andreozzi <i>et al.</i> , 2003
	-	24	Rodríguez <i>et al.</i> , 2008
	86	74	Radjenovic, <i>et al.</i> , 2007b
	60-150	1-120	Bernhard <i>et al.</i> , 2006
	2,600	-	Gagnon <i>et al.</i> , 2008
	-	15,000	Schröder, 2002
	52	17	Kasprzy <i>et al.</i> , 2008
	140	40	Pedrouzo <i>et al.</i> , 2007
	-	163	Quintana y Reemtsma, 2004
	0.1-17	0.3	Gracia-Lor <i>et al.</i> , 2012
	65	26	Behera <i>et al.</i> , 2011
-	5	Loos <i>et al.</i> , 2013	

nd: No detectado; -: No determinado.

Kolpin *et al.* (2002) mencionan la posibilidad de que los compuestos fármacos reguladores de lípidos pueden presentar en un futuro problemas de bioacumulación en los tejidos de los peces o tener consecuencias imprevistas debido a las mezclas complejas de fármacos.

Existen pocos estudios con respecto a la identificación y cuantificación de la remoción de fármacos en término de los diferentes mecanismos de remoción que estos pudieran presentar (Joss *et al.*, 2004; Carballa *et al.*, 2007; Xue *et al.*, 2010). El sistema de lodos activados ha demostrado lograr una importante eliminación de muchos microcontaminantes (Joss *et al.*, 2005), debido principalmente a la biodegradación o adsorción sobre sólidos o coloides (Barret *et al.*, 2010), pero poco se sabe acerca de la influencia de los parámetros operacionales en ambos mecanismos, lo que cual podría explicar las diferentes eficiencias de remoción reportadas en la literatura al utilizar tecnologías similares (Onesios *et al.*, 2009).

Los diferentes parámetros de operación como el TRH y TRC ambos relacionados con la carga orgánica, pueden afectar la actividad de la biomasa así como la concentración de los sólidos presentes, lo cual es una determinante para la remoción de materia orgánica y nutrientes lo cual puede estar asociando al desarrollo de una biomasa con una comunidad diversa de microorganismos, incluyendo el crecimiento de bacterias nitrificantes.

Algunos estudios previos han reportado la importancia de la nitrificación en la remoción de compuestos fármacos en agua residual (Batt *et al.*, 2006; Fernandez-Fontaina *et al.*, 2012; Forrez *et al.*, 2009; Kraiguer y Mandic-Mulec, 2011). Las bacterias nitrificantes presentes en los lodos activados han logrado degradar a la hormona 17 α -etinil-estradiol (EE2) por medio de cometabolismo (Vader *et al.*, 2000). Desde entonces otros autores han estudiado y reportado la degradación de algunos CE por medio de bacterias nitrificantes a través de la degradación cometabólica (Estrada-Arriaga y Mijaylova, 2010; Zhou y Oleszkiewicz, 2010; Martínez-Hernández *et al.*, 2011).

La oxidación cometabólica provocada por la enzima amonio monooxígeno (AMO) es probablemente donde se inicia la biotransformación de muchas de estas sustancias. Esto ha sido determinado mediante la realización de balances de masa (Suárez *et al.*, 2010). Sin embargo las eficiencias de remoción reportadas no son homogéneas lo cual puede explicarse por las diferentes condiciones utilizadas.

La biodegradación de fármacos como el ACL y GFZ en aguas residuales es probable que sea por cometabolismo. Esto significa que los fármacos sólo pueden degradarse en presencia obligada de un sustrato primario. Sin embargo, los artículos publicados sobre el cometabolismo de fármacos son limitados. Algunos estudios sobre la eliminación y remoción de compuestos fármacos han demostrado que la degradación puede ser favorecida a través de la adición de fuentes de carbono orgánico o nutrientes como nitrógeno, fosfatos, y algunos componentes minerales (Boiesen *et al.*, 1993; Fava *et al.*, 1995).

También se sugirió que los sustratos primarios no sólo sirven para mantener la producción de biomasa, si no también actúan como donadores de electrones para el cometabolismo del sustrato. Estudios recientes informaron que la bacteria amonio oxidasa presente en los

sistemas lodos activados nitrificantes es la responsable de la eliminación de sustancias xenobióticas y fármacos presentes en aguas residuales (Batt *et al.*, 2006; Yi y Harper, 2007). El cometabolismo de los fármacos puede ser importante en la degradación de los mismos por que la AMO tiene un amplio espectro de la degradación de sustratos.

Existe una gran preocupación sobre el impacto que los productos farmacéuticos pueden presentar bajo el agua, e incluso fuera de ella. Lehrer (2009) menciona que es necesario realizar evaluaciones de riesgo basándose en las respuestas tradicionales de los peces, tales como cambios en el crecimiento o en la supervivencia.

Los enfoques de las pruebas actuales no son lo suficientemente específicas para encontrar de manera eficiente y por especie los criterios de valoración así como los fármacos que probablemente son de mayor preocupación. Sin embargo, se han realizado pruebas de toxicidad para determinar la concentración a la cual diferentes especies expuestas presentan alguna alteración.

La EC₅₀ (concentración media efectiva) se define como la concentración de una sustancia en un medio que se espera produzca un cierto efecto en el 50% de los organismos testeados de una población bajo ciertas condiciones (IUPAC, 2013). Por otro lado la LC₅₀ (concentración media letal) representa la concentración del compuesto tóxico que resulta letal para el 50% de los organismos expuestos durante un período especificado. En la Tabla 1.4 se presentan algunos estudios realizados.

Tabla 1.4 Toxicidad del ACL y GFZ sobre diferentes especies.

FÁRMACO	TOXICIDAD	REFERENCIA
GFZ	<i>Anabaena</i> con un EC ₅₀ de 44,200 ng·L ⁻¹ .	Rosal <i>et al.</i> , 2009
GFZ	<i>Vibrio fischeri</i> , LC ₅₀ menor de 10,000 ng·L ⁻¹	Kolpin <i>et al.</i> , 2002
GFZ y BZF	<i>H. Attenuata</i> con EC ₅₀ de 320,000 ng·L ⁻¹	Quinn <i>et al.</i> , 2008
ACL	EC ₅₀ con <i>Daphnia Magna</i> 200,000,000 ng·L ⁻¹	Ferrari <i>et al.</i> , 2003

Tabla 1.5 Efecto y concentraciones reportadas en organismos del ACL y GFZ.

FÁRMACO	IMPACTO	CONCENTRACIÓN, ng·L ⁻¹	EFEECTO	REFERENCIA
GFZ	Peces	1,000,000	Daño hepático	Mimeault <i>et al.</i> , 2006
		1,000,000- 10,000,000	Reducción 50% de testosterona	Fent <i>et al.</i> , 2006
		2.5	Citotoxicidad, células cancerígenas	Thibaut y Porte, 2008
		1,500- 1,500,000	Bioconcentración, reducción de producción de testosterona	Mimeault <i>et al.</i> , 2005
		100,000- 15,000,000	Inhibición del crecimiento del pez	Raldúa <i>et al.</i> , 2008
		100,000-5,000,000	Baja reproducción de peces	Runnals <i>et al.</i> , 2007
750,000	Síndrome de mala absorción Baja producción de esperma			

Continuación Tabla 1.5 Efecto y concentraciones reportadas en organismos del ACL y GFZ.

FÁRMACO	IMPACTO	CONCENTRACIÓN, ng·L ⁻¹	EFEECTO	REFERENCIA
		1,000,000 -100,000	Dificultad en la respiración y severa inhibición en la motilidad del pez.	Smith., 2005
ACL		100,000	Daño en hígado y membrana celular,	Triebskorn <i>et al.</i> , 2007
GFZ	<i>Hyalella azteca</i>	1,000,000 - 10,000,000	Reducción de supervivencia	Borgman <i>et al.</i> , 2007
ACL	<i>Alga C. Riparius</i>	145,000	Daños en metabolismo	Nentwing <i>et al.</i> , 2004
GFZ	Ratas	2.1 1,000,000	Cáncer Hepatomegalia (crecimiento del hígado)	Shane, 2008 Gregus <i>et al.</i> , 1998
ACL	Crustáceos	3,000,000 130,000	Inhibición en la reproducción	Schwaiger <i>et al.</i> , 2004 Isidori <i>et al.</i> , 2007

1.3 Tecnología de membranas

La tecnología de membranas es una novedosa forma de depuración de las aguas residuales. La investigación y la comercialización de los biorreactores comenzó cuando se consideró la combinación de membranas con un proceso biológico como un sistema óptimo para el tratamiento de las aguas residuales. En un principio el uso de los sistemas de filtración con membranas fue limitado y solamente se empleaba como tratamiento terciario después de los procesos biológicos convencionales (Stepenson *et al.*, 2000; CCA, 2003; Ngo *et al.*, 2012; Basile, 2013). Con el paso del tiempo, se fueron creando diferentes tipos de membranas, tanto en su proceso de fabricación, como en sus aplicaciones, lo cual permitió el remplazo del tratamiento terciario por etapas de microfiltración o ultrafiltración, la combinación de biorreactores con membranas externas y posteriormente sumergidas eliminando de esta manera los sedimentadores secundarios.

Los biorreactores de membrana (BRM) han tratado con éxito efluentes de diversas industrias, como las cosméticas, farmacéuticas, metálicas, textiles, alimenticias, papeleras y químicas. El interés en la tecnología de biodegradación con BRM ha incrementado para el tratamiento de aguas residuales, debido a las estrictas regulaciones de calidad del agua, la necesidad de reutilización del agua y el incremento de la factibilidad económica de esta tecnología. El uso de BRM ha reducido significativamente los consumos energéticos y ha afianzado el incremento potencial de las membranas en el tratamiento del agua residual (Judd y Judd, 2006; Graeme, 2008; Khan *et al.*, 2009; Kovalova *et al.*, 2012; Trinh *et al.*, 2012; Lou *et al.*, 2014).

Una *membrana* puede definirse como una película delgada que separa dos fases y actúa como barrera selectiva al transporte de materia o bien una lámina que permite el paso selectivo de sustancias a través de ella. El flujo de estas sustancias puede venir determinado por diferentes fuerzas impulsoras, principalmente la presión, concentración y potencial eléctrico. La membrana opera con una corriente de alimentación y la divide en dos: un permeado, conteniendo el material que ha pasado a través de la membrana y un retenido conteniendo las especies que no la atraviesan (Figura 1.2).

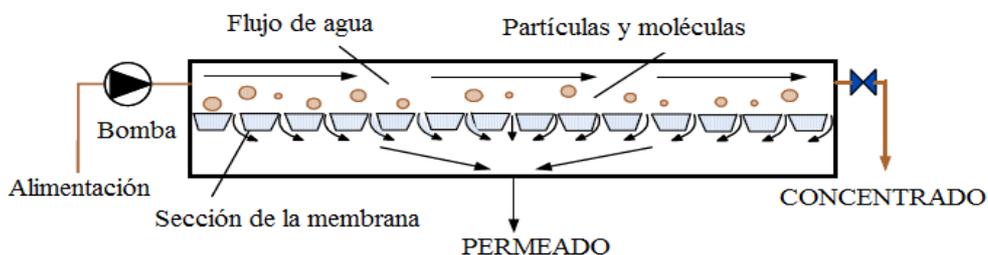


Figura 1.2 Operación de las membranas.

El proceso de separación por membranas permite la remoción de la materia en suspensión y coloidal y de los compuestos orgánicos e inorgánicos disueltos en función de la membrana seleccionada (Beaubien *et al.*, 1996; Delgado, 2009; Fauzi y Matsuura 2012). Un factor principal que determina si un soluto pasa a través de la membrana o si es retenido, es el tamaño de poro, el cual abarca una amplia gama de menos de un nanómetro (nm) hasta más de 1 micrometro (μm). Dalton es la unidad que se designa para el peso molecular en la filtración de membranas y es expresado en $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Thorsen y Flogstat, 2006). Considerando la medida de poro del peso molecular del corte las membranas (Figura 1.3) se clasifican en 4 grupos: ósmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración y microfiltración (Quero, 2007; N Li *et al.*, 2008; EUR, 2010; Basile, 2013).

Las *Membranas de Microfiltración (MF)* tienen tamaños de poro de $0.1 \mu\text{m}$ o mayores y proporcionan una elevada eliminación de sólidos en suspensión, incluyendo la mayoría de las bacterias, así como la eliminación parcial de virus y macromoléculas.

Las *Membranas de Ultrafiltración (UF)* tienen tamaños de poro que van desde $0.1 \mu\text{m}$ hasta menos de $0.05 \mu\text{m}$. Este tipo de membranas suelen permitir el rechazo de macromoléculas, de microorganismos tales como virus y bacterias, y otros tipos de partículas (Brady, 2003; Delgado, 2009).

Las *Membranas de Nanofiltración (NF)* tienen poros de un tamaño inferior a $0.01 \mu\text{m}$, lo que permite la eliminación de la mayoría de las especies, excepto de ciertos iones monovalentes y moléculas de bajo peso molecular. Este tipo de membranas raramente son utilizadas en biorreactores de membranas debido a su alta resistencia hidráulica (Fane y Chang, 2002), pero pueden ser de interés en muchos otros procesos, como el ablandamiento por membranas (eliminación de iones polivalentes de calcio y magnesio del agua).



Figura 1.3 Correlación de las propiedades de las membranas con los rangos de separación (HidroWater, 2010).

Para lograr un buen flujo transmembrana es importante seleccionar la membrana adecuada, ya que proporcionará las características requeridas en cuanto a concentración de especies en el permeado. Estos pueden variar de acuerdo al material, geometría, morfología, diferentes presiones entre otros. Un elemento básico para el proceso de membrana es la presión transmembrana (PTM) que se define como la diferencia entre la presión promedio de la alimentación y el permeado, la PTM en general indica la presión de alimentación requerida en conjunto con el flujo para disminuir el ensuciamiento de la membrana.

Atendiendo a su naturaleza, las membranas se dividen en dos grupos: *orgánicas* e *inorgánicas*. En general las orgánicas son económicas y de materiales poliméricos (polisulfona, polipropileno polivinilideno, polietileno, polivinilideno fluoruro). Las membranas inorgánicas (vidrio poroso, cerámica y metálicas) suelen ser más caras pero presentan ventajas tales como la resistencia a agentes químicos agresivos. En la Tabla 1.6 se presentan las características que se deben tomar en cuenta al seleccionar una membrana.

Tabla 1.6 Características de los diferentes tipos de membranas.

TIPO	MICROFILTRACIÓN	ULTRAFILTRACIÓN	NANOFILTRACIÓN	ÓSMOSIS INVERSA
Geometría de membrana	Simétrica/ Asimétrica	Asimétrica	Asimétrica	Asimétrica
Grosor de película, μm	10-150	1-250	1-150	1-150
Tamaño de poro, μm	4- 0.1	0.1- 0.02	< 0.01	< 0.001
Rechazo	Sólidos en suspensión	Macromoléculas, proteínas, virus, bacterias	Componentes de alto peso molecular (Oligosacáridos, aminoácidos)	Sales, glucosa, iones metálicos
Material habitual	Cerámico, polimérico	Cerámico, polimérico	Polimérico	Polimérico
Módulos de membrana	Tubulares (fibra hueca)	Tubulares (espirales, fibra hueca y planas)	Tubulares (espirales y planas)	Tubulares (espirales y planas)
Presión de operación, bar	< 2	1-10	5-35	15-150

Un módulo de membrana es la unidad mecánica en la cual se ordenan de diferentes formas las membranas. Los principales factores a tener en cuenta a la hora de escoger un módulo son la facilidad de montaje y ensamblaje, ser compacto, tratar el máximo permeado posible con la mínima superficie de membranas, permitir la modulación, conocer la distribución de alimentación sobre la superficie de las membranas.

Las membranas de fibra hueca son considerados como los módulos más compactos (1,000-10,000 m²·m³), pero las más propensas al ensuciamiento. El flujo de alimentación en este tipo de membranas tiene lugar por dentro de las fibras (configuración de dentro – fuera) o bien por fuera de las fibras (configuración exterior – interior) (Judd, 2006; Quero, 2007; Fauzi *et al.*, 2012; Basile, 2013).

La configuración de las membranas puede ser *sumergida* o *externa*. La primera se caracteriza por que la unidad de membrana la cual es la separación física, está inmersa en el tanque biológico. La fuerza impulsora a través de la membrana es alcanzada presurizando el biorreactor o creando presión negativa en el lado del permeado de la membrana (Cote *et al.*, 1997; Buisson *et al.*, 1998; Judd, 2002; Rosenberger *et al.*, 2002; EUR, 2010). La limpieza de la membrana se realiza a través de frecuentes retrolavados con agua permeada y aire, y en algunas ocasionalmente mediante retrolavados con soluciones químicas. Generalmente se coloca un difusor de aire justo debajo del módulo de la membrana para suministrar el aire necesario con el objeto de homogeneizar el contenido del tanque, para el proceso biológico y para la propia limpieza de la membrana (Figura 1.4-a).

Por otro lado, la configuración *externa* implica que el licor de mezcla sea recirculado desde el biorreactor hasta la unidad de membrana que se dispone externamente a la unidad biológica (Figura 1.4-b). La fuerza impulsora es la presión creada por la alta velocidad del flujo a través de la superficie de la membrana (Cicek *et al.*, 1998; Urbain *et al.*, 1998; Mulder, 2000; Basile, 2013).

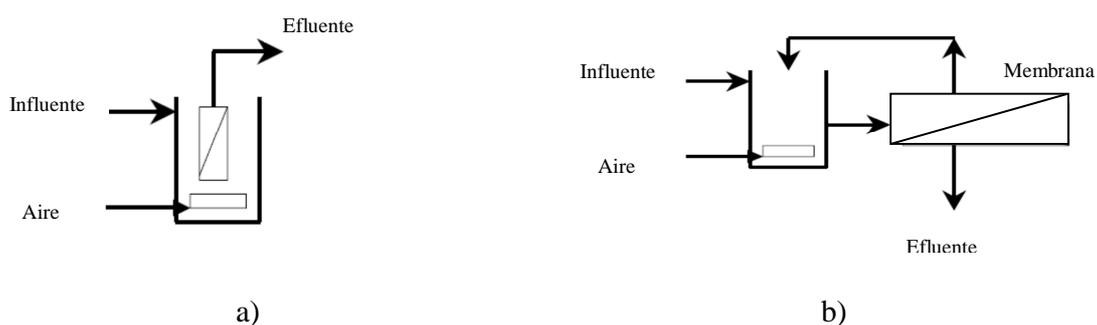


Figura 1.4 Operación del sistema BRM a) membrana sumergida; b) membrana externa

Las ventajas del sistema de membrana sumergida sobre el sistema de membrana externa son los bajos costos de bombeo y operación, así como una baja frecuencia de limpieza de la membrana. Sin embargo, si se requiere manejar flujos altos de operación ($40-120 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) y PTM mayores (0.5-5 bar) se recomienda el uso de membrana externa (Gander, *et al.*, 2000; Stephenson, *et al.*, 2000).

Para el manejo de las membranas se tiene que tener en cuenta el flujo (J) o cantidad de material que pasa a través de la membrana por unidad de área y por unidad de tiempo, lo cual también es conocido como velocidad de filtración, las membranas operan por lo general a flujos entre $10-100 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ (Judd, 2006). El flujo es determinado por dos factores, la fuerza motriz y la resistencia que ofrece la membrana al paso del agua.

La mayor ventaja de la tecnología de los BRM reside en la posibilidad de reutilizar el efluente obtenido. La utilización de un módulo de ultrafiltración con un rango de tamaño de poro de comprendido entre 0.005 y $0.1 \mu\text{m}$ permite mejorar la calidad del efluente evitando la presencia de sólidos, materia coloidal, bacterias y algunos virus. Por lo tanto, el efluente obtenido, según el uso final que se le quiera dar, puede ser reutilizado directamente o como alimentación en un proceso de electrodiálisis reversible u ósmosis inversa (Chiemschaisri y Yamamoto, 1993; Mulder, 2001; Delgado, 2009; EUR, 2010). Otra de las ventajas de la tecnología de BRM es la operación de estos a altas concentraciones de biomasa (Ferreira *et al.*, 2010; Sipma *et al.*, 2010; Kyo *et al.*, 2013), así como la baja producción de lodo en exceso (Wagner *et al.*, 2000), baja concentración de sólidos suspendidos en el efluente, así como la eliminación de patógenos y virus y por consiguiente una superior calidad de los efluentes en comparación a las plantas de tratamiento convencionales. Se ha visto también favorecido positivamente la actividad global de crecimiento lento de los microorganismos, por ejemplo, actuando en la nitrificación o la degradación de determinados contaminantes refractarios, como micro-contaminantes. Schröder (2002) sugirió que los sistemas BRM deben proporcionar una ventaja competitiva para organismos capaces de degradar compuestos recalcitrantes mediante la eliminación de retrolavados. Sin embargo, este último, obviamente, se rige por la necesidad de mantener una biomasa a una concentración constante en el BRM y que permita a la vez un TRC. Además, la alta concentración de biomasa en un BRM no solo va a conducir a una disminución de la producción de lodos, sino también una mayor estabilidad y persistencia de las cargas.

La alta concentración de biomasa en BRM influye sobre la relación F/M, esto es la materia orgánica disponible y necesaria para la alimentación de los microorganismos. En sistemas de tratamiento convencionales no se obtienen TRC suficientes para que los microorganismos degraden completamente los fármacos. Por lo contrario, en los sistema BRM se permite que la población bacteriana sea diversificada y con mayor capacidad para degradar ya sea por metabolismo directo o por degradación cometabólica vía enzimática (Kimura *et al.*, 2007; Suárez *et al.*, 2010; Suárez *et al.*, 2012; Vieno y Sillanpää *et al.*, 2014).

No obstante los BRM también presentan un efecto positivo sobre la eficiencia de remoción de los microcontaminantes que tienden a acumularse en el lodo, ya sea por sus valores intrínsecos de hidrofobicidad o por medio de interacciones electrostáticas con la biomasa (Grelrier *et al.*, 2006).

La concentración de la biomasa en el BRM medida como SSTLM es uno de los principales parámetros de operación ya que brinda la posibilidad de utilizar altas concentraciones de SSTLM lo cual lo hace un sistema compacto. Sin embargo, los informes de la literatura sobre la influencia del SSTLM en el ensuciamiento de la membrana no son coherentes y a veces tienden a ser contradictorios. Varios autores han reportado que el aumento del ensuciamiento de la membrana esta correlacionado con el aumento de la concentración de SSTLM (Meng, 2007; Li *et al.*, 2015).

Ferreira *et al.* (2010) realizaron un estudio sobre las características de los lodos activados en un BRM con el objeto de optimizar la operación de estos últimos y retener dentro de los lodos las partículas que producen el ensuciamiento de las membranas. Las concentraciones de SSTLM utilizadas fluctuaron entre 3.6 y 18.3 g·L⁻¹ y como resultado se observó que a concentraciones mayores a 11 g·L⁻¹ de SSTLM la capacidad de filtración se vio afectada y provocó un aumento de partículas en el rango de 10 a 20 µm y una disminución en el rango de 30 a 100 µm. En concentración de SSTLM de 8 y 10 g·L⁻¹ se observó que las muestras de lodo atrapan partículas menores de 20 µm en la mayor parte de lodos activados, por lo tanto, no están contribuyendo al aumento de la resistencia en la membrana. Sin embargo, los lodos activados con bajas concentraciones de SSTLM no mostraron tener la capacidad de atrapar partículas. Estos comportamientos diferentes sugieren que los rangos óptimos de concentración SSTLM para la operación BRM son entre los 8 y 10 g·L⁻¹.

1.4 Remoción de fármacos mediante biorreactores con membranas

La eliminación y remoción de los CE es muy baja en las plantas de tratamiento convencionales, es por eso que se necesita tener en cuenta su presencia al momento de diseñar algún proceso para su remoción (Clara *et al.*, 2004; Jáuregui *et al.*, 2007; Kosjek *et al.*, 2007). En Estados Unidos se han implementado diferentes métodos de tratamiento avanzados considerando una efectividad de un 50 a 97 % en separación por membranas y de un 90 a 99% en ósmosis inversa (Robinson *et al.*, 2007). También se ha utilizado cloro libre en dosis de 3.5 mg·L⁻¹, obteniendo como máximo remociones de 70% en fármacos como estrona, triclosan y naproxeno, remociones promedio de 30 a 70% para fármacos como el ibuprofeno y GFZ, y remociones menores al 30% para fármacos como carbamezapina, diazapam y galaxolide (Shane, 2008).

La remoción de ACL por medio de la adsorción a metales orgánicos también ha sido posible (Hasan *et al.*, 2012). Utilizando sistemas de luz UV a 40 mJ·cm⁻², Shane (2008) reportó un 70% de remoción máxima para fármacos como el triclosan y diclofenaco, sin embargo, con un sistema de ozonación y dosis de 2.5 mg·L⁻¹ se reportó remociones mayores de 70% para fármacos como carbamezapina, ibuprofeno, GFZ entre otros.

La remoción del ACL y GFZ mediante el uso de humedales ha reportado remociones del 30 y 60 % para el ACL y GFZ respectivamente. Se puede observar que en comparación a los sistemas convencionales estas son bajas.

Cuando los fármacos son removidos >70% se considera una alta eficiencia (acetaminofén, ácido salicílico, trimetoprima, metoprolol, cafeína y tetraciclina), entre un 50-70% son

considerados moderadamente removidos (ibuprofeno, naproxeno y gemfibrozil), los de baja remoción son considerados entre 20-50% (diclofenaco, ketoprofeno, amoxicilina, triclosan, ACL y carbamezapina) y los de difícil remoción (ampicilina, eritromicina y lincomicina) son considerados <20% (Li *et al.*, 2014). El uso de la biotecnología ha sido implementado para la remoción del ACL utilizando hongos de podredumbre blanca (*Trametes versicolor*) en reactores tipo batch, donde se han reportado remociones en un 80% partiendo de concentraciones de $30 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Cruz-Moratúa *et al.*, 2013).

Kosjek *et al.* (2007) reportaron bajas remociones de ACL (29 %) en aguas residuales mediante el uso de 3 biorreactores aireados a escala piloto con TRH de 48 h y TRC de 20 días. Los resultados obtenidos los atribuyeron a la complejidad del ACL lo cual lo hace resistente a la biodegradación y concluyen que se necesita un tiempo de adaptación de la biomasa a este fármaco de meses e incluso después de un alto tiempo de adaptación puede ser no significativa la remoción del ACL. Por otro lado, Kimura *et al.* (2007) reportó la nula remoción de ACL en un sistema de membrana sumergida con TRH de 9 h y lo atribuyó a la presencia de cloro en su estructura.

La remoción del ACL ha sido estudiada en diversos sistemas de tratamiento; Zwiener y Frimmel (2003) realizaron un estudio en Alemania con bajas concentraciones de ACL ($10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y compararon un sistema de desnitrificación y lodos activados contra un sistema de biofiltración empacado de piedra pómez (2 reactores óxico y anóxico) con TRC de 2 días. Como resultado reportaron la no remoción en el sistema de lodos activados y en el reactor óxico, sin embargo en el reactor anóxico reportó remociones entre 70 y 74 % de ACL. Estos autores concluyeron que este fármaco puede removerse bajo dos condiciones; baja concentración del fármaco y pequeños tiempos de exposición.

Con respecto al GFZ Jelic *et al.* (2011) reportó remociones de GFZ en plantas de tratamiento de agua residual convencional menores al 20 % e incluso la no remoción del fármaco y Gross *et al.* (2010) reportó remociones de GFZ de 40 a 60 % en un sistema de lodos activados convencional. En un estudio reportado por Urase *et al.* (2005) se observaron remociones similares a las reportadas en esta investigación, 90% de GFZ y 50 % de ACL pero utilizando un sistema de microfiltración con TRH de un día, concentración de SSTLM en un rango de 2,700 y 3,500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y un pH bajo (4.5).

Radjenovic *et al.* (2007a) realizaron una investigación en Barcelona, Riera de Rubí, donde se comparó la remoción de 31 fármacos presentes en aguas residuales en dos diferentes sistemas de tratamiento. El primero fue un sistema de lodos activados y el segundo fue utilizando un sistema BRM con membranas sumergidas de placa plana. Los componentes más abundantes fueron el GFZ, BZF, naproxeno y diclofenaco con cargas de 21-56 $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$. El ACL se encontró en cantidades menores (0.4-3.43 $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$). Las remociones en el reactor de membranas para el GFZ, BZF y ACL fueron de 89, 95 y 71% respectivamente. La remoción de estos compuestos en lodos activados fue de 38, 48 y 27% respectivamente.

Se puede observar que la remoción en el sistema de lodos activados fue menor. Paxeus (2004) menciona que el sistema de lodos activados no permite lograr altas remociones para algunos fármacos (en especial los ácidos) y reportó una remoción del 55% para el GFZ.

Radjenovic *et al.* (2009) realizaron un estudio en Barcelona, comparando el sistema de lodos activados con reactores de membrana de ultrafiltración y microfiltración utilizando una mezcla de agua residual municipal con agua industrial. La remoción en el sistema de lodos activados para BZF fue de 80% y para el GFZ menor de 10%. Con la membrana de microfiltración obtuvieron una remoción de 90% de BZF y 42% de GFZ. Con la membrana de ultrafiltración, la remoción fue de 88% y 32% respectivamente. Se demostró que la tecnología de membranas remueve en mayor porcentaje los fármacos presentes en aguas residuales que los sistemas convencionales. Sin embargo, las altas remociones en el sistema de membrana pueden generar problemas de ensuciamiento y requerir frecuentemente de retrolavados.

Otro estudio que compara la remoción de ACL en el sistema de lodos activados y en un biorreactor de membrana de placas sumergida es el realizado por Bernhard *et al.* (2006) utilizando una mezcla de agua residual municipal e industrial. Como resultado obtuvieron remociones de ACL de 26 % en el sistema de lodos activados y hasta un 54% en el BRM, en este último no se presentaron problemas de colmatación y/o ensuciamiento. Las altas remociones se atribuyen a los altos valores del TRC utilizados.

Clara *et al.* (2004) realizaron un estudio comparativo con respecto a la capacidad de remoción que se obtiene en un sistema BRM con membrana externa de ultrafiltración y el sistema de lodos activados. El agua residual municipal fue tomada de una comunidad rural mezclada con agua industrial de la región Sureste de Austria. La temperatura del ambiente durante la primera parte del estudio fue de 20 °C (julio). Los TRC fueron de 10, 30 y 100 días. Como resultado se obtuvo una remoción de 95 % de BZF en los lodos activados y en el BRM, sin embargo, en temporada de invierno (diciembre) se observó una reducción en la remoción a un 76% en el sistema de membrana y a un 90% en el de lodos activados. A bajas temperaturas (6°C) la remoción disminuyó. Un año más tarde los autores reportaron los resultados de otro estudio con remociones superiores al 90 % de BZF en el sistema BRM con un TRC de 10 días y temperatura de 10°C, demostrando que en el BRM se pueden obtener altas remociones de BZF utilizando bajas temperaturas (Clara *et al.*, 2005b).

En 2 plantas farmacéuticas de Irlanda se ha implementado el uso de biorreactores de membrana ZeeWeed para el tratamiento de las aguas residuales. Los BRM son capaces de operar a una alta concentración de SSTLM de 10,000 a 20,000 mg·L⁻¹. El agua cuenta con una DQO de 2,000 a 4,000 mg·L⁻¹ y una carga de nitrógeno hasta 1,000 mg·L⁻¹, medida como nitrógeno total Kjeldahl (NTK) (Zenon Environmental, 2007).

Con el uso de los BRM se ha observado que se puede obtener una disminución significativa de la actividad estrogénica (78%) y androgénica (98%) al encontrarse hormonas tales como 17β-estradiol y testosterona en el agua residual (Coleman *et al.*, 2009).

Estos resultados son comparables con los obtenidos en un estudio realizado por Coleman *et al.* (2007) dos años antes donde se reportaron remociones de 88% para la actividad estrogénica y de 98% para actividad androgénica. La disminución de la actividad

estrogénica reportada por Hu *et al.* (2007) es de 68% y la reportada por Holbrook *et al.* (2002) es de 69%.

La mayor disminución en la actividad estrogénica obtenida por Coleman *et al.* (2007, 2009) podría atribuirse a que se utilizó un mayor tiempo de retención hidráulico (24 h) en comparación con el BRM en el estudio realizado por Holbrook *et al.* (2002) donde el TRH fue de 8.5 h. Drewes *et al.* (2005) reportaron que la actividad estrogénica fue removida en un promedio de 96% en un sistema BRM a escala piloto.

En China el número de hospitales ha aumentado de 14,377 (1990) a 19,712 (2008) y por consiguiente ha aumentado la generación de aguas residuales hospitalarias. En 2008 la cantidad de esta agua fue de $1.29 \times 10^6 \text{ m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$, lo cual representa el 1% de las aguas residuales generadas en este país. Desde hace 8 años China tiene operando con éxito más de 50 plantas de tratamiento con una capacidad de 20 a $2,000 \text{ m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$ utilizando la tecnología de BRM para la remoción de fármacos. Se ha observado que esta tecnología logra efectivamente ahorrar el consumo de desinfectante ($< 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de cloro), acortar el tiempo de reacción a aproximadamente 1.5 min (2.5 a 5% menos que en los sistemas convencionales) y logra una alta inactivación de los microorganismos. Por otra parte se ha observado que cuando la capacidad de las plantas BRM aumenta de 20 hasta $1,000 \text{ m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$ su costo de operación disminuye considerablemente (Liu *et al.*, 2010).

El tratamiento de aguas residuales mediante el uso de BRM es un proceso relativamente joven en México, pero en los países desarrollados ha obtenido un uso muy amplio en los últimos 25 años. La construcción de nuevas plantas ha ido incrementándose progresivamente y diversificando sus áreas de utilización. La tecnología BRM ha obtenido mayor competitividad para el tratamiento de efluentes que contengan algún componente de difícil remoción o lenta biodegradabilidad, ya que puede llegar a remover materia orgánica considerada inerte para las tecnologías convencionales (Jáuregui *et al.*, 2007; Burke, 2008). Una de las ventajas de estos sistemas es la integración de la degradación biológica de la materia orgánica con la filtración de membrana.

El tratamiento de aguas residuales y la recuperación de aguas contaminadas con sustancias químicas persistentes, dañinas para la salud del hombre, imponen el reto de buscar tecnologías alternativas no convencionales que garanticen un entorno saludable. Los BRM han presentado potencialidades para su uso extensivo a corto y mediano plazo.

En México como resultado de la infiltración de aguas residuales en la zona del Valle del Mezquital, se ha formado un importante acuífero, el cual se está considerando como una posible fuente de agua para la ciudad de México (Jiménez y Chávez, 2004). La sobre explotación de este acuífero ha llevado a la sugerencia de utilizar cuencas como la Cerro Colorado la cual produce $600 \text{ L} \cdot \text{s}^{-1}$ ($51.8 \text{ m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$).

Sin embargo, estudios anteriores de Gibson *et al.* (2007) mostraron que, debido a su origen, esta agua contiene CE; lo cual aumenta la necesidad definir un proceso de tratamiento que garantice la eliminación de estos contaminantes. Neira *et al.* (2012) trabajaron en un sistema para la remoción de CE en esta zona, seleccionando la nanofiltración, ya que es un

proceso adecuado, al producir un permeado de alta calidad, eliminar la materia orgánica natural y retener los compuestos con un peso molecular similar a la mayoría de CE. Como resultado obtuvieron remociones del 90% de fármacos como el triclosan, carbamezapina, bisfenol A y 4-nonil fenol utilizando un sistema de membranas de nanofiltración de 200 Daltons.

Melo-Guimarães *et al.* (2013) evaluó un sistema de membrana para remover fármacos como el triclosan, ácido salicílico, carbamezapina, naproxeno, diclofenaco, GFZ entre otros. En dicho estudio se comparó la eficiencia de remoción de 17 CE entre ellos el GFZ (de interés en este trabajo de tesis) utilizando de manera separada y en combinación un sistema de membrana de UF con y sin floculación (F) y un sistema de lodos activados (LA) con y sin floculación. El agua residual que se utilizó para alimentar el reactor se obtuvo de la salida principal de alcantarillado de la ciudad de México. Los arreglos utilizados fueron tres: (a) F+LA, (b) F+UF y (c) F+LA+UF. Las remociones obtenidas con la combinación (a) presentaron valores de 91% para el GFZ con una concentración en el efluente de 333 ng·L⁻¹, por otro lado sin el uso del floculante solo se observaron remociones del 70% y una concentración de 631 ng·L⁻¹ en el efluente. Para el arreglo (b) la remoción con floculante fue de 80% y solo con el sistema UF la remoción fue un 5% menor. La remoción obtenida con los tres sistemas (c) fue de un 93% aumentando la eficiencia de remoción en un 10% sobre el arreglo (b) y solo un 2% para el arreglo (a).

La combinación de un proceso de tratamiento biológico aeróbico con la floculación y la tecnología de membrana de UF da como resultado un incremento en la eficiencia de eliminación del GFZ y los demás CE estudiados, además de ser la biodegradación el mecanismo de remoción predominante. El floculante utilizado mejoró la capacidad de los lodos para eliminar los CE pero no lo hizo de manera significativa con el arreglo de UF.

1.5 Técnicas analíticas para la determinación de fármacos reguladores de lípidos

Para observar la presencia, distribución y destino de los CE en el medio ambiente es necesaria la implementación de métodos analíticos eficientes y fiables. En las últimas décadas se ha visto que la química analítica y la química ambiental van de la mano ya que se ha contribuido en gran manera al detectar la presencia de estos contaminantes en las aguas residuales (Moy y Brumley, 2003; Reemtsma y Jekel, 2006; Hao *et al.*, 2007).

Las características de los fármacos (bajas concentraciones, alta polaridad y la metabolización de los fármacos) en conjunto con una serie de matrices en el ambiente, hacen que el análisis sea variable. Es por esto que se han desarrollado diferentes métodos para determinar la presencia y cuantificación de los fármacos en las aguas residuales, tales como cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía líquida por ionización con electro spray y espectrometría de masas (LC-ESI-MS), por espectrometría de masa tandem (LC-ESI-MS-MS) o por cromatografía de gases integral de dos dimensiones con espectrometría de masas de tiempo de vuelo (GC-GC-TOF MS). (Soliman *et al.*, 2004; Radjenovic *et al.*, 2007b; Lacina *et al.*, 2013), los cuales con el

tiempo se han convertido en métodos estándar y una herramienta indispensable para la investigación de los fármacos en el ambiente.

El análisis de los CE se ha desarrollado rápidamente en los últimos 10 a 15 años, muchos de estos compuestos no son volátiles y contienen grupos funcionales no polares para los cuales la LC-MS ofrece como la ventaja la inyección directa mientras que el análisis por cromatografía de gases (GC) puede requerir derivación y, a menudo no es adecuado para pesos moleculares altos y compuestos polares. Por otro lado el uso de la LC-MS experimenta los efectos de supresión, además de requerir el uso de estándares internos relativamente caros en comparación con la GC, por lo que esta última resulta ser una opción atractiva (Petrovic *et al.*, 2005; Hao *et al.*, 2007; Durán-Álvarez *et al.*, 2009).

El método de GC-MS fue el primero utilizado para determinar la presencia de fármacos en el ambiente en 1976 y sigue siendo en la actualidad un método comúnmente utilizado debido a su amplia disponibilidad de uso en los laboratorios. Por su buena estabilidad al impacto de iones, la alta sensibilidad y con una derivatización apropiada, este es un método que provee análisis adecuado y costo efectivo (Hao *et al.*, 2007).

Desde la primera determinación del ACL por medio de GC-MS en los efluentes de las aguas residuales, la comunidad científica ha reportado más de 80 fármacos en suelos, sedimentos, lodos, estiércol, aguas superficiales, aguas subterráneas y agua potable. De estos los fármacos más frecuentemente encontrados son los analgésicos, drogas anti-inflamatorias, antibióticos, reguladores de lípidos, anti-hepilepticos, β -bloqueadores (Hao *et al.*, 2007; Ranjenovic *et al.*, 2007).

Actualmente para la extracción en fase sólida se han desarrollado nuevos sorbentes poliméricos con características mejoradas para la transferencia de masa y con posibilidades adicionales para la interacción con grupos funcionales. Algunos de estos sorbentes son RP-C18, Oasis HLB y Strata X.

Investigaciones realizadas buscando la mayor efectividad de estos sorbentes concluyeron que la efectividad de estos depende de las propiedades físicoquímicas de los analitos y la elución (Lin *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2007;). Los autores Patterson *et al.* (2000), Andreozzi *et al.* (2003) y Soliman *et al.* (2004) recomiendan el uso de GC-MS para la identificación y cuantificación de los fármacos reguladores de lípidos.

La técnica de GC basado en columnas capilares de sílice fundida ofrece en sobre manera una mejor eficiencia de separación. La eficiencia de la separación por GC bidimensional integral (GC-GC) es mejor en comparación con GC convencional debido a la separación en dos columnas diferentes (en dos dimensiones). Por lo tanto esta técnica ofrece un alto potencial para el análisis de matrices complejas de los contaminantes ambientales como muestras de agua (subterránea, irrigación y superficial) y muestras de aguas residual. Además, la detección de espectrometría de masas con electrones de ionización permite una identificación fiable de compuestos separados sobre la base de búsqueda de la biblioteca.

Sin embargo el uso de GC para la determinación de los productos farmacéuticos requiere de una derivatización con los reactivos adecuados, con el fin de aumentar su volatilidad, estabilidad térmica, y mejorar la separación cromatográfica (Langel *et al.*, 2011; Nagamatsu *et al.*, 2012).

Lacina *et al.* (2013) cuantificaron diez fármacos (ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, ACL, ibuprofeno, paracetamol, cafeína, naproxeno, ácido mefenámico, ketoprofeno, diclofenaco) en agua residual y agua superficial mediante un método analítico que incluyó: muestreo, pretratamiento, el uso de extracción en fase sólida para extraer las respectivas sustancias, seguido por derivatización y el uso posterior de cromatografía de gases integral de dos dimensiones con espectrometría de masas de tiempo de vuelo (GC-GC-TOF-MS). Dado que la mayoría de los compuestos investigados eran ácidos carboxílicos fueron identificados y cuantificados con trimetilsilil (TMS) y *N*- trimetilsilil tri-fluoroacetamida (MSTFA) como reactivo derivatizante.

La alta eficiencia de separación de GC-GC permitió la supresión del efecto matriz (en el recobro del analito) en aguas residuales y disminuyó el ruido de fondo. Por estas razones, no se reportó ningún problema con la elución de los compuestos bajo evaluación, y reportaron que sus límites de detección fueron más bajos en comparación con el GC-MS (Jux *et al.*, 2002; Rodríguez *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2005; Tauxe-Weuersch *et al.*, 2005) o LC-MS2 (Ashton *et al.*, 2004; Gómez *et al.*, 2006; Roberts y Thomas, 2006). Otra gran ventaja fue la fácil identificación de los compuestos en la base de datos del software en la biblioteca del cromatógrafo. En conclusión la sensibilidad del procedimiento analítico fue suficiente para detectar la totalidad de los compuestos estudiados.

Algunas de las técnicas empleadas para la detección de compuestos fármacos en México han sido reportadas por Gibson *et al.* (2007 y 2010) utilizando como derivatizantes al *N*-*Ter*-butildimetilsilil-*N*-metiltrifluoroacetamida (MTBSTFA) con un 1% *ter*-butildimetilsililclorano (TBDMSCl), *N*-*O*-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) con 1% de trimetilsililclorano (TMSCl). Las mejores lecturas en el cromatógrafo, picos con mejor forma y una buena sensibilidad han sido obtenidas mediante el uso del MTBSTFA el cual es apto para compuestos ácidos debido a que esto no ocurre con el BSTFA. Cuando se desea derivatizar compuestos fenoles, mencionan que ambos son adecuados. Las recuperaciones obtenidas en agua superficial con fortificaciones de 5, 25 y 100 ng·L⁻¹ oscilan desde el 76 a 96% con LD de 0.25-1 ng·L⁻¹ (para compuestos ácidos). En agua residual las recuperaciones variaron entre 68 a 114% con fortificaciones de 10, 25 y 50 µg·L⁻¹ y LD entre 5-100 ng·L⁻¹. La precisión del método, recuperaciones, LD y LC fueron considerados aceptables y similares a otros estudios realizados (Ternes, 2001; Fata *et al.*, 2007). Este mismo procedimiento ha sido utilizado en otros estudios (Chávez *et al.*, 2011; Durán-Álvarez *et al.*, 2012; Melo-Guimarães *et al.*, 2013; Félix-Cañedo *et al.*, 2013).

Para la cuantificación de fármacos en fase sólida Duran-Álvarez *et al.* (2009) reportaron el uso de CG-MS utilizando como derivatizantes al MTBSTFA (para compuestos ácidos) y el BSTFA (para disruptores endocrinos). Previo al derivatización la muestra fue mezclada con tierra de diatomácea, extraída con acetona:hexano:ácido acético (50:509:2), evaporada y reconstituida con 20 ml de agua para posteriormente ser eluida. Los LD para compuestos

ácidos fueron entre 0.10-0.20 ng·g⁻¹ y de 1-10 ng·g⁻¹ para los disruptores endocrinos (2 ng·g⁻¹ LD para ACL y GFZ). Las recuperaciones oscilaron entre 62-112% consideradas aceptables y validando el método desarrollado. Este procedimiento ha sido utilizado en estudios posteriores (Gibson *et al.*, 2010; Durán-Álvarez *et al.*, 2012; Melo-Guimarães *et al.*, 2013).

2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 HIPÓTESIS

La remoción del ácido clofíbrico y gemfibrozil en biorreactores con membrana sumergida se realiza mediante biodegradación catabólica, siendo la sorción una componente del mecanismo. La biodegradación puede ser favorecida por un mayor tiempo de retención de la biomasa en el reactor o por el proceso de nitrificación

2.2 OBJETIVO GENERAL

Determinar el mecanismo de remoción de los compuestos fármacos reguladores de lípidos gemfibrozil y ácido clofíbrico mediante el uso de biorreactores con membranas sumergidas.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la contribución de los principales procesos (biodegradación, adsorción y desorción) en la remoción de ácido clofíbrico y gemfibrozil mediante biorreactores con membrana sumergida.
- Determinar la cinética de biodegradación del ácido clofíbrico y gemfibrozil utilizando un sistema de membrana sumergida
- Determinar el efecto de los principales parámetros de operación del sistema de biorreactores con membranas sumergidas (tiempo de retención hidráulica, sólidos suspendidos en el licor mezclado y tiempo de retención celular) sobre la remoción de ácido clofíbrico y gemfibrozil implementando seis diferentes cargas orgánicas.

2.4 ALCANCES

- Se utilizará un reactor de 10 L a escala laboratorio.
- Se implementaran los métodos analíticos para la determinación del ácido clofíbrico y gemfibrozil en fase líquida y sólida

3. METODOLOGÍA

El sistema experimental estuvo constituido por dos biorreactores de membrana sumergida a escala piloto, los cuales operaron durante 390 días. Se utilizó agua sintética fortificada con concentraciones de 4 y 6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de ACL y GFZ respectivamente, nutrientes y metanol como fuente de carbono. Para evaluar la remoción de los fármacos se implementó una técnica analítica para su identificación y cuantificación tanto en matriz sólida como líquida. La operación del sistema se dividió en tres diferentes fases experimentales para cada reactor en las cuales se analizaron seis diferentes cargas orgánicas y TRC, así como, tres diferentes concentraciones de SSTLM. Se determinó el coeficiente de adsorción y la cinética de reacción para ambos fármacos. Por medio del balance de masa se determinó el principal mecanismo de remoción.

3.1 Implementación de la técnica analítica

3.1.1 *Reactivos*

Como fármacos se utilizó el ACL y GFZ con un grado de pureza >98%, el trimetilsilil diazometano, (MTSDM) 2M solución en hexano, el MTBSTFA como agentes derivatizantes y el 4-4 diclorobifenilo como surrogado estándar, todas obtenidas por Sigma-Aldrich. Como disolventes se utilizó metanol, hexano y agua grado HPLC.

3.1.2 *Cromatografía de gases (CG)*

Se utilizó un cromatógrafo de gases con trampa iónica VARIAN CP-3800 equipado con una columna capilar VF-5ms (5% fenil + 95% dimetilpolisiloxano) de 30 m de longitud, 0.25 de diámetro y 0.25 μm de grosor el cual esta acoplado a un espectrómetro de masas/masas VARIAN SATURN 2200. El gas acarreador que se utilizó fue helio (99.99% de pureza).

3.1.3 *Espectrometría de masas/masas (MS/MS)*

En lo que respecta al espectrómetro de MS-MS se realizaron diferentes modificaciones a las condiciones de operación del equipo tales como: operación en el modo SCAN (todos los iones) y SIM (monitoreo selectivo de iones), amplitud de excitación, voltaje del multiplicador entre otros, con el objetivo de determinar las condiciones óptimas de operación del espectrómetro de masa/masas para la detección y cuantificación de los fármacos reguladores de lípidos en concentraciones trazas.

3.1.4 *Estrategia para la detección del GFZ Y ACL*

Como estrategia para la detección y cuantificación de los compuestos mediante CG/MS/MS se realizaron varias pruebas en soluciones sintéticas con el objetivo de identificar los tiempos de retención bajo las condiciones de operación del laboratorio y cuantificar a los compuestos en estudio en concentraciones trazas. Se muestra a continuación la estrategia para la detección de estos compuestos reguladores de lípidos.

1. Detección de los compuestos individuales en concentraciones de $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (preparar soluciones estándares)
2. Variación de las condiciones de operación del cromatógrafo de gases y del espectrómetro de MS/MS
3. Optimización de la derivatización: tiempo de derivatización y cantidad de derivatizante.
4. Detección de los compuestos mezclado en bajas concentraciones ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$).

Una vez seleccionada la columna, se obtuvieron las condiciones óptimas del cromatógrafo y del espectro de MS/MS y se procedió a realizar la validación del método, determinándose: la linealidad, los límites de detección (LD) y cuantificación del método (LC) de los compuestos en la extracción tanto en la fase líquida así como la extracción en fase sólida. Además se realizó la linealidad del método (tratamiento de la muestra).

3.2 Sistema experimental

El sistema experimental estuvo constituido por 3 reactores biológicos cilíndricos semi-automatizados a escala laboratorio, con un volumen útil de 6.5 L con diferentes condiciones de operación. En cada reactor se sumergió un módulo de membranas de ultrafiltración de fibra hueca de polisulfona (General Electric) con un tamaño de corte molecular de 100 kDa y con un área superficial de 0.042 m^2 .

Cada reactor contó con una bomba para la transferencia del agua, un arreglo de válvulas solenoides y temporizadores (reloj programable) con el fin de llevar a cabo ciclos de succión/retrolavado.

La alimentación se llevó a cabo por medio de una bomba peristáltica tipo Masterflex de control variable en forma continua. El sistema contó con un medidor de nivel en cada reactor y tuberías de drenado de emergencia (Figura 3.1).

La aireación se realizó por medio de difusores de piedra porosa colocados por debajo del módulo de membranas, para permitir un mezclado completo de la biomasa y reducir el efecto de taponamiento. La aireación se controló por medio de un rotámetro (GILMONT[®]), asegurando concentraciones de oxígeno disuelto mayores de $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Cada reactor contó con 2 válvulas solenoides conectadas a un temporizador para controlar el paro y arranque de la bomba de succión y la de retrolavado.

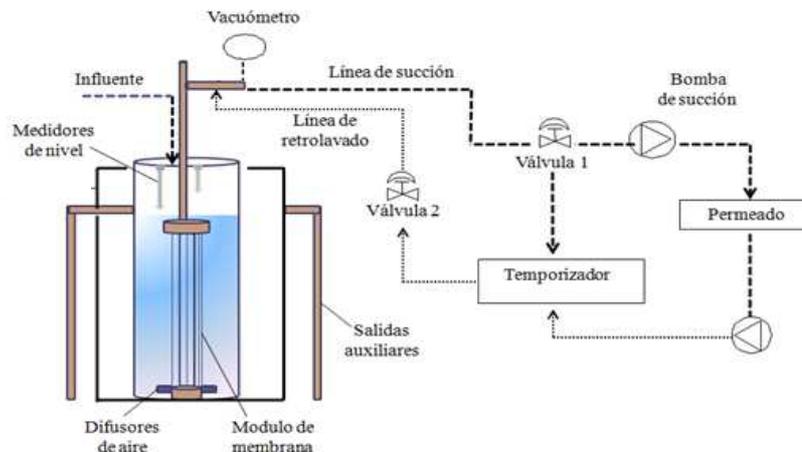


Figura 3.1 Diagrama del sistema experimental.

3.3 Agua residual modelo

Se utilizó agua residual sintética, compuesta por 2 fármacos reguladores de lípidos: GFZ y ACL. Los criterios para la selección de los fármacos fueron basados en estadísticas que indican que en México existe un gran número de personas con colesterol alto y por consecuencia existe un gran consumo de estos fármacos, los cuales al ser excretados pueden generar bioacumulación y persistencia en el medio ambiente, problemas tanto en la salud así como en organismos acuáticos como algas, moluscos, crustáceos y peces (Smital, 2008). Se adicionó como fuente de carbono de 533 a 660 mg de metanol por cada litro de agua sintética a preparar con el objeto de obtener una DQO de $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. La concentración de metanol utilizada no afectó a los microorganismos (US-EPA., 1994). En la Tabla 3.1 se presentan los nutrientes que se adicionaron. Las concentraciones de los fármacos que se adicionaron al agua sintética fueron seleccionadas de acuerdo a las reportadas en la literatura en aguas residuales municipales de México (Gibson *et al.*, 2007).

3.4 Presión crítica y subcrítica

Para definir las condiciones hidrodinámicas óptimas y disminuir los efectos de ensuciamiento de las membranas se realizaron pruebas para la determinación de las presiones críticas y subcríticas con los métodos de flux por pasos reportado por Denfrance y Jaffrin (1999). Las pruebas hidráulicas se realizaron con agua desionizada con el objeto de observar su comportamiento sin material colmatante y posteriormente las pruebas se realizaron con biomasa con una cantidad de SSTLM de $10,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Se realizaron pruebas hidráulicas con agua desionizada para observar el comportamiento y la relación que existe entre la PTM y el flux. Las pruebas se llevaron a cabo en un reactor escala laboratorio, con un volumen útil de 10 L, se utilizó una membrana de ultrafiltración de fibra hueca de polisulfona (General Electric) con un tamaño de corte molecular de 100 kDa y un área superficial de 0.042 m^2 . Las pruebas se realizaron manteniendo diferentes intervalos de presión (3.39-17 kPa) durante 20 min.

Tabla 3.1 Composición del agua residual sintética.

COMPUESTO	mg·L ⁻¹
Metanol	533-667
NH ₄ Cl	90
K ₂ HPO ₄	9
KH ₂ PO ₄	8.4
FeSO ₄ ·7H ₂ O	17.4
(NH ₄) ₆ Mo ₇ ·4H ₂ O	0.01
CaCl ₂ ·2H ₂ O	4.4
MgSO ₄ ·7H ₂ O	12.2
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.13
MnSO ₄ ·H ₂ O	0.04
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.03
ACL	0.4 (μg·L ⁻¹)
GFZ	0.8 (μg·L ⁻¹)

3.5 Pruebas abióticas

Para determinar la cantidad de GFZ y ACL adsorbido en las membranas, mangueras y paredes del reactor se realizaron dos pruebas usando:

- Agua desionizada con GFZ y ACL
- Agua desionizada con GFZ, ACL y oligo-elementos

Se prepararon 30 L de agua desionizada y se adicionaron los fármacos GFZ y ACL hasta obtener una concentración de 3.2 μg·mL⁻¹. Las pruebas abióticas se realizaron tomando 2 L de muestra del efluente al tiempo inicial, 24 h y 48 h. Las muestras fueron recolectadas en botellas de color ámbar de 1 L. Se analizó de inmediato 1 L de muestra de cada reactor y el restante se refrigeró y analizó a las 192 h. Las pruebas se realizaron en los tres reactores del sistema experimental. En la Tabla 3.2 se muestran las variables en cada prueba o reactor.

Tabla 3.2 Pruebas abióticas en cada reactor.

REACTOR	R1	R2	R3
Tipo de operación	Reactor con membrana y aireación	Reactor sin membrana con aireación	Reactor sin membrana sin aireación
Objetivo a evaluar	Adsorción en la membrana	Perdidas por volatilización	Adsorción en las paredes del reactor y tuberías

3.6 Arranque y condiciones de operación del sistema

Los reactores fueron inoculados con biomasa de un sistema de lodos activados proveniente de una planta de tratamiento. El sistema operó en régimen continuo durante la experimentación y no se modificó la composición del agua residual sintética. Los parámetros TRH y TRC se variaron en tres niveles y se utilizaron seis diferentes cargas orgánicas.

3.7 Muestreo del sistema y métodos de análisis

Para tener un buen seguimiento del comportamiento y control del sistema los parámetros fueron evaluados de manera periódica en diferentes puntos del muestreo.

Con el objeto de observar si el TRC, la F/M y los SSTLM se ven influenciados sobre la remoción de ACL y GFZ se utilizaron diferentes condiciones en los 3 reactores, el programa de monitoreo y control del biorreactor se presentan en la Tabla 3.3. En la Tabla 3.4 se presentan las técnicas contenidas en el Standar Methods For Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012).

Tabla 3.3 Condiciones de operación del sistema durante la experimentación.

BMR	PARÁMETROS				
	F/M (kg DQO·kg SSTLM ⁻¹ ·d ⁻¹)	TRC (días)	TRH (h)	SSTLM (mg·L ⁻¹)	Q (L·h ⁻¹)
R1	0.48	11	4	10,000	1.6
	0.77	5	4	6,000	1.6
	0.43	10	7	6,000	0.9
R2	0.34	20	10	6,000	0.7
	0.26	16	7	10,000	0.9
	0.21	32	10	10,000	0.7

Tabla 3.4 Monitoreo del sistema

PARÁMETRO	PUNTO DE MUESTREO	FRECUENCIA
pH		
Temperatura	I, R, P	Diario
OD		
SSTLM, SSV	R	1 vez por semana
DQO	I, P	3 vez por semana
Compuestos emergentes	I, P, R (fase líquida y biomasa)	1 vez por semana

I: influente, R: reactor, P: permeado.

Tabla 3.5 Técnicas utilizadas para el control del sistema

PARÁMETRO	TÉCNICA
pH	
Temperatura	
Potencial redox	Potenciométrico
OD	
DQO	APHA, 1999
SSTLM y SSV	APHA, 1999
GFZ y ACL	GC-MS

3.8 Determinación del coeficiente de adsorción K_d en el lodo activado

Para poder efectuar resultados confiables deben realizarse estudios basados en los procesos físicos y químicos que tienen lugar sobre los compuestos considerados. En este caso al existir biomasa dentro del reactor se tiene que considerar el fenómeno de adsorción.

Para la determinación del coeficiente de adsorción del GFZ y ACL autores como Xu *et al.* (2008) y Ternes *et al.* (2006) mencionan que las formas utilizadas es mediante el uso de isotermas de adsorción, por lo que en este estudio se realizaron pruebas de jarras con 6 diferentes concentraciones de los fármacos ACL y GFZ a través del tiempo hasta alcanzar un equilibrio en la concentración de cada jarra. Una vez alcanzado el equilibrio químico, son los procesos de adsorción y/o desorción los que controlan el destino de los fármacos. Como resultado de la adsorción, una parte de los fármacos es retenida por la biomasa y otra permanece en solución. La relación entre la concentración adsorbida y en solución se denomina coeficiente de partición o de distribución K_d (Appelo y Postma, 1993; Göbel *et al.*, 2007).

Las pruebas se realizaron con la biomasa contenida en los BRM al término de la experimentación. Para prevenir la biodegradación de los fármacos, se inactivó la biomasa con $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de HgCl_2 24 h antes de comenzar las pruebas y se mantuvieron así por un tiempo de exposición de 14 h (Garzón *et al.*, 2003). Para eliminar el compuesto tóxico la biomasa fue lavada con agua fresca varias veces. Para corroborar la no-actividad de la biomasa se determinó la tasa de respiración. Posteriormente, la biomasa inactivada fue aforada a 2 L con agua desionizada y fue agregada en botellas aforadas a 500 mL, las cuales contenían los fármacos con las siguientes concentraciones de ACL de: 2.1, 1.1, 0.77, 0.52, 0.15 y $0.05 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y para el GFZ de: 1.3, 0.8, 0.5, 0.3, 0.2 y $0.1 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. La concentración de los SSTLM y SSV determinados en las botellas aforadas fue de $564.9 \pm 5.26 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Durante toda la prueba las botellas se mantuvieron en agitación a una velocidad 120 r.p.m. Dos muestras fueron tomadas en el sobrenadante en intervalos de tiempo de 0, 30, 60, 120, 360 y 510 min y analizadas por CG-MS. La cantidad de soluto adsorbido por unidad de lodo en el estado de equilibrio fue calculado por la Ecuación 3.1, y para la determinación de K_d se utilizó el modelo lineal de la Ecuación 3.2.

$$\frac{x}{m} = \frac{S_0 - S_{eq}}{m} \cdot V \quad \text{Ecuación 3.1}$$

$$\frac{x}{m} = K_d \cdot S_{eq} \quad \text{Ecuación 3.2}$$

Dónde:

V, es el volumen de la solución, L

S_0 , concentración inicial, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

S_{eq} , concentración en equilibrio, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

m, peso del lodo, g

K_d , Coeficiente de adsorción

3.9 Determinación de la cinética de remoción en reactores discontinuos

Para determinar el mecanismo de remoción de los fármacos se realizaron cinéticas de remoción en reactores tipo discontinuos con un volumen útil de 2.5 L cada uno. Las pruebas se realizaron con biomasa nitrificante provenientes de los BRM (al término de la experimentación). Los parámetros a los cuales operaron todos los reactores se presentan en la Tabla 3.6. Las muestras fueron colectadas en botellas color ámbar en los siguientes intervalos de tiempo: 0, 30 (R1), 70 (R2), 190 (R3), 370 (R4), 550 (R5), 670 (R6), 1440 (R7) tanto en biomasa (sedimentada) como el líquido (sobrenadante) e inmediatamente se ajustaron a pH 3 (para acidificar la muestra e impedir que continúe su degradación) con HCl concentrado para posteriormente filtrarse (filtros de fibra de vidrio 120 mm) y analizarse por GC-MS.

Tabla 3.6 Parámetros de operación cinéticas de remoción en reactores discontinuos

PARÁMETRO	CONCENTRACIÓN
SSTLM	1600 mg·L ⁻¹
pH	7
OD	2 mg·L ⁻¹
ACL	1 µg·L ⁻¹
GFZ	3 µg·L ⁻¹

Para la determinación del orden de la reacción se utilizaron los modelos de orden cero (Ecuación 3.3), de primer orden (Ecuación 3.4) y Monod (Ecuación 3.5) basados en Levenspiel (1992) y Fogler (2001).

$$\frac{dS}{dt} = k \quad \text{Ecuación 3.3}$$

$$\frac{dS}{dt} = kS \quad \text{Ecuación 3.4}$$

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S} \quad \text{Ecuación 3.5}$$

Dónde:

S, Concentración soluble del compuesto, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

t, tiempo, d

k, constante de reacción

SST, concentración de sólidos suspendidos totales, $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

μ , tasa de crecimiento específico de la biomasa, d^{-1}

μ_{max} , tasa máxima de crecimiento específico de la biomasa, d^{-1}

K_s , constante de saturación $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

3.10 Balances de masa

Con el objeto de obtener la remoción por degradación y por adsorción de los fármacos ACL y GFZ tanto en la fase sólida (biomasa) como líquida en el BRM se realizó un balance de masa. En la Figura 3.2 se presenta el esquema con las variables a considerar y en la Tabla 3.7 su especificación.

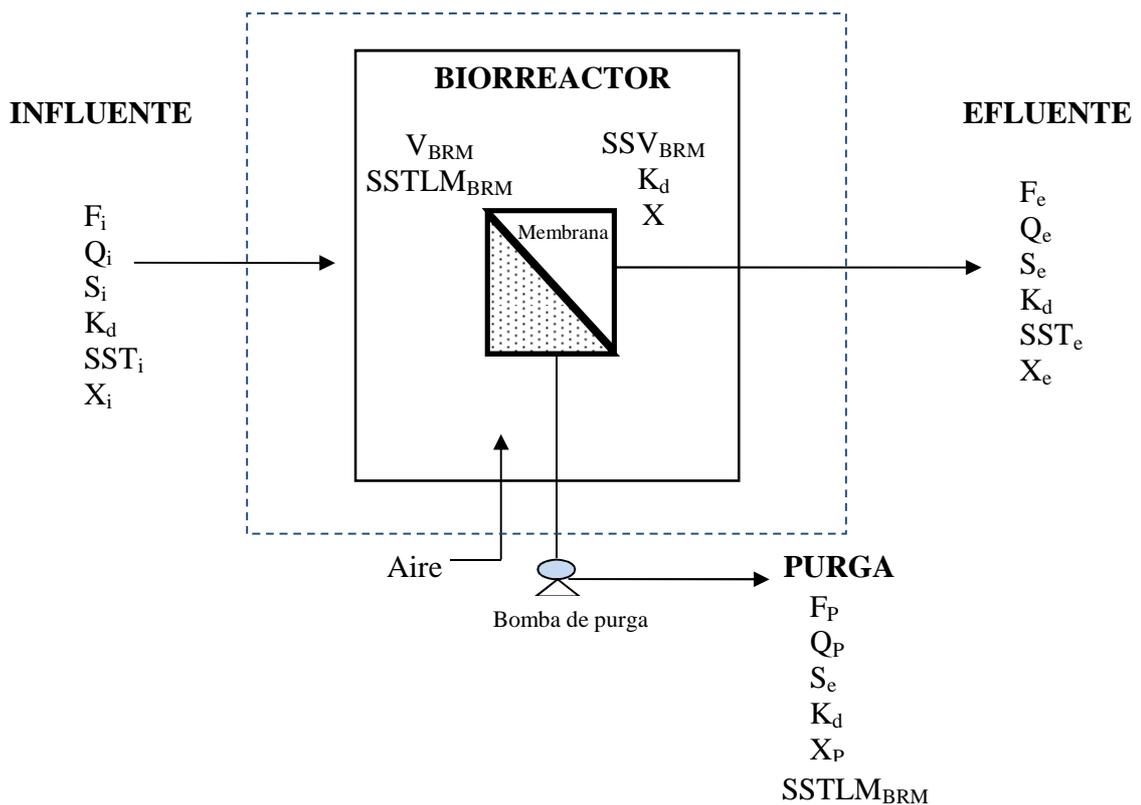


Figura 3.2 Balance de masa en el BRM.

Debido a que los sistema BRM han reportado la nula o baja presencia de SST en los efluentes al ser utilizados en el tratamiento de aguas residuales, se consideró para este balance que los $SST_e = 0$ y de igual manera se consideró para los SST_i al tratarse de un agua residual sintética.

Tabla 3.7 Especificación de las variables utilizadas en el balance de masa del sistema BRM.

FLUJO MÁSIICO DEL FÁRMACO , $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$		CAUDALES, $\text{L}\cdot\text{d}^{-1}$	
Símbolo	Definición	Símbolo	Definición
F_i	Influente	Q_i	Influente
F_e	Efluente	Q_e	Efluente
F_p	Purga	Q_p	Purga

CONCENTRACIÓN DE LOS SÓLIDOS SUSPENDIDOS, $\text{kg}\cdot\text{L}^{-1}$		CONCENTRACIÓN DE FÁRMACOS EN SÓLIDOS, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
Símbolo	Definición	Símbolo	Definición
SST_i	Totales influente	X	Sólido biomasa
SST_e	Totales efluente	X_i	Sólidos influente
$SSTLM_{BRM}$	Totales BRM	X_e	Sólidos efluente
SSV_{BRM}	Volátiles BRM	X_p	Sólidos purga

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACOS, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		OTRAS ESPECIFICACIONES	
Símbolo	Definición	Símbolo	Definición
S_i	Influente	K_d	Coefficiente adsorción
S_e	Efluente	V_{BRM}	Volumen BRM, L

Tomando en cuenta el concepto de entrada igual a salidas (Felder y Rousseau, 2004) el balance se enfocó en las concentraciones de ACL y GFZ tanto en la fase líquida como en la fase sólida con las siguientes ecuaciones:

$$F_i = Q_i(S_i + SST_i \cdot X_i) \quad \text{Ecuación 3.6}$$

$$F_e = Q_e(S_e + SST_e \cdot X_e) \quad \text{Ecuación 3.7}$$

$$F_P = Q_P(S_e + SST_{LM_{BRM}} \cdot X_P) \quad \text{Ecuación 3.8}$$

4. RESULTADOS

4.1 Método analítico

4.1.1 Condiciones de operación y detección del ACL y GFZ.

Para la identificación de los compuestos fármacos se probaron diferentes condiciones de operación de acuerdo con las utilizadas por Patterson *et al.* (2000), Reddersen y Herberer (2002) y Gibson *et al.* (2007). Se inyectaron muestras duplicadas de $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de ACL y GFZ así como mezcla de ambos compuestos en estudio con 2 diferentes derivatizantes (TSDM y el MTBSTFA). La detección de ambos fármacos se confirmó con su ion característico o precursor m/z de 122 para el GFZ y 128 para el ACL respectivamente (Figura 4.1).

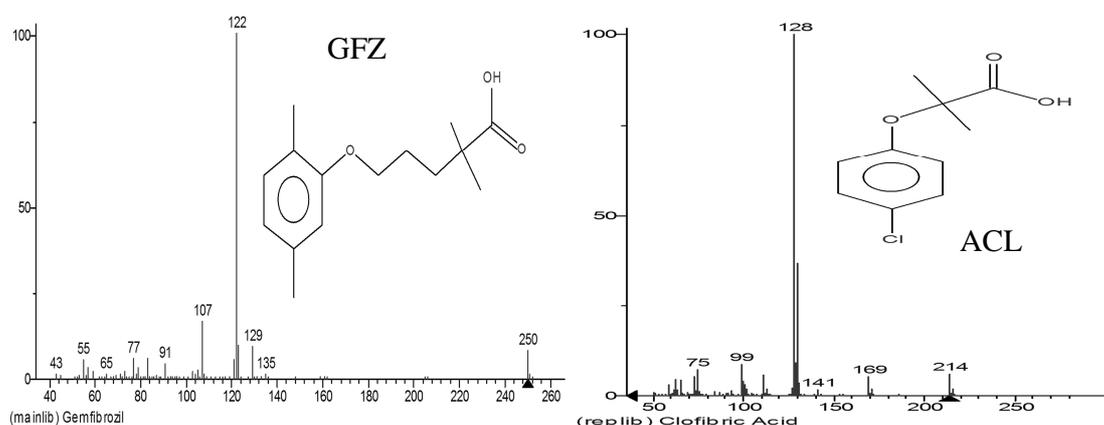


Figura 4.1 Ion precursor m/z del ACL y GFZ.

Una vez detectado sus iones se realizó una comparación de los picos detectados y cuantificados con ambos derivatizantes, siendo más clara la presencia del ACL con el TSDM al dar una relación 10:1 en tamaño del pico en comparación a la derivatización con el MTBSTFA. El tiempo de detección fue de 11.45 min con ambos derivatizantes (Figura 4.2.).

En la Figura 4.3 se muestra el cromatograma para el GFZ con los 2 diferentes derivatizantes y se observa nuevamente una mayor claridad con respecto a su presencia ya que el pico con el TSDM es más grande, además que el tiempo de retención es menor por 10 minutos con respecto al MTBSTFA reduciéndose de 30 a 20 min.

El tener una corrida más corta en tiempo aporta beneficios como el gasto de luz del equipo además de que se permitiría realizar un mayor número de corridas en un menor tiempo. Por tal motivo se decidió utilizar como agente derivatizante solo el TSDM y a partir del uso exclusivo de este compuesto se optimizó el método cromatográfico.

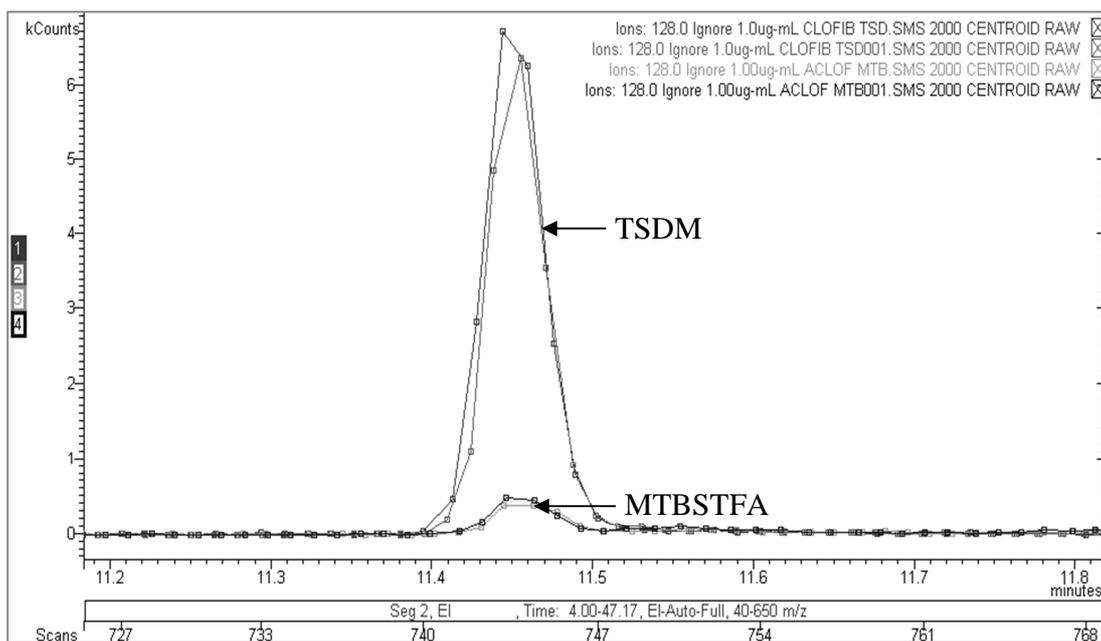


Figura 4.2 Cromatograma del ACL utilizando ambos derivatizantes.

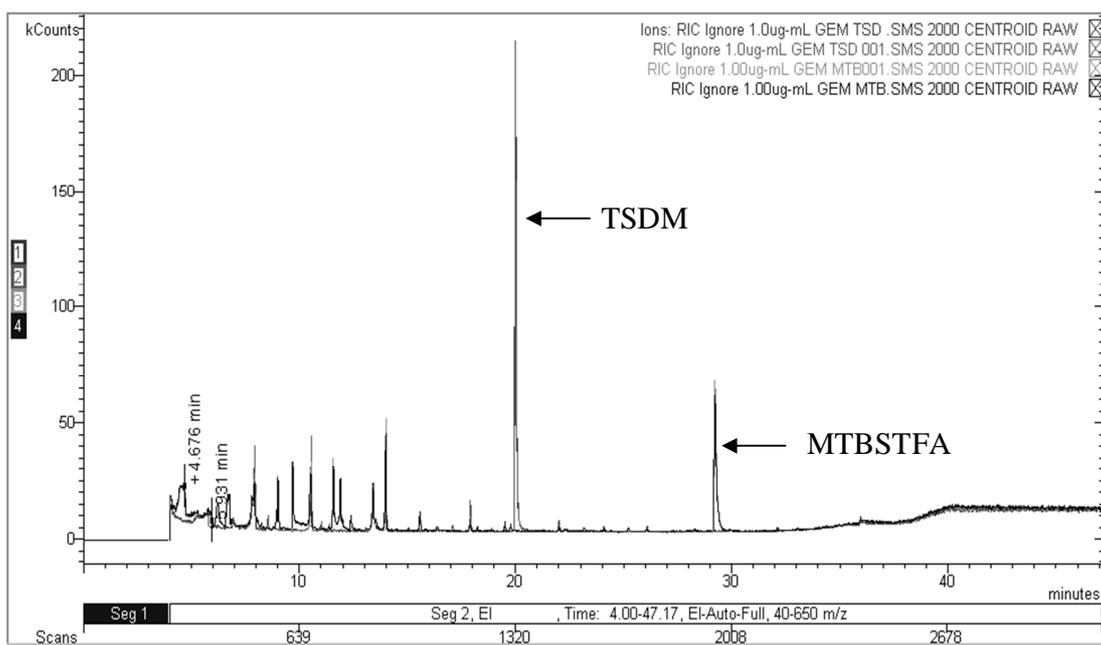


Figura 4.3 Cromatograma del GFZ utilizando ambos derivatizantes.

Fue necesario optimizar el método cromatográfico así como de la extracción en fase sólida con el objeto de obtener los mejores límites de detección y altos porcentajes de recuperación de los fármacos en estudio. GC-MS es una técnica apropiada para determinación de fármacos (Radjenovic *et al.*, 2009) aunque son generalmente derivatizados para aumentar su volatilidad y disminuir su interacción con la fase estacionaria (Petrovic *et al.*, 2003). En la Tabla 4.1 se presentan las condiciones de inyección del cromatógrafo obtenidas una vez realizada la optimización del método.

Tabla 4.1 Condiciones cromatográficas para la detección del ACL y GFZ.

CONDICIÓN CROMATOGRÁFICA	CARÁCTERÍSTICAS
Columna	VF-5ms, 5% fenil + 95% dimetil-polisiloxano de 30m de longitud de, 0.25 mm de diámetro y 0.25 μm de grosor.
Temperatura del inyector	280°C
Velocidad de flujo	1 mL·min ⁻¹
Volumen de inyección	1 μL
Modo de inyección	Split/splitless
Rampa de temperatura	65°C (2 min); 30°C·min ⁻¹ hasta 180°C; 15°C·min ⁻¹ hasta 230°C (1 min); 15°C·min ⁻¹ hasta 300°C (2 min).

El tiempo de detección final para los analitos de ACL y GFZ fue de 7.5 y 10 min respectivamente (Figura 4.4). Algunos autores han reportado tiempos mayores a los obtenidos en este estudio (Patterson *et al.* 2000, Reddersen y Herberer 2003), sin embargo la optimización del método permitió poder establecer una corrida más corta favoreciendo así a su detección.

4.1.2 Implementación de técnica analítica en fase líquida

Una vez detectados los compuestos se procedió a la validación del método cromatográfico con el objeto de garantizar una alta confiabilidad, sensibilidad y linealidad. Para la calibración de la curva del ACL se utilizaron concentraciones de 0.0025, 0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 y 0.16 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Para la curva de calibración del GFZ se utilizaron concentraciones de 0.0025, 0.005, 0.020, 0.04, 0.08, 0.08, 0.15 y 0.3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Tanto la curva de ACL y GFZ se realizaron por triplicado y se obtuvo una linealidad de $r^2 = 0.99$ en todos los casos.

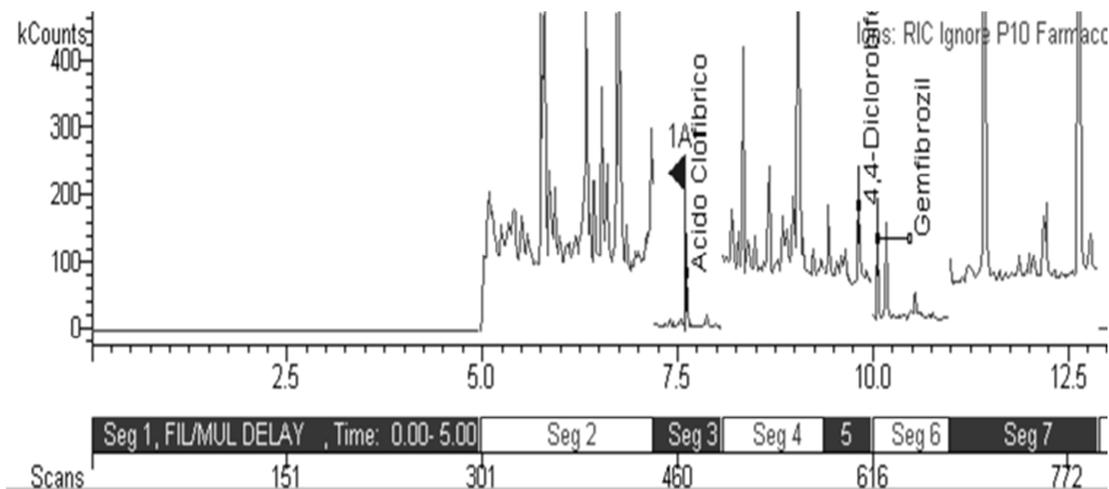


Figura 4.4 Optimización de los tiempos de detección del ACL y GFZ.

El cálculo de los LD se realizó mediante el valor promedio resultado de los blancos y la desviación estándar de las muestras sintéticas. Se obtuvieron valores de 0.3 y $0.6 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ de ACL y GFZ respectivamente.

Una vez obtenidos se determinaron los LC de 5.3 y $7.1 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ de ACL y GFZ respectivamente. La recuperación de las muestras se calculó con las concentraciones cuantificadas y las teóricas. En la Tabla 4.2 se presentan los resultados obtenidos (para $n=4$) en la fase líquida.

Tabla 4.2. LD, LC y % recuperación (para $n=4$) en la fase líquida.

COMPUESTO	LD $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	LC $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	RECUPERACIÓN, %
ACL	0.0026	0.0053	89 ± 2
GFZ	0.0033	0.0071	106 ± 4

Las muestras de biomasa fueron tomadas del licor mezclado contenido dentro del BRM (1 L). Para separar la fase líquida de la sólida, las muestras fueron sometidas a liofilización a -70°C hasta obtener 1g de masa seca. Posteriormente, las muestras fueron sometidas a tres extracciones (2 metanol, 1 acetona), sonicadas por 15 min y centrifugadas a 4000 RPM, durante un periodo de 15 min.

El sobrenadante fue tomado y filtrado a través de filtros de teflón of 0.45 μm . Para concentrar las muestras a 4 mL se utilizó nitrógeno para posteriormente llevarlas a la EFS (Figura 4.5) y reconstituirse en 500 mL de agua de grado HPLC a pH 2. Una vez que las muestras fueron inyectadas en el cromatógrafo se obtuvo la concentración instrumental y se determinó el LC y LD tomando la menor cantidad cuantificada de masa del ACL y GFZ como concentración teórica.

El método fue validado de acuerdo a la prueba de desempeño y cumplió con el criterio CAGC7-06. En la Tabla 4.3 se presentan los LC, LD y % de recuperación obtenidos.



Figura 4.5 Extracción en fase sólida de las muestras

Tabla 4.3 LD, LQ y % recuperación (para $n=4$) en la fase sólida

COMPUESTO	LD $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	LC $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	RECUPERACIÓN, %
ACL biomasa	0.0014	0.0026	90 \pm 2
GFZ biomasa	0.0025	0.0033	86 \pm 4

4.2 Determinación de las presiones críticas y subcríticas

En la Figura 4.6 se puede observar que a medida que aumenta la PTM el flux también aumenta. Sin embargo, una de las características de las membranas es que se puede trabajar con flux altos pero con presiones bajas (Defrance y Jaffrin, 1998). Para el trabajo en estudio se observaron flux de $104 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ con presiones de 17 kPa con agua desionizada.

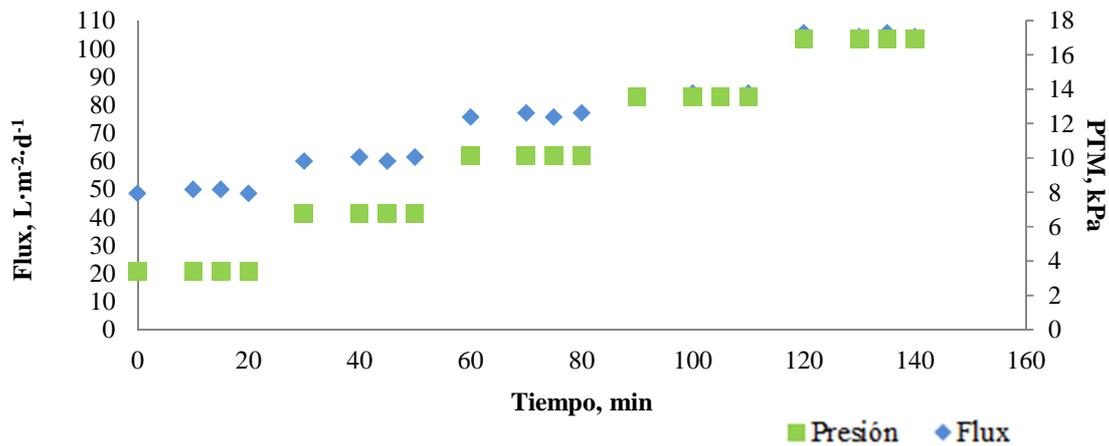


Figura 4.6 Comportamiento de la PTM con agua desionizada

Posteriormente las pruebas se realizaron con agua residual municipal para la determinación del punto crítico y subcrítico manteniendo fija la presión. En la Figura 4.7 se observa como a una PTM de 18 kPa el flujo es de $10 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ y una ΔK de 6.67, conforme aumenta la PTM aumenta el flux, sin embargo cuando se llega a una PTM de 59 kPa el flux comienza a disminuir y se obtiene un ΔK de 67.

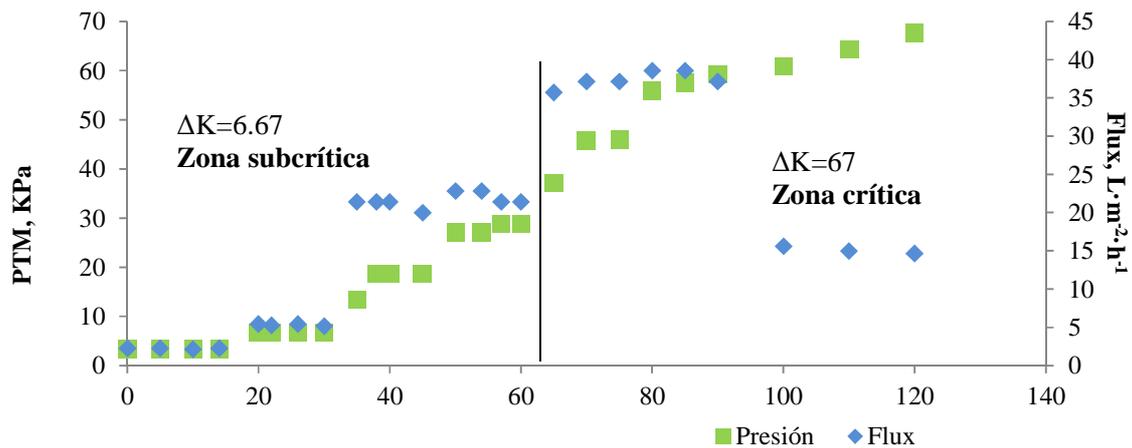
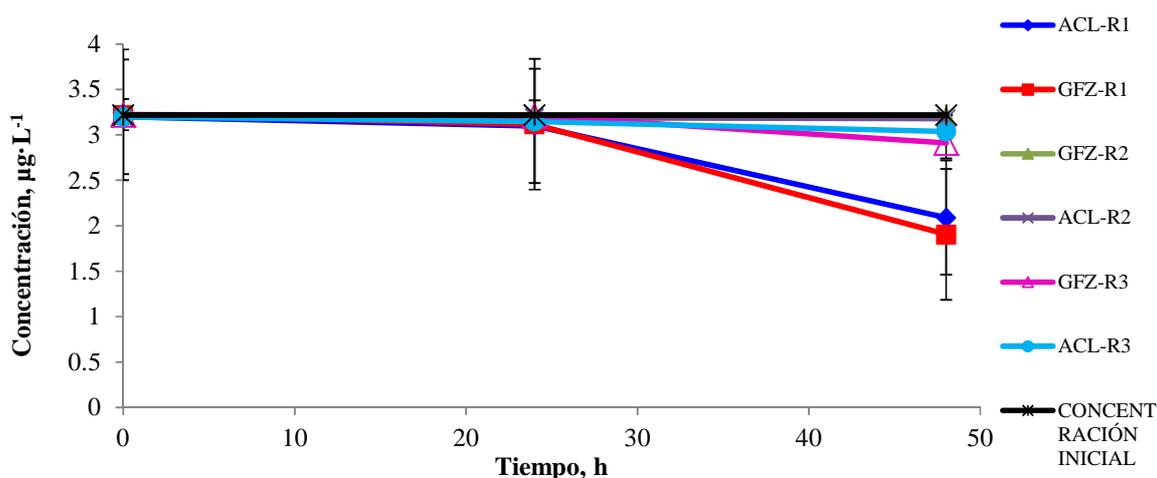


Figura 4.7 Comportamiento de la PTM con agua residual

Judd (2005) menciona que las condiciones críticas se alcanzan cuando se pierde más del 10% de la permeabilidad ($\Delta K = 10\% K$) para una condición fija de operación. Por lo tanto se determinó que la PTM óptima debe ser menor de 27 kPa con flux de $23 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$.

4.3 Pruebas abióticas

En la Figura 4.8 se observa como disminuye la concentración a los 3 diferentes tiempos en todos los reactores. En la prueba con la membrana de ultrafiltración y aireación (reactor 1) la mayor cantidad adsorbida se observa para el GFZ.



R1- con membrana y aireación; R2- sin membrana con aireación; R3- sin membrana sin aireación.

Figura 4.8 Concentración de fármacos a través del tiempo durante las pruebas abióticas

El porcentaje retenido de ACL y GFZ fue de un 35% y 41% respectivamente (Tabla 4.4). La mayor adsorción del GFZ puede atribuirse al tener mayor la hidrofobicidad que el ACL. Además de que existen puentes de hidrógeno entre la membrana de polisulfona y los compuestos en estudio (GFZ y ACL) lo cual provoca un enlace más fuerte entre el material de membrana provocando de esta manera una mayor adsorción sobre la membrana.

Tabla 4.4 Resumen de los resultados de las pruebas abióticas

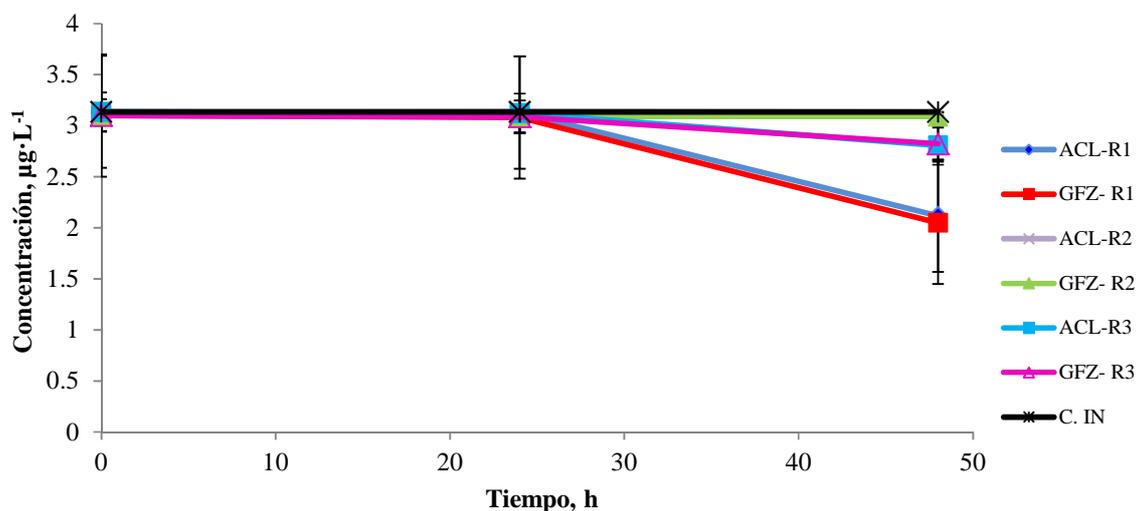
	ACL-R1	GFZ- R1	ACL-R2	GFZ- R2	ACL-R3	GFZ- R3
Concentración a 48 h, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	2 ± 0.6	2 ± 0.7	3 ± 0.01	3 ± 0.01	3 ± 0.1	3 ± 0.2
Retención a 48 h, %	35%	41%	0%	0%	5%	10%

En la prueba de volatilización (reactor 2) se confirmó que no hay pérdidas por volatilización. La prueba de adsorción en las paredes del reactor y en las mangueras (R3) indicó una retención de 5 y 10% para el ACL y GFZ respectivamente. Los resultados de las pruebas en R1 y R3 indicaron que la adsorción de ACL y GFZ es mayor en la membrana comparada con la adsorción en las paredes del reactor. Esto se atribuye a la mayor área superficial de la membrana.

Para la realización de la segunda prueba abiótica se prepararon 30 L de agua desionizada y se adicionaron 350 mL de solución nutritiva y oligo-elementos (composición del agua residual sintética) con el objeto de observar el efecto de la presencia de oligo-elementos en el agua sintética sobre los fenómenos de adsorción y volatilización en los reactores. Las muestras efluente fueron tomadas al tiempo inicial, 24 h y 48 h (2L) y recolectadas en botellas de color ámbar de 1L.

En la Figura 4.9 se observa el comportamiento de las concentraciones en cada prueba y en la Tabla 4.5 se presenta el resumen de los resultados obtenidos. En la prueba con la membrana de ultrafiltración y aireación (reactor 1), realizada para cuantificar la adsorción en la membrana, la presencia de sales en el agua provocó una disminución de la remoción de ACL y GFZ por adsorción en la membrana.

La disminución de la remoción fue mayor en un 8% para el GFZ comparada con la de ACL en un 3%. Esto se puede atribuir a una disminución de la hidrofobicidad de los compuestos y la superficie de la membrana debida al aumento de la fuerza iónica y la polaridad de la solución por la adición de las sales en el agua. En el reactor 2 nuevamente se confirmó que no existen pérdidas por volatilización. En el reactor 3 se observó que con el GFZ la adsorción sobre el acrílico no cambia sustancialmente, sin embargo, la adición de sales favoreció a la adsorción del ACL.



R1- con membrana y aireación; R2- sin membrana con aireación; R3- sin membrana sin aireación.

Figura 4.9 Concentración de fármacos a través del tiempo con nutrientes y oligoelementos

Tabla 4.5 Resumen de los resultados de las pruebas abióticas con oligo-elementos

	ACL-R1	GFZ- R1	ACL-R2	GFZ- R2	ACL-R3	GFZ- R3
Concentración a 48 h, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	2 ± 0.6	2 ± 0.6	3 ± 0.3	3 ± 0.01	3 ± 0.2	3 ± 0.2
Retención a 48 h, %	32%	33%	0%	0%	10%	8%

Con el fin de observar el tiempo en el cual la muestra puede ser analizada sin presentar cambios o bien determinar el tiempo de preservación de la muestra se utilizó el litro restante que fue tomado (mismo tiempo que el inicial y efluente de cada reactor) y, refrigerado con anterioridad.

Se realizó una comparación de las concentraciones de los influentes con y sin sustancia nutritiva y oligo-elementos al inicio y a las 192 h (Figura 4.10). En la Tabla 4.6 se observan las concentraciones obtenidas así como el porcentaje de retención.

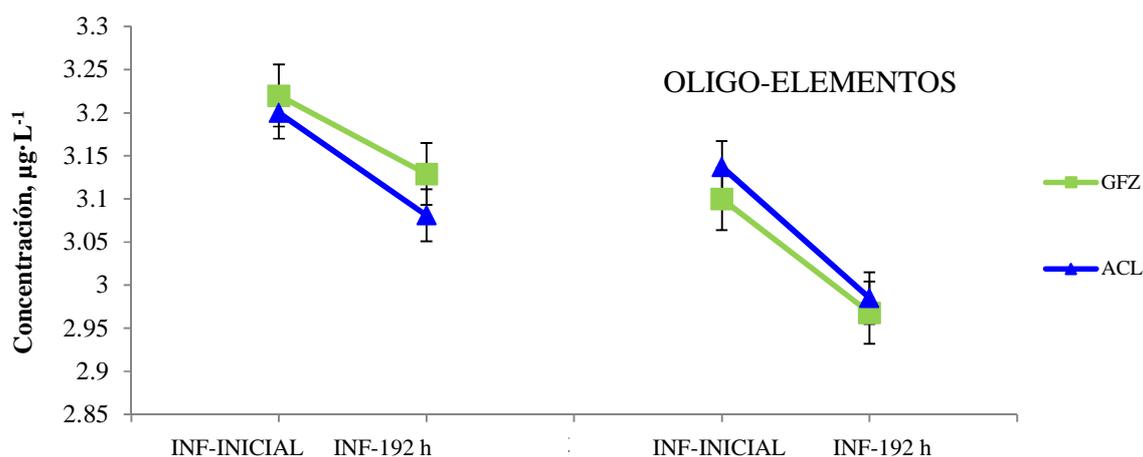


Figura 4.10 Comparación de concentración en agua desionizada y con oligo-elementos

Los resultados de los influentes indican un bajo porcentaje en pérdidas entre la muestra inicial y a las 192 h no mayor al 5 %, sin embargo, si se quiere un valor exacto las muestras deben ser analizadas una vez recolectadas.

Tabla 4.6 Concentración de los influentes a diferentes tiempos de análisis

Fármaco	AGUA DESIONIZADA			OLIGO-ELEMENTOS		
	Influente inicial, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Influente 192 h, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Pérdidas, %	Influente inicial, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Influente 192 h, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Pérdidas, %
GFZ	3.2±0.02	3.1±0.04	3%	3.1±0.02	3±0.03	4%
ACL	3.2±0.03	3.1±0.03	4%	3.1±0.02	2.9±0.02	5%

4.4 Desempeño de los reactores en la remoción de materia orgánica

La inoculación del sistema se realizó con lodos activados de la PTAR del IMTA. Se utilizaron 2 reactores de 10 L operados de forma intermitente para llevar a cabo la aclimatación del sistema. La concentración de DQO en el influente fue de $750 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y se utilizó metanol como fuente de carbono. Durante los primeros 72 días se observaron remociones mayores al 95 % en los 2 reactores con una F/M promedio de 0.08, 0.04 y $\text{kgDQO}\cdot\text{kgSSTLM}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ y concentraciones de sólidos de 4,000 y 10,000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ SSTLM para R1 y R2 respectivamente. Durante los siguientes 44 días se aumentaron los SSTLM con el objeto de obtener concentraciones de $10,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y mayores cargas orgánicas en los 2 reactores. Una vez alcanzadas las condiciones deseadas (F/M de 0.48, 0.22 $\text{kgDQO}\cdot\text{kgSSTLM}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ para R1, R2 respectivamente) el licor mezclado de cada reactor discontinuo se introdujo en el nuevo sistema experimental con membrana sumergida y se comenzó a alimentar de manera continua con agua sintética fortificada con una concentración de $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de ACL y $6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de GFZ. En México se han realizado estudios en el Valle del Mezquital con respecto a los fármacos en estudio y se han reportado concentraciones de hasta $0.22 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de GFZ (Siemens *et al.*, 2008). Gibson *et al.* (2007) reportó concentraciones mayores de este fármaco llegando hasta los $0.7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en el Emisor Central de México. Por tal motivo y de acuerdo a los concentraciones reportadas en México, a partir del día 174 desde el arranque se disminuyó la fortificación del agua sintética hasta obtener una concentración de 0.8 y $0.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de GFZ y ACL respectivamente (similares a las reportadas) y una vez teniendo las condiciones deseadas se comenzó la Fase 1 y posterior a su término se continuo con la Fase 2 y 3.

En la Tabla 4.7 se observan las remociones promedio de DQO, así como las cargas orgánicas utilizadas durante los diferentes periodos de operación. La remoción de DQO en los reactores discontinuos presentó valores mayores al 90%, una vez cambiado el licor

mezclado a los BRM se observó un decremento en la remoción de DQO lo cual se puede atribuir tanto al aumento de la carga orgánica, así como a la adaptación de los microorganismos al nuevo sistema.

El aumento de la carga orgánica afectó la remoción de DQO en los 2 diferentes reactores en la etapa de aclimatación del sistema, esto puede observar en la Figura 4.11 y Figura 4.12, sin embargo, una vez alcanzada la F/M deseada en cada reactor, se observa un incremento en la remoción de DQO. En la Fase 1 del R1 con TRC de 10 días y F/M de $0.48 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ puede observarse el incremento de la remoción de DQO durante los primeros 20 días (Figura 4.11) hasta alcanzar el 97% el día 201. La remoción promedio durante esta fase se calculó de 98 %. En la Fase 2 con el aumento de la carga orgánica ($0.77 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), la disminución de los SSTLM (a $6,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) y el TRC (a 5 d) se observó una continua remoción de DQO, en promedio las remociones en esta fase fueron de un 99%. Durante la Fase 3 la remoción promedio fue 99% a pesar de disminuir la F/M e incrementar el TRC.

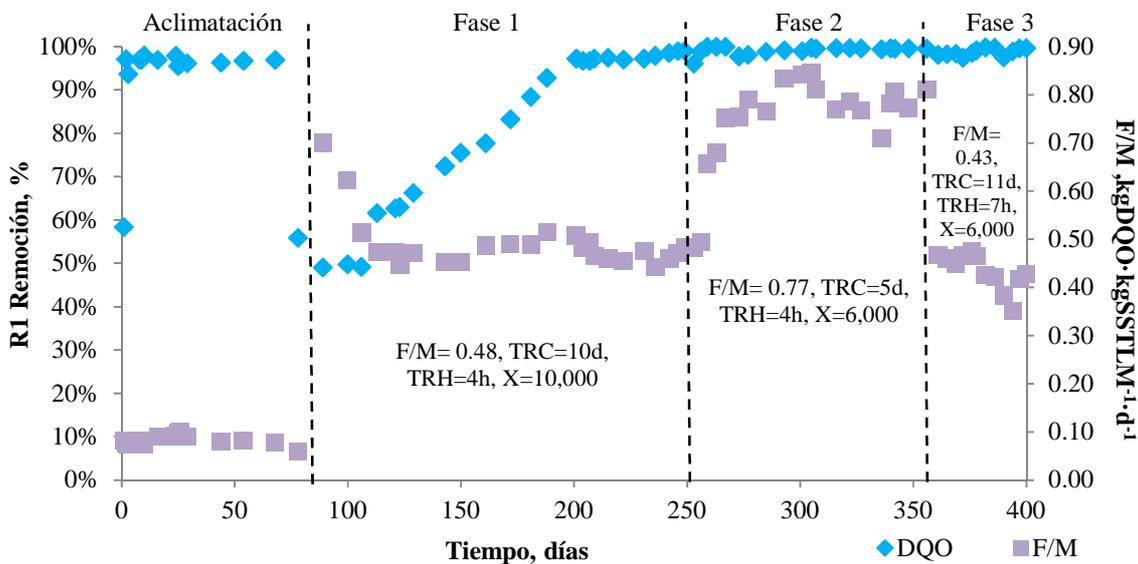


Figura 4.11 F/M y remoción DQO durante la experimentación del sistema en R1

En el R2 se operó durante la Fase 1 con una F/M de $0.21 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, $10,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de SSTLM y un TRC de 30 días y se observó incremento paulatino en la remoción de DQO alcanzando remociones máximas de 99%. El sistema no presentó cambios desfavorables en la remoción de DQO al incrementar la F/M ($0.34 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) y disminuir los SSTLM a $6,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, así como tampoco a los cambios presentados al cambiar de la Fase 2 a Fase 3 disminuyendo la (F/M $0.26 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), TRC (16 d) y TRH (7 h).

Tabla 4.7 F/M y remoción de DQO promedio en los diferentes periodos de operación

REACTOR 1		DÍAS DE OPERACIÓN	DQO inf	DQO efl	REMOCIÓN
FASE EXPERIMENTAL			mg·L ⁻¹	mg·L ⁻¹	%
Aclimatación					
Discontinuo		1-105	801±31	27±9	97±1
MBR		143-172	844±21	179±29	79±4
Fases					
1	F/M= 0.48, TRC=10d, TRH=4h, x=10,000	173-256	853±29	21±8	98±1
2	F/M= 0.77, TRC=5d, TRH=4h, x=6,000	257-356	853±38	6±4	99±1
3	F/M= 0.43, TRC=11d, TRH=7h, x=6,000	357-400	834±64	11±7	99±1
REACTOR 2					
FASE EXPERIMENTAL		Aclimatación			
Discontinuo		1-105	801±31	36±28	92±3
MBR		143-172	844±21	59±20	93±3
Fases					
1	F/M= 0.21, TRC=32d, TRH=10h, x=10,000	173-256	853±29	20±11	98±1
2	F/M= 0.34, TRC=20d, TRH=10h, x=6,000	257-356	854±38	3±2	100
3	F/M= 0.26, TRC=16d, TRH=7h, x=10,000	357-400	834±64	6±7	99±1

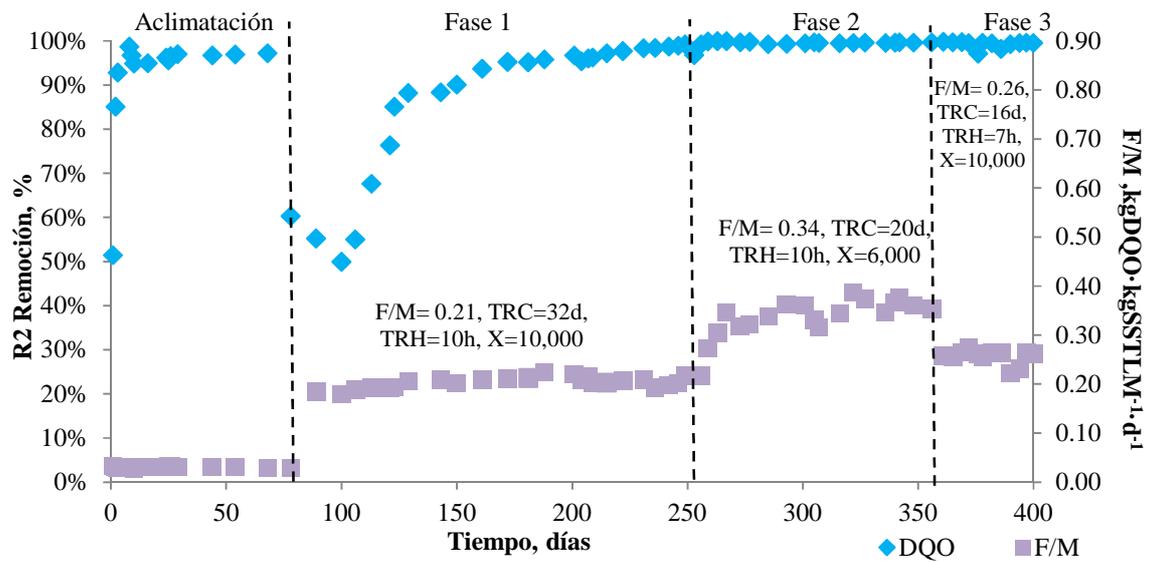


Figura 4.12 F/M y remoción DQO durante la experimentación del sistema en R2

Los resultados obtenidos indican que la variación de F/M entre 0.2 y 0.8 kgDQO kgSSTLM⁻¹·d⁻¹, y del TRC entre 5 y 30 d no influyeron significativamente sobre la remoción de la materia orgánica medida como DQO (Figura 4.13) y que en estas condiciones se pueden obtener remociones mayores de 99%, lo cual es congruente con lo reportado por Zwiener y Frimmel (2003), Clara *et al.* (2005), Radjenovic *et al.* (2007, 2008, 2009) y Serrano *et al.* (2011).

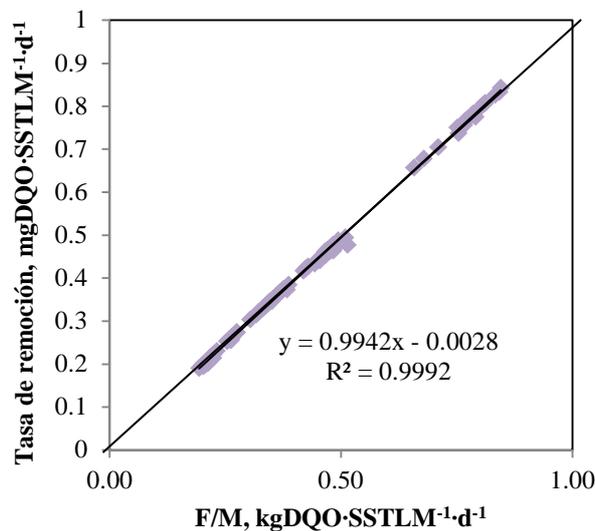


Figura 4.13 Tasa de remoción durante las diferentes cargas orgánicas aplicadas en R1 y R2

4.5 Remoción de ACL y GFZ con los diferentes parámetros de operación

La aclimatación del sistema se realizó con concentraciones de 5 y 6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de ACL y GFZ respectivamente en el agua sintética. El R1 (Figura 4.14) operó con TRC de 10 días y una F/M de 0.48 $\text{kgDQO}\cdot\text{kgSSTLM}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ durante la Fase 1. Como resultado se observó el crecimiento paulatino de la remoción de ambos fármacos hasta llegar a 97% de ACL y la completa remoción del GFZ en la etapa de aclimatación. Como ya se mencionó, a partir del día 174 se disminuyó la concentración del ACL y GFZ en el agua sintética a 0.8 y 0.4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Durante los primeros días de la Fase 1 (R1) se observó una disminución en la remoción de ACL (50%), sin embargo, con el paso de los días (50 días) la remoción aumentó en un 26 % más. El GFZ no presentó diferencia en su remoción al disminuir la carga del fármaco y se logró su completa remoción en esta fase. En la Fase 2 se aumentó la F/M al doble y se disminuyó el TRC (5 días), al inicio de la fase se observó un ligero decremento en la remoción del GFZ hasta en un 84% y en un 56 % para el ACL lo cual se puede atribuir al aumento de la F/M y al cambio de TRC, sin embargo, se observó la rápida recuperación de la remoción para el GFZ, por otro lado, esto no ocurrió con ACL. Al final de la Fase 2 se alcanzaron remociones de 100% para el GFZ, sin embargo el ACL no presentó uniformidad su remoción ya que en el día 332 de operación se registró una remoción de 73% y al día 334 la remoción bajo en un 16% reportando una remoción del 61% cabe hacer notar que la concentración del influente se mantuvo constante y que esto no ocurrió con el GFZ. Al final de la Fase 2 la remoción reportada fue de 59% de ACL. En la Fase 3 se disminuyó la F/M a 0.43 $\text{kgDQO}\cdot\text{kgSSTLM}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ y se aumentó el TRC y TRH. Con estos cambios en los parámetros de operación el GFZ no presentó cambios en su remoción y se mantuvo en 100%. El ACL se observó favorecido en esta fase ya que se obtuvieron remociones entre 60 y 79 %. Para mantener el TRC establecido para cada fase se realizaron purgas diarias en R1 de 0.65, 1.3 y 0.6 para la Fase 1, 2 y 3 respectivamente.

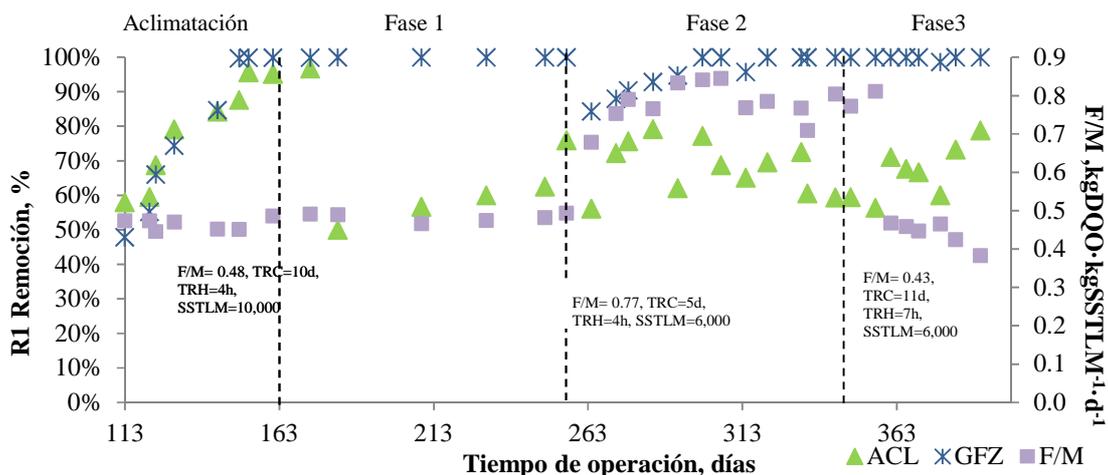


Figura 4.14 Remoción de ACL y GFZ en R1

En el R2 (Figura 4.15) se observaron remociones mayores al 89% de GFZ y ACL en la fase de aclimatación utilizando una F/M de $0.21 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, TRC de 30 días y TRH de 10 horas. Con la disminución de la concentración de los fármacos en el influente se observó el mismo fenómeno que en el R1; baja remoción del ACL durante los primeros días de la Fase 1 llegando a remociones mínimas de hasta un 80% y recuperándose al final de la fase con remociones máximas de 75%. El GFZ durante la transición a la Fase 1 no presentó diferencias en su remoción (100%), las condiciones de operación en esta fase fueron iguales a las de la aclimatación, sin embargo, en la transición de Fase 1 a la Fase 2 se observó un ligero decremento en la remoción de un 15% de este mismo fármaco y de un 47% para el ACL este comportamiento puede atribuirse al incremento de la F/M (de 0.21 a $0.37 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), el sistema se estabilizó en los 10 días posteriores de iniciada la fase logrando nuevamente una completa remoción de GFZ. Durante esta fase la remoción del ACL se fue incrementando hasta lograr una remoción máxima de 98% en los últimos 20 días de operación de esta fase (336-256).

Al comienzo de la Fase 3 con la disminución de carga orgánica nuevamente se vio afectada la remoción del ACL, sin embargo, el GFZ no presentó disminución en su remoción con este cambio y se mantuvo con una remoción de 100% durante el transcurso de esta última fase. Con respecto al ACL se observó una recuperación de su remoción a partir del día 382 hasta finalizar la fase con remociones del 84%.

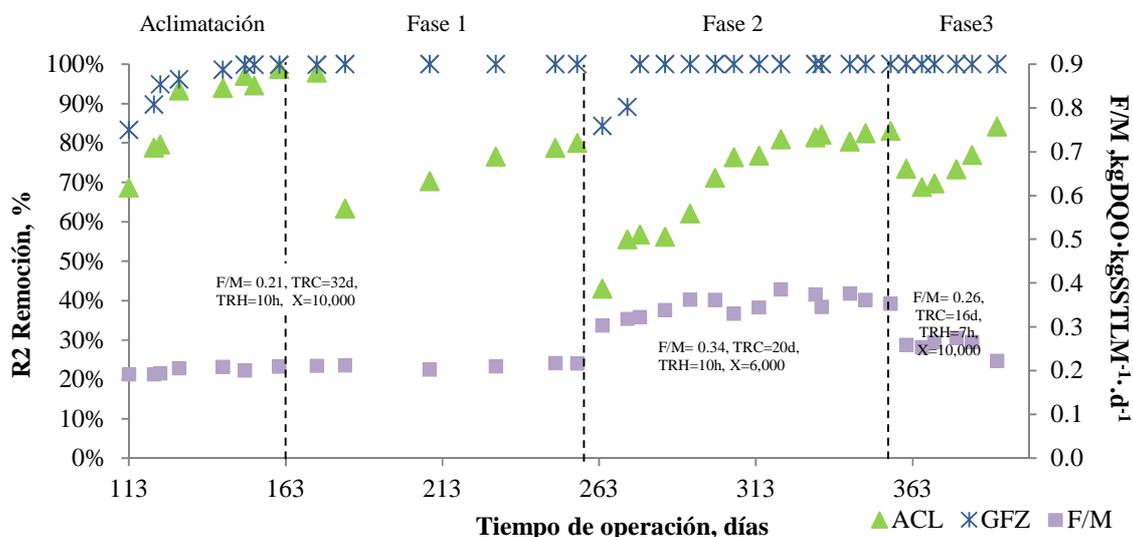


Figura 4.15 Remoción de ACL y GFZ en el R2

En la Tabla 4.8 se presentan los promedios de las remociones por fase, TRC, TRH y relación F/M. Con los resultados obtenidos se observa que la mayor remoción para el ACL (79%) se obtuvo con un TRC de 20 días y F/M de $0.34 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Con respecto al GFZ solo observó que con una F/M de $0.77 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ y menor TRC utilizado (5 d) la remoción baja en un 2%, con las otras 5 cargas orgánicas se obtuvo

una completa remoción de este compuesto. Considerando la remoción de ambos compuestos ACL y GFZ se podría considerar como los mejores parámetros de operación los correspondientes a la Fase 2 del R3 con F/M de $0.34 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, TRC de 20 días, SSTLM de $6,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y un TRH de 10 horas.

Tabla 4.8 Promedio de la remoción del ACL y GFZ por fase en los diferentes reactores

FASE	R1				R2			
	ACL, %	GFZ, %	F/M, $\text{kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	TRC, días	ACL, %	GFZ, %	F/M, $\text{kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	TRC, días
Aclimatación	81 ± 15	89 ± 14	0.48 ± 0.02	10	89 ± 11	98 ± 2	0.21 ± 0.01	32
Fase1	65 ± 10	100	0.48 ± 0.02	10	78 ± 2	100	0.21 ± 0.01	32
Fase2	69 ± 8	99 ± 2	0.77 ± 0.05	5	79 ± 4	100	0.34 ± 0.03	20
Fase 3	71 ± 6	100	0.43 ± 0.04	11	78 ± 6	100	0.26 ± 0.01	16

En la Figura 4.16 se muestran los valores promedio de la remoción del GFZ y ACL con respecto a F/M. La remoción de GFZ se vio afectada al aumentar la F/M a $0.77 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, con las F/M desde 0.21 hasta $0.48 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ se obtuvieron remociones de 100%.

En el caso del ACL la tendencia de disminución de la remoción con el aumento de la carga orgánica se observó con las cargas de 0.34 a $0.48 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Con la F/M de $0.21 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ se obtuvo una remoción similar a la obtenida con la carga de $0.34 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, siendo la concentración de biomasa mayor cuando se utiliza la menor carga orgánica esto debido a que con el sistema de membrana se consigue una alta concentración de sólidos. Con respecto al efecto del TRH se observa que para la SSTLM de $6,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ el TRH de 7 h permitió obtener una mayor remoción de GFZ, de 100%.

En el caso de una mayor cantidad de biomasa (SSTLM de $10,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) no se observó ningún efecto del TRH, se obtuvo 100% de remoción con los TRH estudiados de 7 y 10 h. La remoción de ACL no se vio favorecida por el TRH tanto en el caso de SSTLM de $6,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ como en el de SSTLM de $10,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Las menores remociones obtenidas tanto para el ACL como para GFZ se obtuvieron con un TRH de 4h.

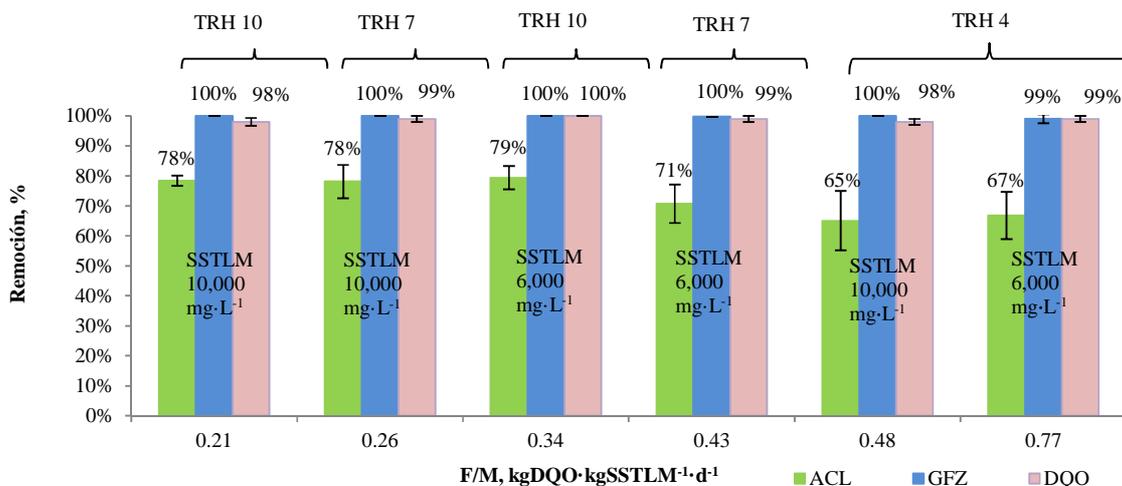


Figura 4.16 Promedio de la remoción del GFZ y ACL con respecto a F/M

En la Figura 4.17 se presentan los promedios de la remoción del GFZ y ACL con respecto al TRC. Para el GFZ se observa que con TRC de 5 d se obtuvo una remoción de 99%. Posteriormente con el incremento del TRC de 10 a 32 d se logró obtener una completa remoción del compuesto (100%), la cual se mantuvo hasta el término de la experimentación. Para el ACL se observa que hubo un incremento de la remoción al aumentar el TRC de 10 hasta 20 d, sin embargo con un TRC de 32 d se obtuvo también una remoción alta, similar a la obtenida con TRC de 20 d. En el caso de SSTLM bajos, de 6,000 mg·L⁻¹ la remoción aumentó al aumentar el TRC de 11 a 20 d pero no de 5 a 11 d.

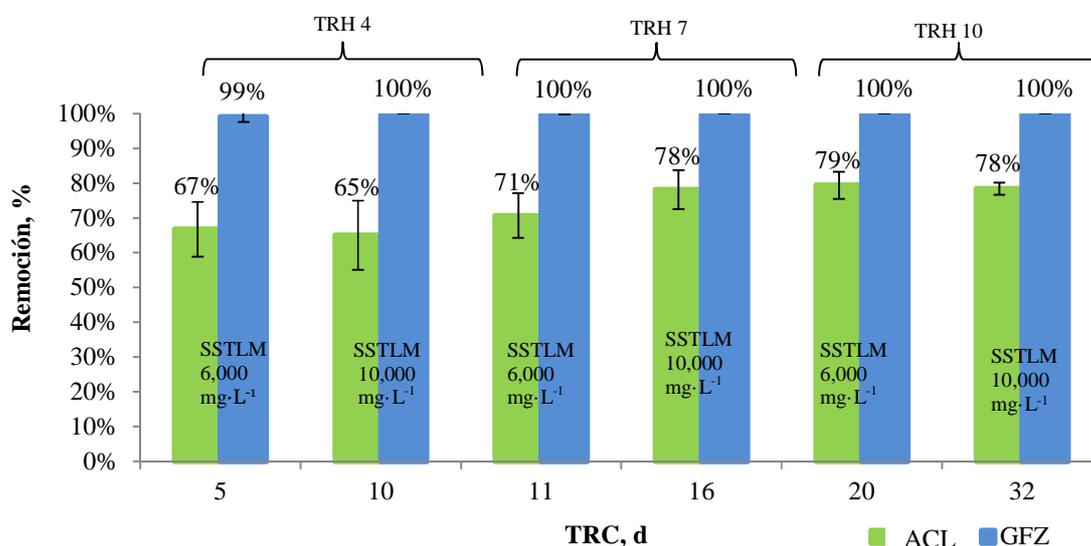


Figura 4.17 Promedio de la remoción del GFZ y ACL con respecto al TRC

Como se mencionó con anterioridad el aumento del TRH favorece la biodegradación, lo cual concuerda con este estudio y con los reportado por Hernando *et al.* (2004), Clara *et al.* (2005), Radjenovic *et al.* (2007 y 2009), Kosjek *et al.* (2007), Quinn *et al.* (2008), Sipma *et al.* (2010) y Kya *et al.* (2013). Las altas remociones de GFZ y ACL obtenidas en este estudio pueden atribuirse a que con altos TRC se favoreció el crecimiento de diversos microorganismos (enzimas) que metabolizaron los fármacos y los transformaron en productos a través del cometabolismo. Por otra parte, a menores F/M (0.21-0.33) y mayores TRC (condiciones oligotróficas) se permite que los microorganismos utilicen a los fármacos como fuente de carbono (Kyu *et al.*, 2013). Se ha reportado que el ACL es un fármaco persistente en el medio ambiente y su remoción tiende a ser baja. Posiblemente esto se atribuye a la presencia de cloro en su estructura, lo cual lo hace difícilmente degradable (Kimura *et al.*, 2007).

Las remociones de ACL obtenidas en esta investigación son similares a las reportadas por Zwiener y Frimmel (2003). Con respecto al GFZ las remociones reportadas en esta investigación son entre un 10 y 40 % más altas en comparación a las obtenidas por otros autores utilizando sistemas BRM (Urase *et al.*, 2005; Radjenovic *et al.*, 2009) y más del 50% de remoción comparado con sistemas convencionales (Jelic *et al.*, 2011; Gross *et al.*, 2010). Las mejores remociones de ACL se obtuvieron con las menores concentraciones de SSTLM. La alta concentración de lodo en los sistemas de BRM es benéfica para la biodegradación de productos farmacéuticos y a su vez permite obtener la remoción de microcontaminantes que tienden a acumularse en el lodo, ya sea debido a su intrínseca hidrofobicidad o por interacciones electroestáticas con la biomasa (Sipma *et al.*, 2010).

Debido a que la biomasa en los BRM está constituida por flóculos pequeños, se tiene una mayor área de contacto entre los microorganismos y los fármacos, lo cual favorece la degradación biológica e incrementa proporcionalmente su actividad enzimática logrando altas remociones del contaminante (Cicek *et al.*, 1998).

4.5.1 Presencia de ACL y GFZ en la biomasa

El registro de la presencia del ACL y GFZ comenzó a partir del día 129 con una concentración en la biomasa menor a $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. En esta fecha la remoción del ACL y GFZ fue alrededor del 70% (permeado) con una concentración en el influente de $5 \text{ y } 6 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Durante los días de operación 130 a 140 (Figura 4.18 y 4.19) se observó una progresiva tendencia a la disminución de la concentración de los fármacos en la biomasa. El día 153 no se detectó la presencia de ACL sino hasta el día 161 para posteriormente disminuir de una manera paulatina, sin embargo a partir del día 256 (Fase 2) no se observó concentración de ACL en la biomasa (con excepción del día 342) hasta el término de la experimentación. Con respecto al GFZ se observan incrementos y disminución en la concentración durante la etapa de aclimatación y Fase 1. Al comienzo de la Fase 2 no se detectó concentración de GFZ, con excepción del día 286 y en la Fase 3 el día 385. La nula presencia de los fármacos en la biomasa puede atribuirse a su adsorción en un inicio y posteriormente su degradación lo cual coincide con lo descrito por Radjenovic *et al.* (2008)

al mencionar que los fármacos en un sistema de BRM sumergida pueden ser removidos del agua residual por adsorción, biodegradación o ambos.

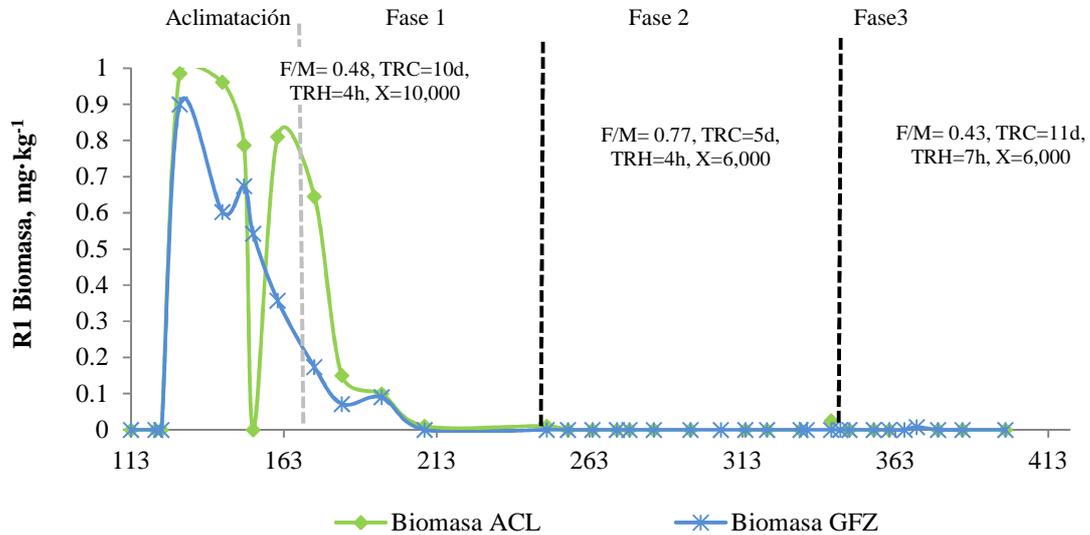


Figura 4.18 Concentración en R1 de ACL y GFZ en la biomasa

En la Figura 4.19 se presenta el comportamiento del ACL y GFZ en la biomasa con los parámetros de operación pertenecientes al R2, y se observa que ambos fármacos reportaron concentraciones por debajo del límite de detección partir del día 249, lo cual comparado con R1 fue en menor tiempo. Esto posiblemente sea atribuido al TRC ya que en R1 se utilizaron menores TRC durante la aclimatación y Fase1. Durante las siguientes fases solo se detectó la concentración de ACL en los días 296 y 385.

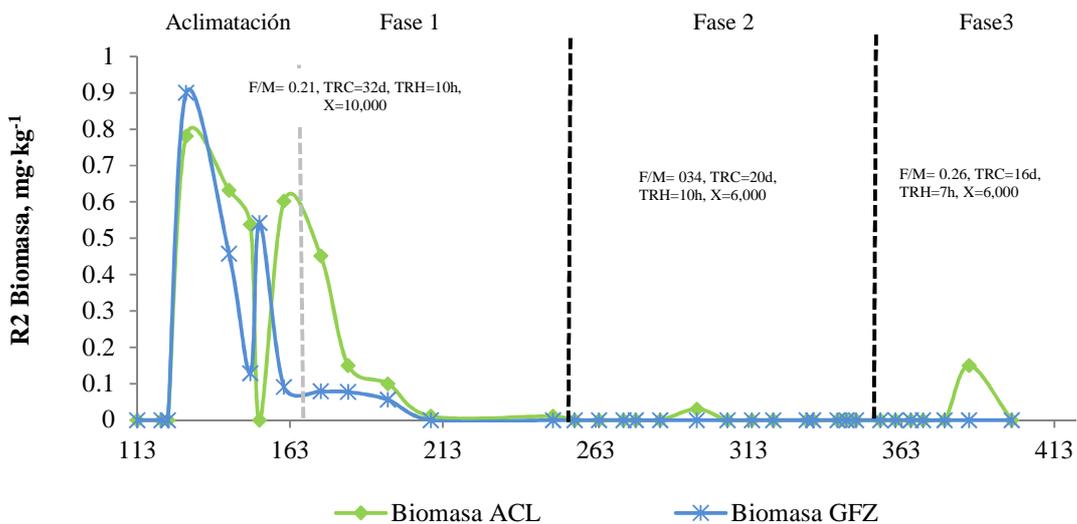


Figura 4.19 Concentración en R2 de ACL y GFZ en la biomasa

4.5.2 Balance de masa

En la Tabla 4.9 se presentan los flujos máxicos calculados para el influente, efluente y purga aplicando las ecuaciones 3.6, 3.7 y 3.8 anteriormente descritas así como las remociones obtenidas tanto por adsorción como por biodegradación.

Durante la fase de aclimatación del ACL se puede observar que se realizó con 2 diferentes cargas aplicadas, esto fue debido a que cada una se realizó en reactores por separado (Figura 4.20 y 4.21). Comparando las 2 diferentes cargas con las que se aclimató el sistema se observó que la remoción del ACL se favoreció con un TRC alto (32d) y una carga orgánica de $0.21 \text{ kgDQO}\cdot\text{kgSSTLM}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, al presentar una remoción total (suma de remoción por biodegradación y adsorción) de 89% de lo cual el 88% es atribuido por degradación y el 1% restante por adsorción.

La mayor remoción del ACL (76%) durante la operación del sistema con las 6 diferentes cargas orgánicas aplicadas se obtuvo con una F/M de $0.34 \text{ kgDQO}\cdot\text{kgSSTLM}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, un TRC de 20d y una concentración SSTLM de $6,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, donde la remoción por biodegradación fue de 75% y 1% por adsorción.

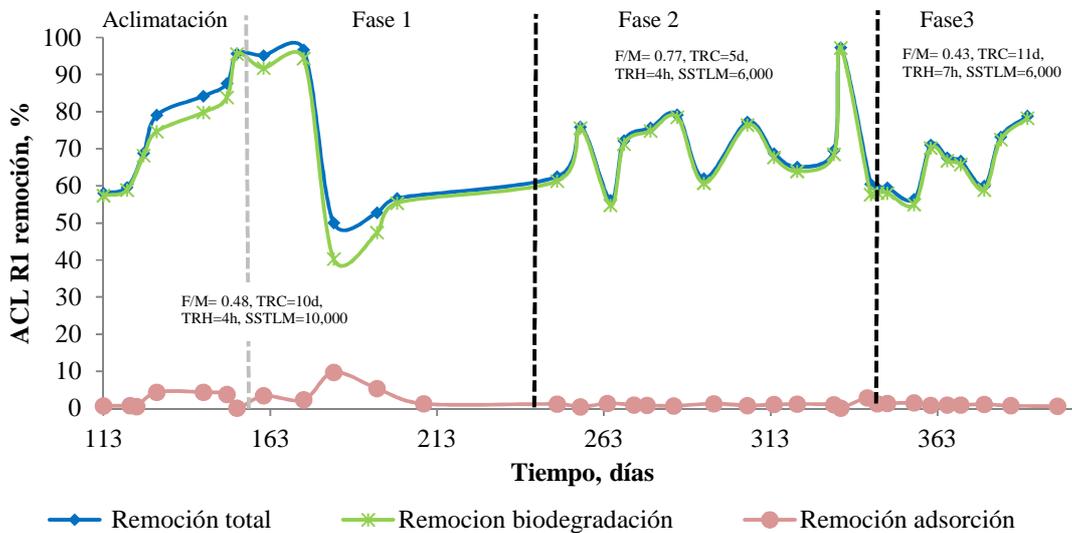


Figura 4.20 Remoción del ACL en R1 por diferentes mecanismos

Tabla 4.9 Flujo másico y remociones del ACL y GFZ

ACL						
Fase experimental	FLUJO MASICO, $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$			REMOCIÓN		
	Influyente	Efluente	Purga	Total	Degradación	Adsorción
Aclimatación F/M=0.48	180	36	4	81	78	2
F/M=0.48	12	4	0.4	60	56	4
F/M=0.77	13	4	0.2	68	67	1
F/M=0.43	8	2	0.1	70	69	1
Aclimatación F/M=0.21	79	9	0.8	89	88	1
F/M=0.21	5	2	0.1	71	69	2
F/M=0.34	6	1	0	76	75	1
F/M=0.26	8	2	0.1	73	71	2
GFZ						
Fase experimental	FLUJO MASICO, $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$			REMOCIÓN		
	Influyente	Efluente	Purga	Total	Degradación	Adsorción
Aclimatación F/M=0.48	213	43	3	81	79	2
F/M=0.48	27	2	0.2	93	91	1
F/M=0.77	29	1	0.03	96	96	0
F/M=0.43	19	0.03	0.006	100	100	0
Aclimatación F/M=0.21	93	4	0.6	96	95	1
F/M=0.21	12	0.2	0.06	98	97	1
F/M=0.34	13	0.2	0.004	98	98	0
F/M=0.26	19	0	0	100	100	0

La remoción por adsorción del ACL no fue mayor a 4% para ningún caso, sin embargo se observó que cuando se utilizaron las concentraciones de SSTLM de 10,000 mg·L⁻¹ la remoción fue siempre mayor en comparación con SSTLM de 6,000 mg·L⁻¹ esto se puede atribuir a que mayor cantidad de biomasa, existe también mayor área de contacto. En la Figura 4.22 y 4.23 se presenta la remoción del GFZ durante la operación del sistema con las 6 diferentes cargas orgánicas utilizadas.

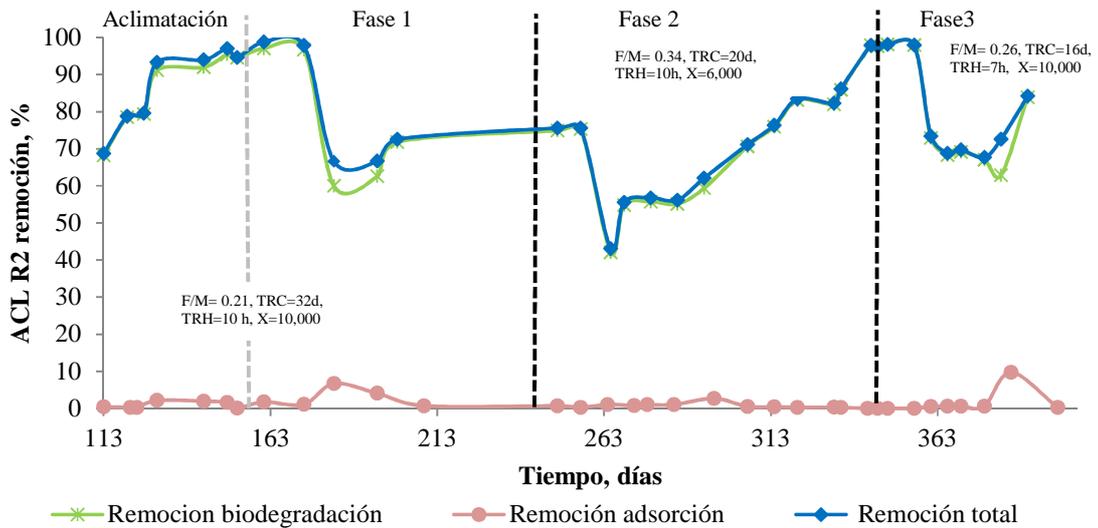


Figura 4.21 Remoción del ACL en R2 por diferentes mecanismos

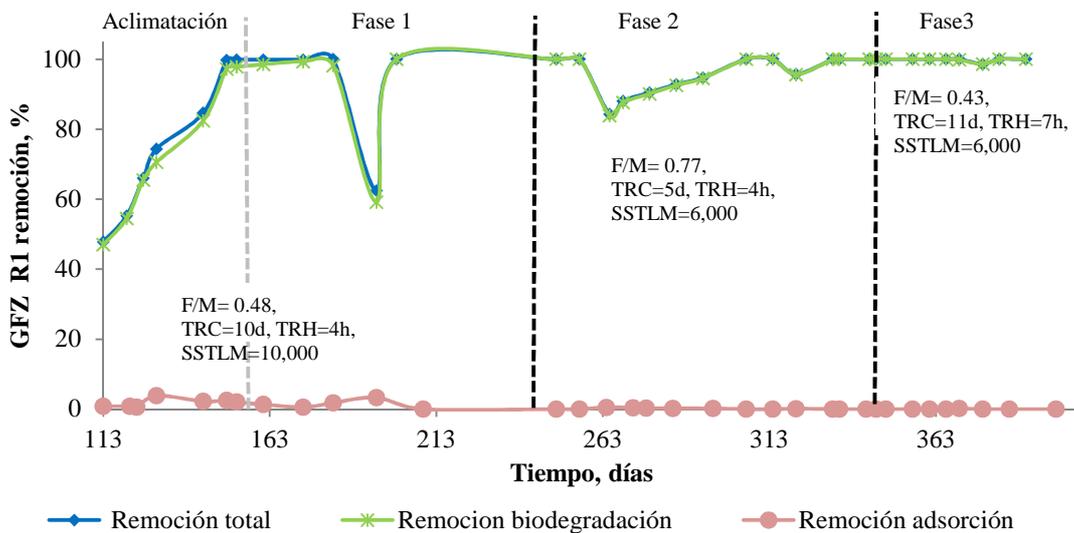


Figura 4.22 Remoción del GFZ en R1 por diferentes mecanismos

Durante la etapa de aclimatación se observó al igual que con el ACL una mejor remoción con el mayor TRC (32 d) y la menor carga orgánica ($0.21 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), proporcionando una remoción total de 96% del cual 95% fue por biodegradación y 1% por adsorción. La mayor remoción del GFZ se obtuvo con una F/M de 0.26 y $0.43 \text{ kgDQO} \cdot \text{kgSSTLM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ reportándose valores del 100% al estar en concentraciones por debajo del LD. Con respecto a la remoción por adsorción se observó que durante toda la experimentación no excedió de 2%.

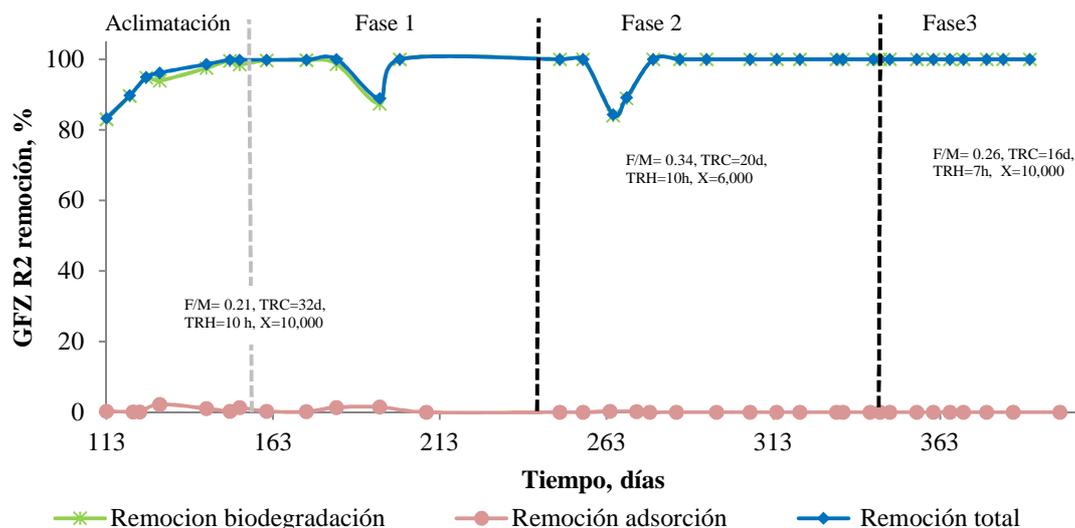


Figura 4.23 Remoción del GFZ en R2 por diferentes mecanismos

En la Figura 4.24 se presenta la remoción del ACL con respecto a los diferentes TRC utilizados. Con el incremento del TRC de 5 a 10 d no se observó diferencia significativa en la remoción, sin embargo al aumentar el TRC a 11 d se observó una baja en la remoción total en un 10 % y un 13 % en la remoción por degradación con respecto a la remoción obtenida con un TRC 10 d. Esta baja en la remoción se puede atribuir al aumento de los SSTLM de $6,000$ a $10,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ así como de TRH (4-7 h).

Con el aumento del TRC de 11, 16 y 20 d y el TRH de 7 a 10 h (en los últimos dos mencionados) se registró de manera proporcional un aumento en la remoción total y por degradación del ACL. Sin embargo cuando se aumentó a un TRC de 32 d se observó nuevamente una disminución en la remoción total de 4% y de 6% en la remoción por adsorción con respecto a un TRC de 20 d. Con respecto a la remoción por adsorción se observó que tiende a ser mayor cuando se utilizó una concentración de SSTLM de $10,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. El aumento TRH en conjunto con el incremento del TRC presentó mejores porcentajes de remoción siempre y cuando se utilice una biomasa con concentraciones de $6,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Este fenómeno no se observó con SSTLM de $10,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Lo cual puede ser atribuido a que cuando más joven sea la biomasa mayor cantidad de enzimas producirá presentando mayor actividad y favoreciendo la remoción de los fármacos. Además con altas concentración de SSTLM se proveen mayores sitios de sorción.

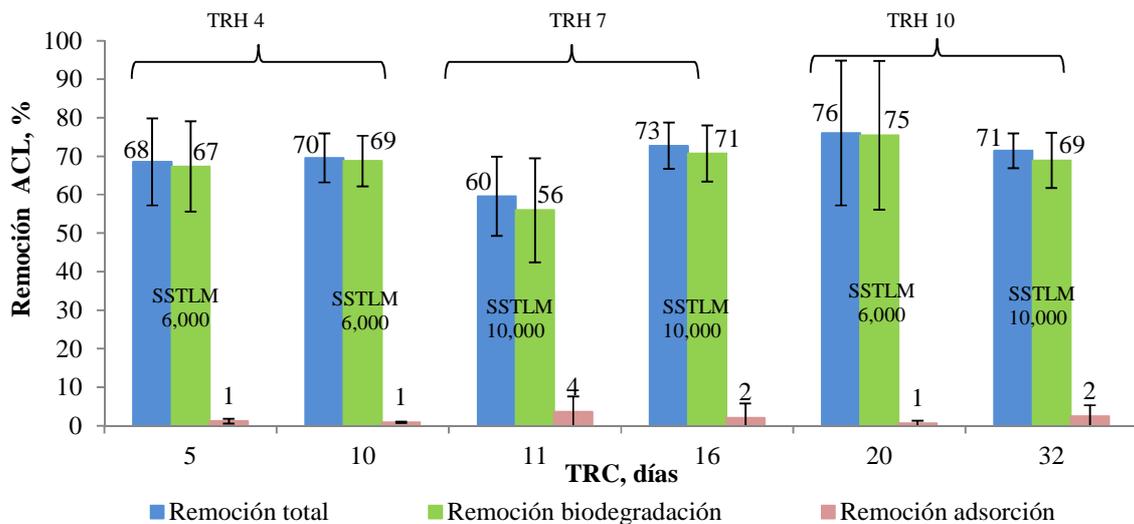


Figura 4.24 Mecanismos de remoción de ACL con respecto al TRC

En la Figura 4.25 se presenta la remoción del GFZ con respecto a los diferentes TRC utilizados. Con el incremento del TRC de 5 a 10 d y TRH de 4 h se observó un incremento del 4% en la remoción total del fármaco. Se observó que cuando se aumenta el TRC y TRH y/o disminuye los SSTLM, la remoción disminuye, posiblemente a un desajuste de la biomasa con respecto a los nuevos parámetros aplicados, sin embargo, cuando se mantiene fijo el TRH y los SSTLM pero se aumenta el TRC la remoción tanto por biodegradación como total tienden a aumentar. Esto se observó con el cambio de TRC de 11 a 16 d y de 20 a 32 d.

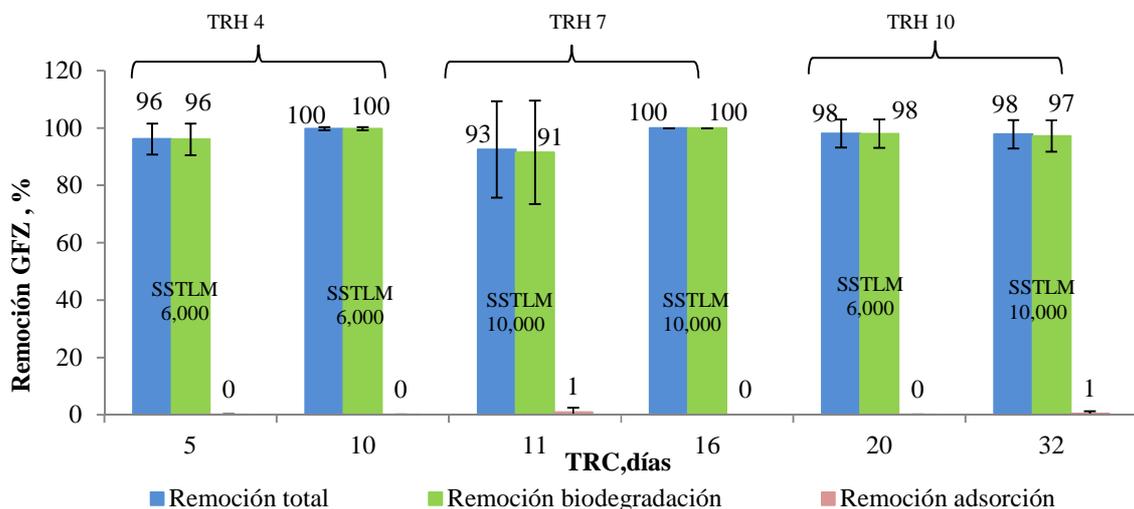


Figura 4.25 Mecanismos de remoción de GFZ con respecto al TRC

4.6 Seguimiento del nitrógeno en el sistema

Se dio seguimiento a la presencia de nitratos (N-NO_3^-), nitritos (N-NO_2^-), nitrógeno amoniacal (N-NH_4) y nitrógeno total (NT) en el sistema. La disminución de la concentración del N-NH_4 en R1 se observó 20 días posteriores al arranque y al inicio de la Fase 1 las concentraciones fueron menores a $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Esta misma concentración se observó también durante la Fase 2 (Figura 4.26).

Un incremento en la concentración de los nitratos en el influente se observó a partir del día 113, el aumento de los nitratos está relacionado con la oxidación biológica del N-NH_4 . Este hecho generó un aumento progresivo de los nitratos y al mismo tiempo una disminución en N-NH_4 indicando un proceso de nitrificación el sistema.

La concentración promedio de los nitratos en la Fase 1 fue de $7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y en la Fase 2 bajaron en 2 unidades ($5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). En R2 (Figura 4.27) la concentración del N-NH_4 disminuyó durante la aclimatación hasta concentraciones de $0.23 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. En la Fase 1 y 2 la concentración se mantuvo menor de $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Los nitratos se comportaron inversamente proporcionales al N-NH_4 alcanzando concentraciones máximas de $9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, indicando una nitrificación en el sistema de la misma manera que en R1.

Al inicio de la Fase 2 en R2 se observó un decremento en la concentración de nitratos llegando a $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ lo cual puede relacionarse con el aumento de F/M lo cual puede provocar disminución de la remoción del N-NH_4 .

Durante la Fase 2 los nitratos oscilaron entre los 6 y $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Los nitritos se mantuvieron durante las diferentes fases experimentales en concentraciones menores a $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ tanto en R1 como en R2. En la Tabla 4.10 presentan los resultados promedio de nitrógeno en sus diferentes formas obtenidos en cada fase.

Parte del N-NH_4 en el agua residual se utiliza por los microorganismos para su crecimiento y el resto está sujeto a nitrificación. Se calcularon ambas cantidades para cada fase experimental. Para el cálculo del $N_{\text{bioasimilado}}$ se utilizó la expresión:

$$N_{\text{bioasimilado}} = (\text{DQO}_i - \text{DQO}_f) 0.12 Y \quad \text{Ecuación 4.1}$$

Dónde:

DQO_i - DQO en el influente, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;

DQO_e - DQO en el efluente, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;

Y - crecimiento de la biomasa, $\text{kgSSV}\cdot\text{kgDQO}_{\text{removida}}^{-1}$;

0.12-Factor de consumo de N por la biomasa (Metcalf y Eddy, 2003).

El balance del $N-NH_4$ se presenta en la Tabla 4.11. Se observa que 44-55% del $N-NH_4$ removido se utiliza por los microorganismos para su crecimiento y el resto del $N-NH_4$ está disponible para la nitrificación. Se calculó la tasa de nitrificación con base en la cantidad de nitratos y nitritos determinados en el efluente de los reactores.

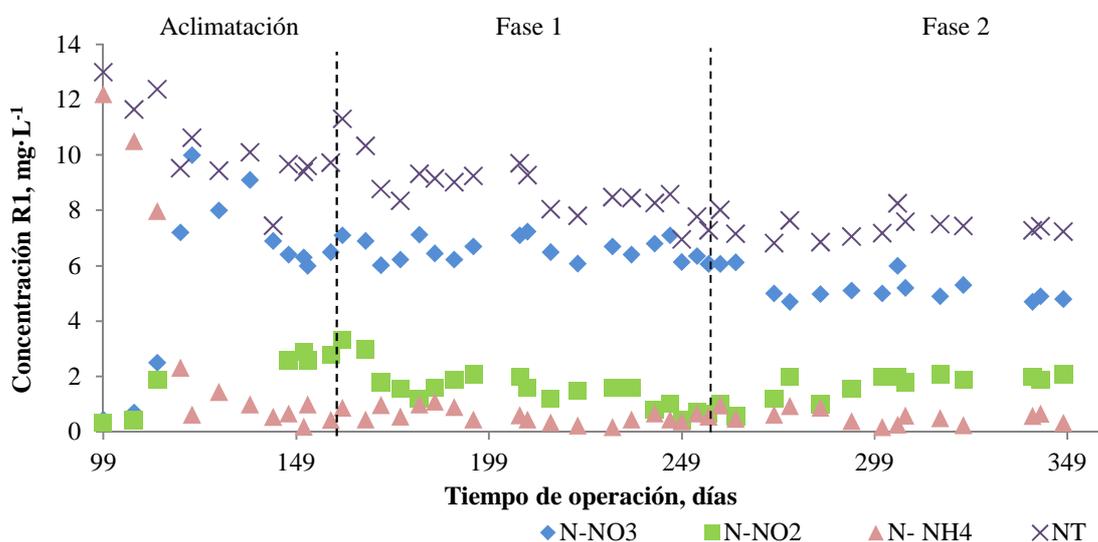


Figura 4.26 Seguimiento del nitrógeno en R1 durante la operación del sistema

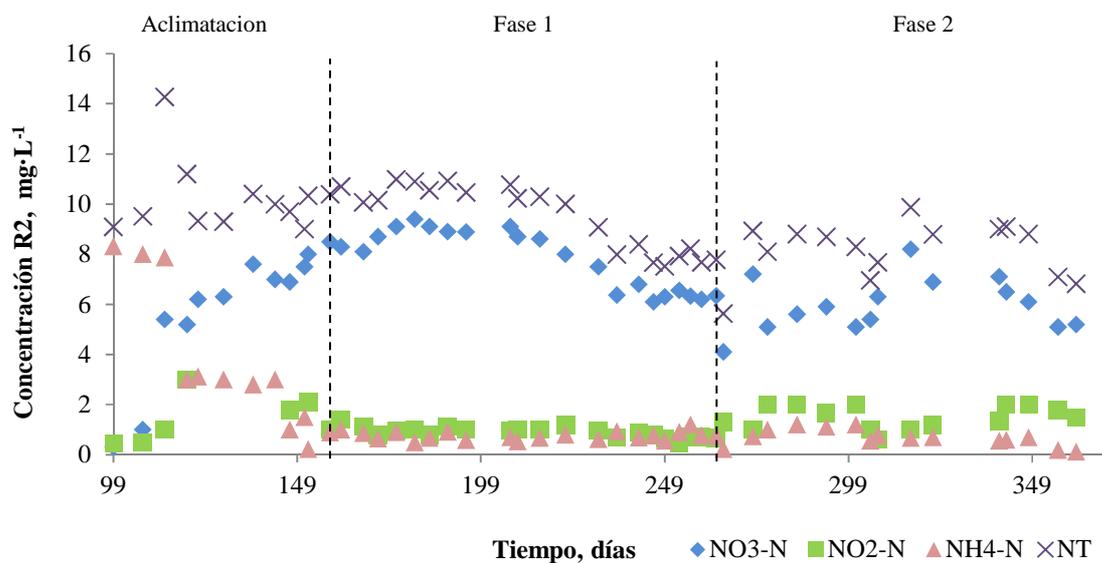


Figura 4.27 Seguimiento del nitrógeno en R2 durante la operación del sistema

Tabla 4.10 Concentración promedio del nitrógeno en las diferentes fases de operación

FASE	NT,	N-NO ₂ ,	N-NO ₃ ,	N-NH ₄ ,
	mg·L ⁻¹	mg·L ⁻¹	mg·L ⁻¹	mg·L ⁻¹
	INFLUENTE			
	27±4	0.5±0.4	0.5±0.3	26±4
	R1			
Aclimatación	10±1	2.7±0.5	6±0.4	0.6±0.3
F/M= 0.48	8±1	1.4±0.5	6±0.4	0.6±0.3
F/M= 0.77	7±1	1.6±0.6	5±1	0.5±0.2
F/M= 0.43	8±1	2±1	5±1	0.4±0.2
	R2			
Aclimatación	10±0.5	1.4±0.5	8±1	1.1±0.8
F/M= 0.21	10±1	0.9±0.2	8±1	0.7±0.2
F/M= 0.34	9±1	1.4±0.5	6±1	0.8±0.3
F/M= 0.26	7±1	1.7±0.3	5±1	0.3±0.2

Se determinó la tasa de remoción de N-NH₄ (Tabla 4.11) la cual como se puede ver es 2-3 veces mayor que la tasa de nitrificación calculada con base en los nitratos y nitritos.

Se observa que la tasa de nitrificación calculada con base en los nitratos y nitritos es igual a la obtenida con base en el N-NH₄ durante las fases de aclimatación en los dos reactores. Sin embargo, durante la Fase 1 y 2 la tasa de nitrificación calculada con base en el N-NH₄ susceptible a nitrificación es ligeramente mayor que la tasa determinada con los nitratos, lo cual significa que en los reactores tuvo lugar el proceso de desnitrificación.

Tabla 4.11 Balance de nitrógeno durante las diferentes fases experimentales

FASE	N-NH ₄ , mg·L ⁻¹			N-NH ₄ REMOVIDO, mg·L ⁻¹		N-NH ₄ BIOASIMILADO, mg·L ⁻¹		N-NH ₄ SUSCEPTIBLE A NITRIFICACIÓN, mg·L ⁻¹	
	Influyente	R1	R3	R1	R3	R1	R3	R1	R3
Aclimatación	24.4	0.6	1	23.8	23.3	10.3	12.8	13.5	10.5
Fase 1	24.2	0.6	0.7	23.6	23.5	12.6	12.7	11	10.8
Fase 2	25.9	0.5	0.8	25.4	25	13	13.1	12.4	12
Fase 3	25.2	0.4	0.3	24.8	25.9	12.7	12.7	11.9	12.

En este estudio se obtuvieron tasas de nitrificación relativamente bajas, los promedios para las cuatro fases experimentales fueron de 0.002-0.007 kg(N-NO₃⁻+N-NO₂⁻)·kgSSTLM⁻¹·d⁻¹ y de 0.003-0.012 kg N-NH₄·kgSSTLM⁻¹·d⁻¹ (Tabla 4.12). Esto se atribuye básicamente a las bajas cargas de N-NH₄ utilizadas (0.006 y 0.015 kg N-NH₄·kgSSTLM⁻¹·d⁻¹) ya que la remoción del N-NH₄ fue alta, mayor de 98% y alrededor de 50% de éste se utilizaba para el crecimiento de los microorganismos. Meng *et al.* (2008) reportaron tasas de nitrificación de 0.013-0.040 gN·gSSTLM⁻¹·d⁻¹ en un BRM operado con aguas residuales municipales.

La mayor tasa de nitrificación se determinó aplicando la mayor carga orgánica, de 0.84 kgDQO·kgSSTLM⁻¹·d⁻¹, mayor carga de N-NH₄, de 0.015 kgN-NH₄·kgSSTLM⁻¹·d⁻¹ y el menor TRC de 5 d, siendo la concentración de los SSTLM de 6,000 mg·L⁻¹ (Fase 2, R1).

Por el contrario, la menor tasa de nitrificación se presentó con la menor carga orgánica de 0.22 kgDQO·kgSSTLM⁻¹·d⁻¹, menor carga de N-NH₄, de 0.006 kgN-NH₄·kgSSTLM⁻¹·d⁻¹ y el mayor TRC de 30 d, siendo la concentración de los SSTLM de 10,000 mg·L⁻¹.

Se sabe que la tasa de nitrificación disminuye con la disminución del TRC debido a la pérdida parcial de los microorganismos nitrificantes que ocurre en bajo estas condiciones (Cicek *et al.*, 1998).

La tendencia contraria observada en este trabajo se puede atribuir a la variación simultánea de las cargas de nitrógeno y la orgánica que se practicaron en los reactores, factores que influyeron mucho más las tasas de nitrificación que el TRC. Se observó también una tendencia decreciente sobre la nitrificación cuando se incrementa la concentración de lodo, lo cual coincide con lo reportado por Li *et al.* (2006).

Tabla 4.12 Comparación de nitrificación de la biomasa y tasa de nitratos

FASES	TASA DE NITRIFICACIÓN (CON BASE EN N-NO ₃ ⁻ +N-NO ₂ ⁻), kg (N-NO ₃ ⁻ +N-NO ₂ ⁻)·kgSSTLM ⁻¹ ·d ⁻¹		TASA DE REMOCIÓN DEL N-NH ₄ , kgN-NH ₄ ·kgSSTLM ⁻¹ ·d ⁻¹		TASA DE NITRIFICACIÓN (N-NH ₄ SUSCEPTIBLE A NITRIFICACIÓN), kg N-NH ₄ ·kgSSTLM ⁻¹ ·d ⁻¹	
	R1	R3	R1	R3	R1	R3
Aclimatación	0.005	0.002	0.01	0.005	0.005	0.002
Fase 1	0.005	0.002	0.014	0.006	0.007	0.003
Fase 2	0.007	0.003	0.015	0.006	0.012	0.005
Fase 3	0.005	0.002	0.0012	0.006	0.008	0.005

En la Figura 4.28 y Figura 4.29 se observan las correlaciones entre las tasas de remoción del ACL y GFZ, y las tasas de nitrificación respectivamente. En ambos casos la tasa de remoción del ACL y de GFZ aumenta con el aumento de la tasa de nitrificación. Esto indica que la nitrificación en los reactores favorece la remoción de ambos compuestos. La mayor y tasa de remoción del ACL y GFZ y la mayor tasa de nitrificación se presentó con TRC de 5 días, SSTLM de 6,000 mg·L⁻¹ y la mayor carga orgánica (0.84 kgDQO·kgSSTLM⁻¹·d⁻¹), la cual corresponde a la mayor carga de nitrógeno (0.015 kgN-NH₄ kgSSTLM⁻¹ d⁻¹).

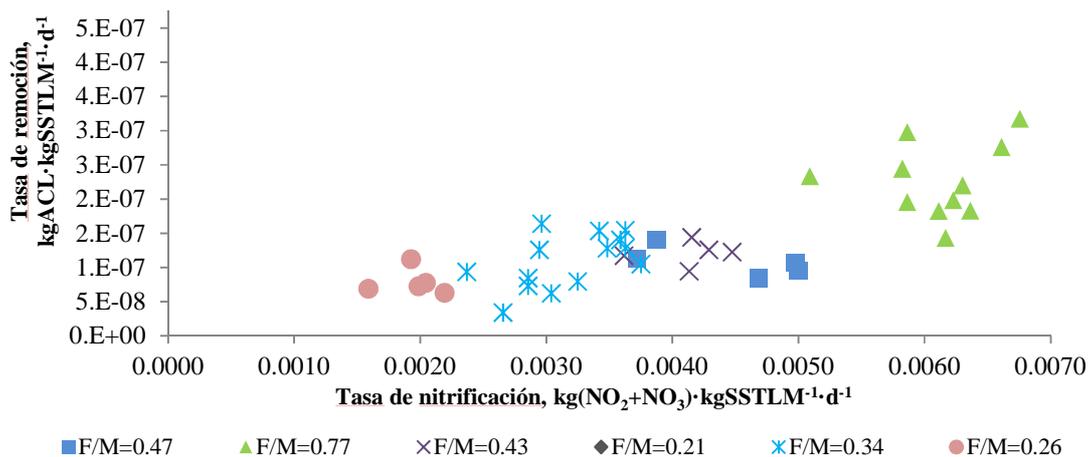


Figura 4.28 Tasa de remoción del ACL

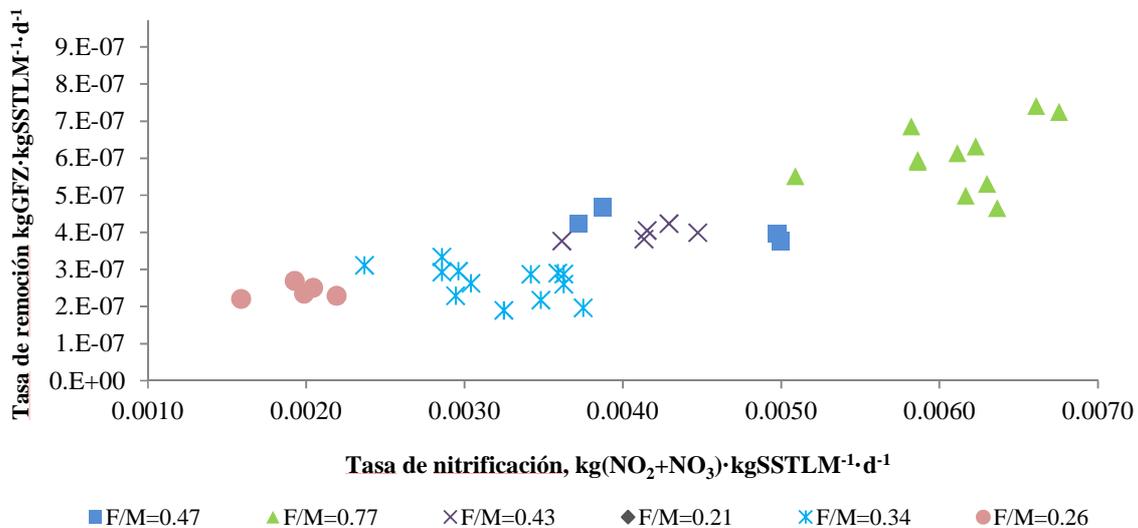


Figura 4.29 Tasa de remoción del GFZ

4.7 Determinación del coeficiente de adsorción K_d

Para la evaluación de la adsorción de los fármacos sobre la biomasa se determinó el coeficiente K_d . Las pruebas se realizaron con la biomasa contenida en los BRM al término de la experimentación.

El comportamiento de sorción de los productos farmacéuticos puede ser muy complejo y difícil de evaluar. Estos compuestos se pueden absorber en la estructura lipídica bacteriana y la fracción grasa de los lodos en las aguas residuales a través de interacciones hidrófobas, así como adsorberse sobre determinadas estructuras de polisacáridos cargados negativamente fuera de la célula de la bacteria o a través de interacciones electrostáticas (grupos amino) o bien pueden unirse químicamente a proteínas bacterianas y ácidos nucleicos (Joss *et al.*, 2006; Radjenovic *et al.*, 2009; Jelic *et al.*, 2011).

Otros mecanismos que pueden estar involucrados en la adsorción son el coeficiente de hidrofobicidad, uniones puente de hidrógeno o interacciones iónicas juegan un papel significativo en la sorción de los productos farmacéuticos en los lodos.

En la Figura 4.30 y 4.31 se presenta la disminución de las concentraciones de ACL y GFZ hasta llegar al equilibrio. Se puede observar como la concentración de $2.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de ACL disminuyó hasta un 85% durante las primeras 6 h llegando al equilibrio. En el caso cuando se utilizó una concentración baja de ACL ($0.05 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) se observó una adsorción del 44% durante los primeros 60 min. Sin embargo, la adsorción alcanzada al llegar al equilibrio fue de 82% a partir del min 120.

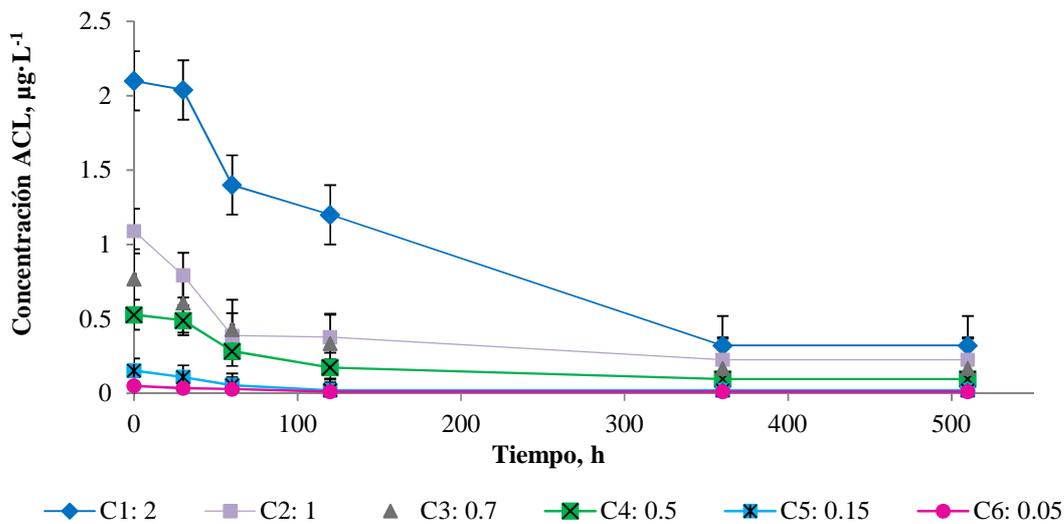


Figura 4.30 Concentración de ACL a través del tiempo en el equilibrio

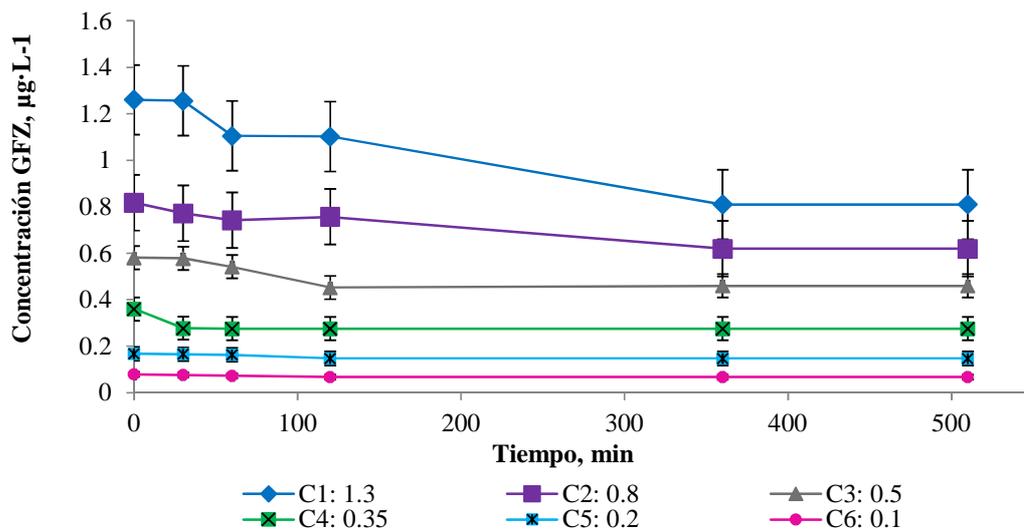


Figura 4.31 Concentración de GFZ a través del tiempo hasta el equilibrio

Con respecto al GFZ se observó una baja adsorción en comparación con el ACL. Con la mayor concentración utilizada ($1.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) se obtuvo solo un 35% en las primeras 6 h (equilibrio), con la concentración de $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ se observó un 33% de adsorción a partir del minuto 120 min (equilibrio). Las concentraciones intermedias utilizadas presentaron una adsorción entre 80 y 85 % para el ACL y de 30-35% para el GFZ. La cantidad de soluto adsorbido por unidad de lodo en el estado de equilibrio fue calculado utilizando el modelo de Freundlich (Ecuación 3.1) el cual propone una adsorción monosuperficial con una distribución heterogénea de la energía en los puntos energéticos, y con interacciones entre las moléculas adsorbidas (Atkins y De Paula, 2008).

En La Tabla 4.13 se presentan los resultados obtenidos tanto para el ACL, como para el GFZ y se observan los valores determinados para log q y log Ce los cuales fueron utilizados para realizar las gráficas y realizar la estimación lineal.

Tabla 4.13 Valores tabulados para la determinación de Kd

ÁCIDO CLOFÍBRICO							
Co	Ce	x=(Co-Ce)	SST	q=x/m	Ce	Log q	Log Ce
$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	y	x
2.1±0.2	0.3±0.2	1.8	0.6	3.2	0.0003	0.5	-3.5
1.1±0.2	0.2±0.1	0.9	0.6	1.5	0.0002	0.2	-3.7
0.8±0.1	0.2±0.2	0.6	0.6	1	0.0002	0.03	-3.8
0.5±0.1	0.1±0.3	0.4	0.6	1	0.0001	-0.1	-4
0.2±0.1	0.02±0.003	0.1	0.6	0.2	0.00002	-0.6	-4.7
0.1±0.02	0.01±0.04	0.04	0.6	0.07	0.00001	-1.1	-5
GEMFIBROZIL							
Co	Ce	x=(Co-Ce)	SST	q=x/m	Ce	Log q	Log Ce
$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	y	x
1.3±0.2	0.8±0.3	0.5	0.6	0.8	0.0008	-0.1	-3.1
0.8±0.1	0.6±0.3	0.2	0.6	0.4	0.0006	-0.5	-3.2
0.6±0.1	0.5±0.2	0.1	0.6	0.2	0.0005	-0.7	-3.3
0.4±0.1	0.3±0.1	0.1	0.6	0.2	0.0003	-0.8	-3.6
0.2±0.1	0.2±0.1	0.02	0.6	0.04	0.0002	-1.4	-3.8
0.1±0.1	0.1±0.1	0.01	0.6	0.02	0.00007	-1.6	-4.2

Utilizando una estimación lineal para ambos fármacos se determinaron los valores de K_d y n los cuales se presentan en la Tabla 4.14 se presenta el valor de K de Freundlich con valor de 3.8 y 4.1 para el ACL y GFZ respectivamente, así como su valor de n los cuales fueron calculados aplicando una estimación lineal, posteriormente al aplicarle logaritmo al valor de K se obtiene el valor de $\text{Log } K$.

Generalmente, cuanto mayor es el valor de K_d de Freundlich, mayor es la afinidad de adsorción en suelos (Xu *et al.*, 2009). Los parámetros de K_d de Freundlich no se pueden comparar con otros valores de K_d cuando los factores de no linealidad n son diferentes (Chen *et al.*, 1999). Sin embargo, los valores obtenidos en este estudio mostraron una tendencia lineal, en comparación a otros autores (Xu *et al.*, 2009; Radjenovic *et al.*, 2009).

Tabla 4.14 Valores determinados para K_d y n para el ACL y GFZ

FÁRMACO	K Freundlich	Log K	1/n	n
ACL	3.8	5901.9	0.9	1
GFZ	4.1	12880.6	1.4	0.7

En la Figura 4.32 y 4.33 se presentan los valores encontrados de K_d para el ACL y GFZ aplicando el modelo un modelo lineal, donde se puede observar un valor de 3.8 y 4.1 $\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$ respectivamente para cada fármaco, así como su coeficiente de determinación obtenidos de R^2 .

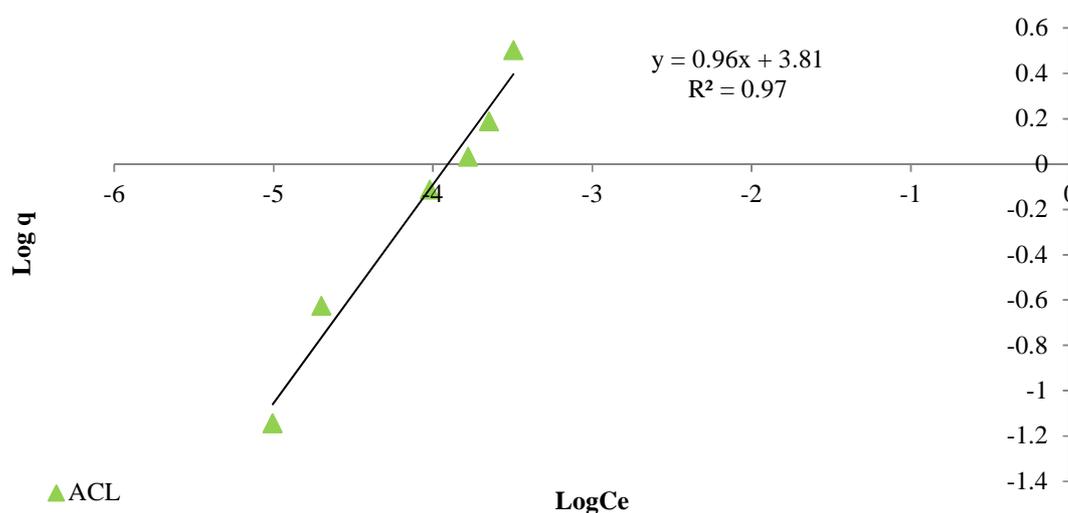


Figura 4.32 Determinación de K_d y n del ACL

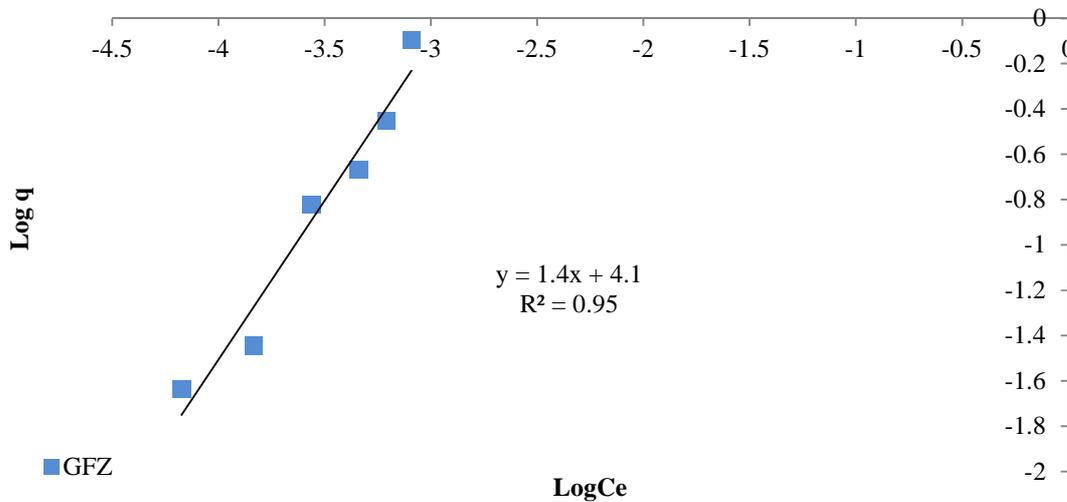


Figura 4.33 Determinación de K_d y n del GFZ

De acuerdo con Ternes *et al.* (2006) compuestos con $K_d < 500 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ son eliminados en un 10% a través de la sorción sobre el lodo activado. Muchos fármacos son relativamente hidrofílicos y su sorción se puede ver limitada, sin embargo, los fármacos que son hidrofóbicos son generalmente eliminados en la fase acuosa por sorción debido a las interacciones electrostáticas (Carballa *et al.*, 2005; Vieno *et al.*, 2007; Sipma *et al.*, 2010). En otro trabajo Joss *et al.* (2006) mencionan que compuestos con valores de $K_d \leq 0.1 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}$ se consideran débilmente adsorbidos en un medio sólido (hidrofílico) y cuando $K_d \geq 0.1 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}$ la adsorción sobre sólidos es fuerte. De acuerdo con los valores obtenidos en este estudio se puede observar que tanto el ACL como el GFZ son compuestos con alta afinidad a la adsorción.

En un estudio realizado por Garmon *et al.* (2011) se reporta un valor de K_d para el GFZ de $45 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$, mencionando que su adsorción es relativamente baja en biomasa desactivada comparándolo con valores de K_d obtenidos por otros autores, tales como con Radjenovic *et al.* (2009) quienes obtuvieron $K_d = 27.8 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ para el GFZ y Urase y Kikuta (2005) con $K_d = 75 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ para el GFZ. Sin embargo, estos últimos autores también reportaron valores de $K_d = 1000 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ para GFZ pero a menor pH por lo cual consideran al GFZ como hidrofóbico y muy fácil de adsorber por la biomasa. Ternes *et al.* (2004) reportan $K_d = 4.8 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ para el ACL. En la Tabla 4.15 se observan algunos valores reportados en la literatura por diversos autores y se observa que de acuerdo al tipo de lodo tiende a cambiar el valor de K_d .

Tabla 4.15 Valores de K_d reportados por otros autores

COMPUESTO	K_d , $L \cdot kg^{-1}$	TIPO DE LODO	AUTOR
ACL	4.8	Biomasa de lodos activados	Ternes <i>et al.</i> , 2006
GFZ	1000	Biomasa de lodos activados	Urase y Kikuta, 2005
ACL	554		
GFZ	75	Biomasa de lodos activados	Sipma <i>et al.</i> , 2010
ACL	5		
ACL	7	Biomasa tratamiento secundario.	Abbeglen <i>et al.</i> , 2009
GFZ	45	Lodo de clarificador primario	Garmon <i>et al.</i> , 2011
ACL	2.3	Lodo	Xu <i>et al.</i> , 2009
GFZ	109	Biomasa de lodos activados	Hyland <i>et al.</i> 2012

4.8 Cinéticas de remoción

Las muestras para las cinéticas de remoción del ACL y GFZ fueron tomadas tanto en el líquido como en la biomasa. En la Figura 4.34 se muestran las concentraciones determinadas en diferentes tiempos, tanto en la biomasa como en el líquido para el ACL y se observa un incremento en la concentración de biomasa de 0 a $0.02 \mu g \cdot kg^{-1}$ en el minuto 190 lo cual dio lugar a una remoción por adsorción del 2.1% con una velocidad de $0.009 \mu g \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ y una remoción por biodegradación de 9.99 %.

El decremento en la concentración en la biomasa se observó en el minuto 370 (0.02 a $0.0095 \mu g \cdot kg^{-1}$) con una velocidad de $0.0008 \mu g \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ y solo un 1% de remoción por adsorción. Posterior a estos tiempos no se registró algún otro incremento en la biomasa. Con respecto a la fase líquida se observó en el minuto 370 a una velocidad de $1 \mu g \cdot L^{-1} \cdot min^{-1}$ que más del 60% de ACL había sido removido por biodegradación.

A partir del minuto 670 la concentración se mantuvo constante ($0.35 \mu g \cdot L^{-1}$) registrando una máxima remoción de 72% con una velocidad de $0.9 \mu g \cdot L^{-1} \cdot min^{-1}$. El principal proceso de degradación para el ACL fue por biodegradación (Figura 4.36).

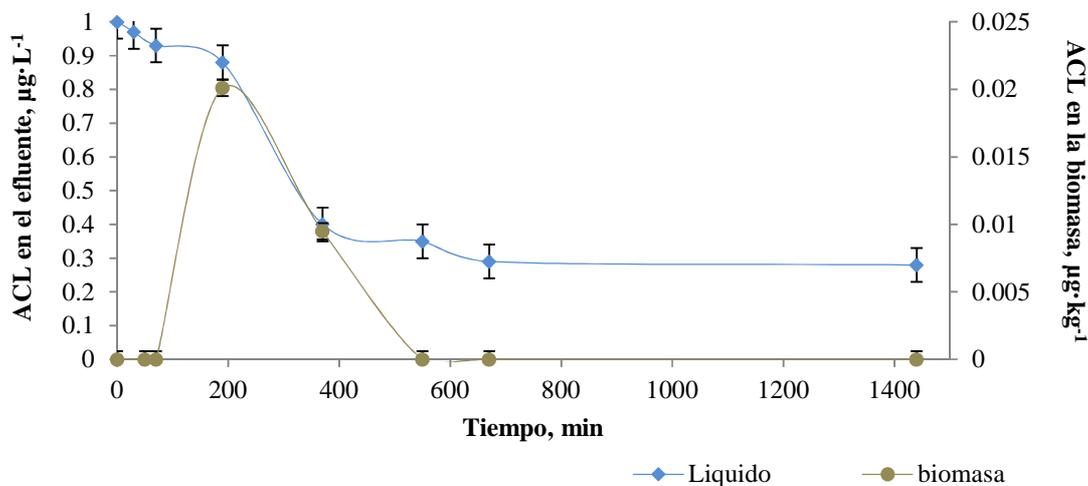


Figura 4.34 Concentración del ACL a través del tiempo

Para el GFZ se observa en la Figura 4.35 que el 50 % de remoción por biodegradación se obtuvo en el minuto 370 con una velocidad de $2.9 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. Con este compuesto se observó una degradación continua a través del tiempo lográndose al término de la experimentación (1440 min) una remoción de 97% con una velocidad de $3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. Con respecto a la biomasa, no se detectaron concentraciones durante toda la corrida. Lo que indica que la remoción del GFZ es principalmente atribuida a la biodegradación (Figura 4.36).

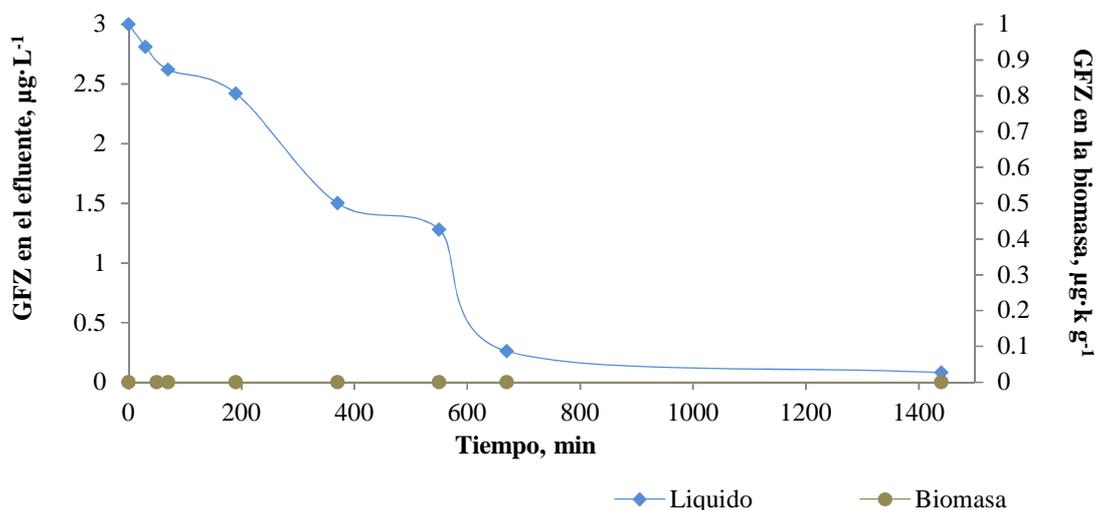


Figura 4.35 Concentración de GFZ a través del tiempo durante las cinéticas de remoción

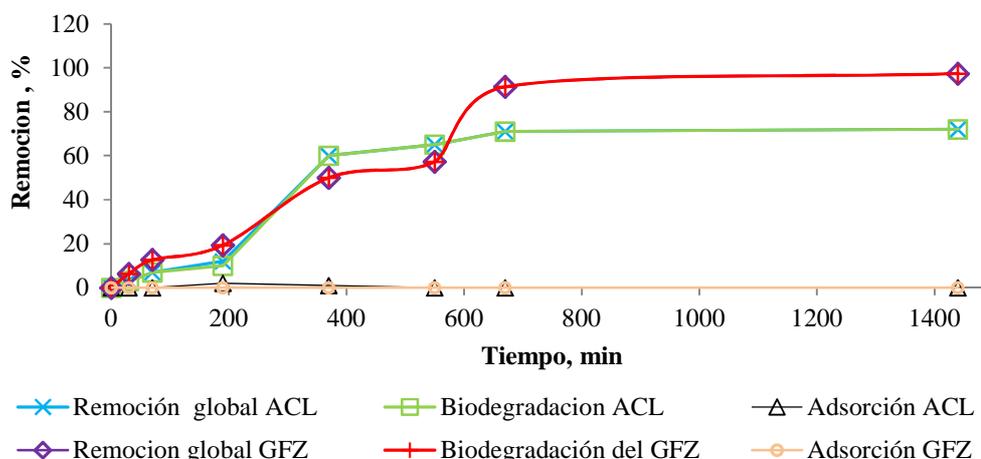


Figura 4.36 Remoción del ACL y GFZ durante las cinéticas de degradación

La forma básica de las ecuaciones para el modelado de biodegradación incluye un parámetro cinético, la concentración de microcontaminantes disueltos (el sustrato), y la concentración de biomasa, que es capaz de convertir este sustrato. Por lo general, las cinéticas más utilizadas son de primer orden (Boeije *et al.*, 1998; Byrns, 2001) o pseudo primer orden (Govind *et al.*, 1991; Cowan *et al.*, 1993; Melcer *et al.*, 1994; Monteith *et al.*, 1995) para compuestos en bajas concentraciones. En la Figura 4.37 y 4.38 se presentan los gráficos para la determinación de los coeficientes cinéticos tanto de orden cero como de primer y pseudoprimer orden respectivamente. Los valores para R^2 indicaron que para el ACL la cinética de orden cero presenta mayor linealidad al proceso cuya velocidad es constante e independiente de la concentración. El GFZ presentó un valor de $R^2=0.96$ con el modelo cinético de primer orden lo cual indica que la reacción depende de la concentración de un solo reactante, que se descompone en uno o más productos además de que la velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración del fármaco.

En la Figura 4.39 se presenta la cinética para el ACL y GFZ aplicando la ecuación de pseudo primer orden con K_d y Monod para la determinación de los parámetros cinéticos μ_{max} y K_s . Se observa que el ACL presentó un alto valor de R^2 de 0.98 en comparación a la cinética de orden cero y primer orden. En la Tabla 4.16 se presentan las velocidades de remoción obtenidas con los diferentes modelos cinéticos aplicados.

De acuerdo con lo reportado por Joss *et al.* (2006) al realizar cinéticas de biodegradación con lodo de sistemas MBR y de lodos activados, estableció diferentes clases de compuestos con respecto a su susceptibilidad hacia la degradación biológica: compuestos con $k < 0.1 \text{ L} \cdot \text{gSS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ solo presentan un 10% de remoción por biodegradación, compuestos con $0.1 < k < 10 \text{ L} \cdot \text{gSS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ son parcialmente removidos y compuestos con $k > 10$ presentan una remoción del 90% por biodegradación.

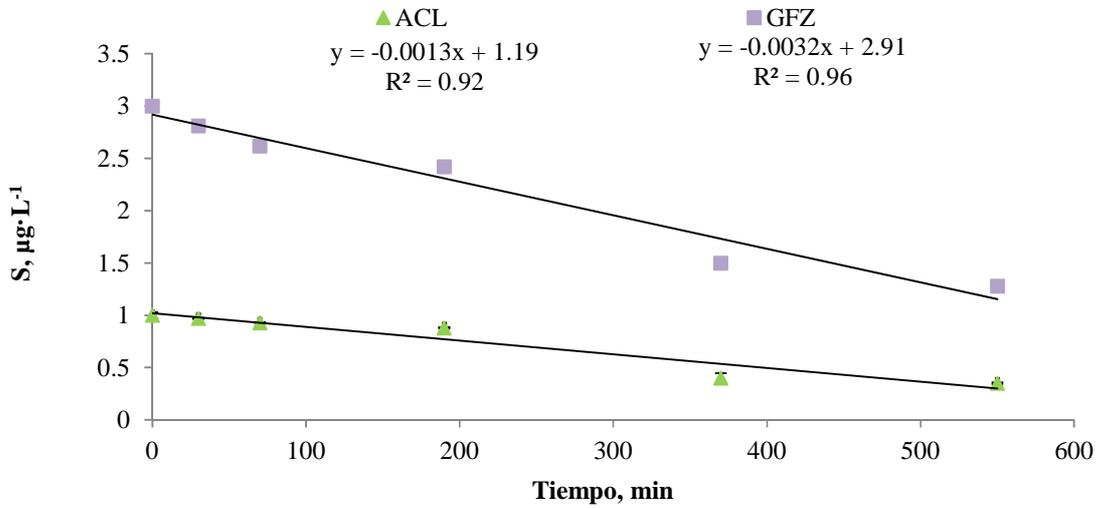


Figura 4.37 Modelos cinéticos de orden cero

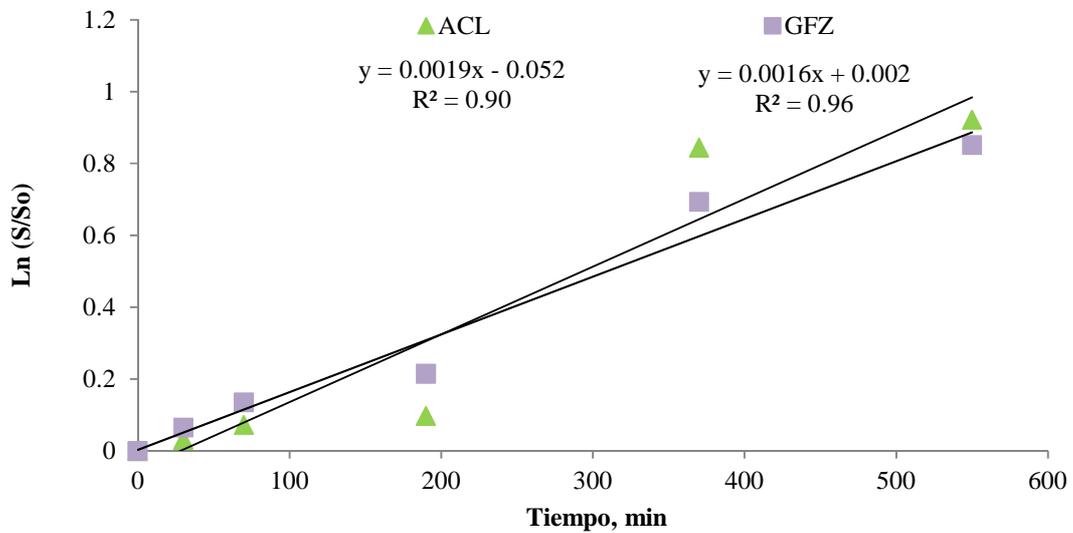


Figura 4.38 Modelos cinéticos de primer y pseudo primer orden

Con respecto a las velocidades obtenidas para el ACL de $2.61 \text{ L} \cdot \text{g}_{\text{SST}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ y de 2.3 d^{-1} para el GFZ se puede decir que estos fármacos son parcialmente removidos por biodegradación. Sin embargo, la ausencia de remoción por adsorción que se presentó con el GFZ puede ser atribuido como biodegradación al obtener una velocidad de $27 \text{ L} \cdot \text{g}_{\text{SST}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ con el modelo cinético de pseudo primer orden a pesar de no ajustarse el valor de R^2 .

Los valores μ_{\max} y K_s indicaron que el GFZ es el fármaco que presentó mayor afinidad con la biomasa y por consiguiente más fácil de remover en comparación con el ACL que mostró ser persistente. Los parámetros cinéticos μ_{\max} y K_s se encontraron dentro de los valores típicos reportados en los sistemas MBR de 3 a 13.5 d^{-1} y 6-192 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ respectivamente (Judd, 2006).

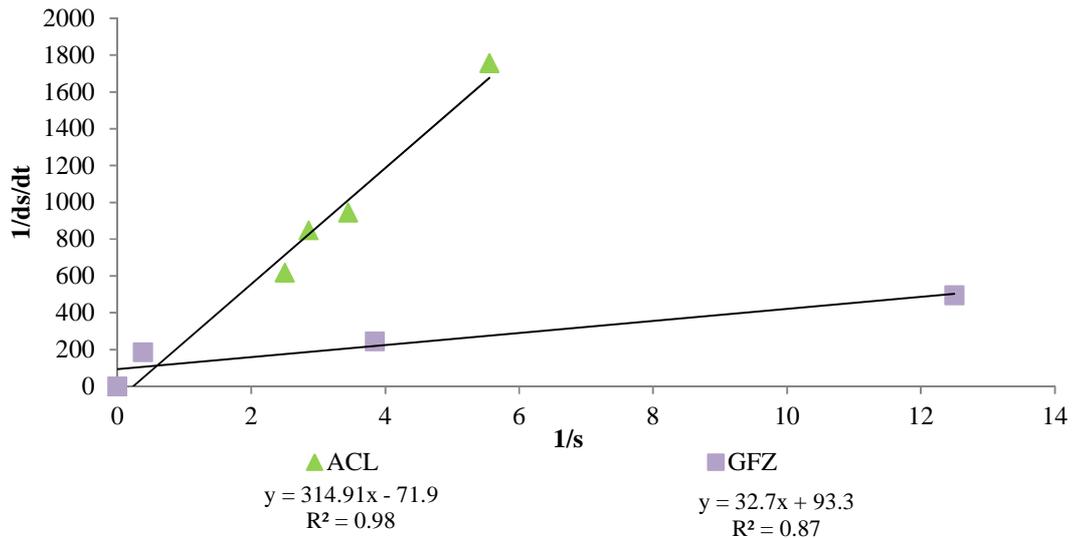


Figura 4.39 Modelo cinético de Monod y pseudo primer orden con K_d

Tabla 4.16 Velocidades obtenidas con las diferentes cinéticas aplicadas

FÁRMACO	ORDEN CERO	PRIMER ORDEN	PSEUDO PRIMER ORDEN	PSEUDO PRIMER ORDEN CON KD	MONOD	$K_s, \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	d^{-1}	$\text{L}\cdot\text{g}_{\text{SST}}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	$\text{L}\cdot\text{g}_{\text{SST}}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	$\mu_{\max}, \text{d}^{-1}$	
ACL	1.8 ($R^2=0.92$)	2.7 ($R^2=0.9$)	1.2 ($R^2=0.9$)	2.6 ($R^2=0.98$)	0.013 ($R^2=0.98$)	4.3
GFZ	4.6 ($R^2=0.96$)	2.3 ($R^2=0.97$)	1.07 ($R^2=0.97$)	26.8 ($R^2=0.87$)	0.1 ($R^2=0.97$)	0.3

4.8.1 Remoción de materia orgánica y nitrógeno en pruebas discontinuas

Durante la realización de las cinéticas de remoción se tomaron muestras para la determinación de DQO, nitrógeno total (NT), nitritos (N-NO₂), nitratos (N-NO₃) y nitrógeno amoniacal (N-NH₄). En la Figura 4.40 se observa la disminución de la concentración de DQO de 750 a 366 mg·L⁻¹ lo cual representó un 50 % de remoción durante los primeros 370 min.

Al termino de las pruebas cinéticas se registró una concentración de 86 mg·L⁻¹ con remoción de 90% (1440 min). La remoción obtenida durante las cinéticas indicó una alta actividad microbiana para remover la materia orgánica fácilmente asimilable (metanol).

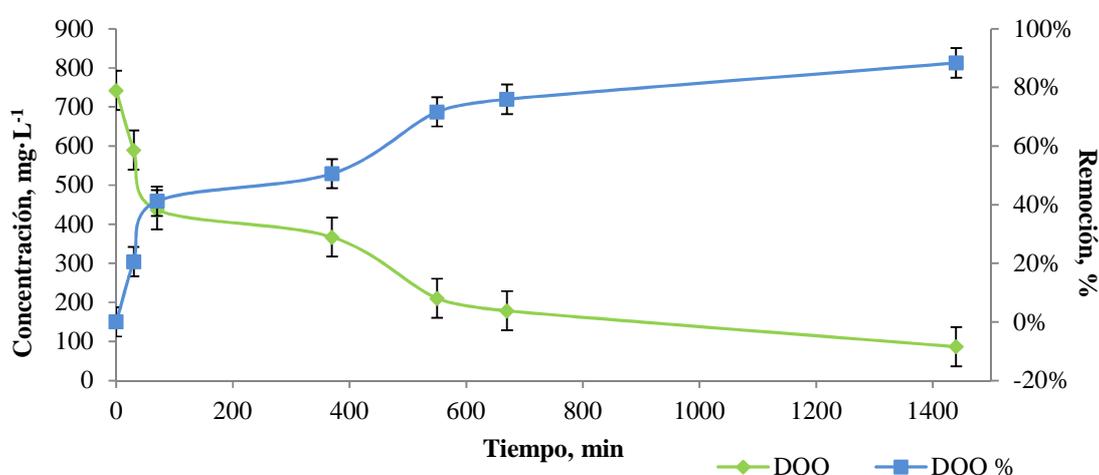


Figura 4.40 Concentración y remoción de DQO durante las cinéticas de remoción

El N-NH₄ durante las pruebas cinéticas presentó una disminución en su concentración a través del tiempo de 20 a 0.6 mg·L⁻¹ (Figura 4.41) y generó al mismo tiempo un aumento en los N-NO₃ y N-NO₂, lo cual puede ser atribuido a una posible nitrificación en el sistema siendo los microorganismos autótrofos y heterótrofos contenidos en la biomasa los causantes de dicho proceso y que a su vez se ha reportado que ayuda en la remoción de los fármacos en estudio (Fan *et al.*, 1996; Huang, 2001; Meng *et al.*, 2008; Pomies *et al.*, 2013).

Se ha observado en estudios (Kyu *et al.*, 2013) que bajo condiciones nitrificantes compuestos como el ACL y GFZ pueden degradarse en mayor proporción debido a la presencia de la enzima amonio monooxigenasa, ya que puede hidroxilar tanto al amoníaco como a diversos productos farmacéuticos (diclofenaco, BZF, ketoprofen entre otros). Sin embargo, se necesitan más estudios para determinar a la enzima responsable de la transformación de productos farmacéuticos seleccionados durante la nitrificación

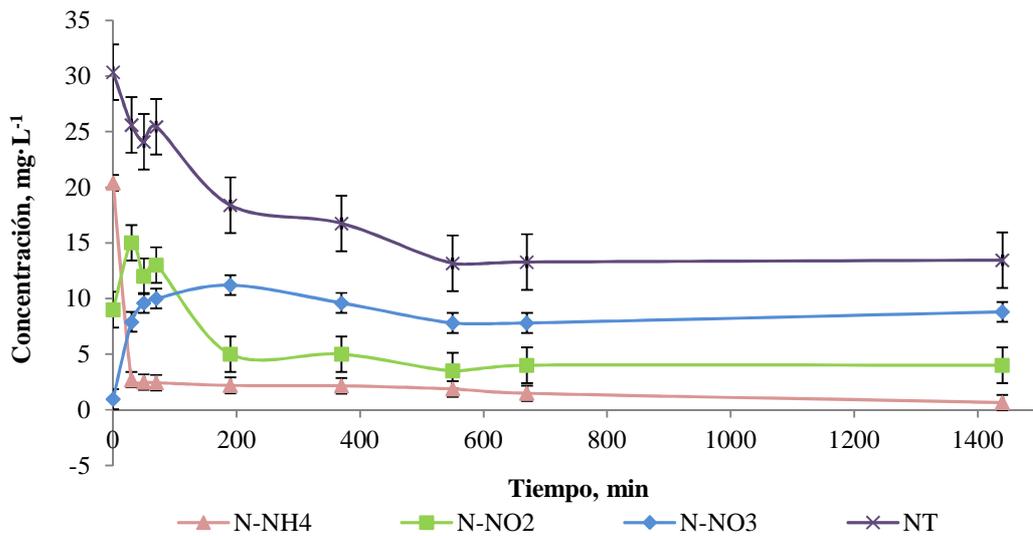


Figura 4.41 Comportamiento de compuestos nitrogenados durante las cinéticas de remoción

4.9 Determinación de los coeficientes cinéticos

Para la determinación de los coeficientes cinéticos se tomaron los datos obtenidos de los 2 BRM utilizados mediante la ecuación 4.1. Como sustrato se utilizó metanol.

$$\mu = \frac{K \cdot SSV \cdot S}{K_s + S} = \frac{S_o - S}{TRH} \quad \text{Ecuación 4.2}$$

Dónde:

μ = Tasa de crecimiento específico de los microorganismos, d^{-1}

k = Tasa máxima de utilización del sustrato, $mg \text{ DQO} \cdot mg \text{ SSV} \cdot d^{-1}$

K_s = Constante de saturación, $mg \cdot L^{-1}$

X = Concentración de SSV, $mg \cdot L^{-1}$

S = Concentración inicial del sustrato, $mg \cdot L^{-1}$

S_o = Concentración final del sustrato, $mg \cdot L^{-1}$

TRH = Tiempo de residencia hidráulica, d

Dividiendo la ecuación 4.2 entre la cantidad de SSV y linealizando se obtiene:

$$\frac{TRH \cdot SSV}{S_o - S} = \frac{K_s}{k} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{k} \quad \text{Ecuación 4.3}$$

En la Figura 4.42 se presenta la determinación de los valores de k y K_s de manera gráfica, donde k es el inverso de la ordenada al origen y K_s es la pendiente multiplicada por k . Para determinar los valores de los coeficientes tanto de producción celular (Y) como el de decaimiento endógeno (kd) se utilizó la ecuación 4.3. En la Figura 4.43 se presenta gráficamente los valores encontrados donde la pendiente de la línea recta es Y y la ordenada al origen es kd .

El coeficiente de la tasa máxima de crecimiento específico de los microorganismos μ_{max} se obtuvo de la ecuación 4.4. Los valores de los coeficientes cinéticos en los MBR se presentan en la Tabla 4.17. Con respecto al metanol, no influyó sobre los coeficientes cinéticos ni tampoco sobre la remoción del compuesto. Se observó un buen crecimiento de la biomasa, el consorcio de microorganismos y la actividad metabólica se ajustó para los compuestos en estudio. Esto se vio reflejado en el coeficiente de Monod, ya que en el valor de μ no se ve reflejada la biodegradabilidad de ambos fármacos.

Los valores de k y K_s fueron bajos (comparados con los reportados por Metcalf y Eddy (2003); Valdez y González (2003) (K_s 25-100mgDQO·L⁻¹) lo cual indico una alta afinidad del sustrato para los microorganismos.

Con respecto al rendimiento celular la fracción de sustrato que se emplea para el crecimiento de la biomasa se observó un valor de 0.12 el cual es considerado bajo con respecto a los valores típicos que oscilan entre 0.4-0.8 lo cual quiere decir que menos de un 10% de la DQO consumida se convierte en biomasa (Ramalho, 1991, Metcalf y Eddy, 2003) lo cual puede deberse al lento crecimiento que tienen los microorganismos en este tipo de reactores al permitir altos TRC y de esta manera el sustrato consumido por los microorganismos solo fue utilizado para sus requerimientos energéticos y no para síntesis celular. Esto mismo se ve reflejado en el valor de kd debido a que la fracción de biomasa oxidada durante el proceso de respiración endógena o de desaparición de los microorganismos está por debajo del valor típico reportado (0.05-0.06 d⁻¹) este proceso se caracteriza por el consumo que realizan los microorganismos de su propia biomasa, a modo de reserva para poder continuar con sus funciones vitales.

$$\frac{1}{TRC} = -Y \cdot \frac{\mu}{SSV} - kd = Y \cdot \frac{S_0 - S}{SSV \cdot TRH} - kd \quad \text{Ecuación 4.4}$$

$$\mu_{max} = k \cdot Y \quad \text{Ecuación 4.5}$$

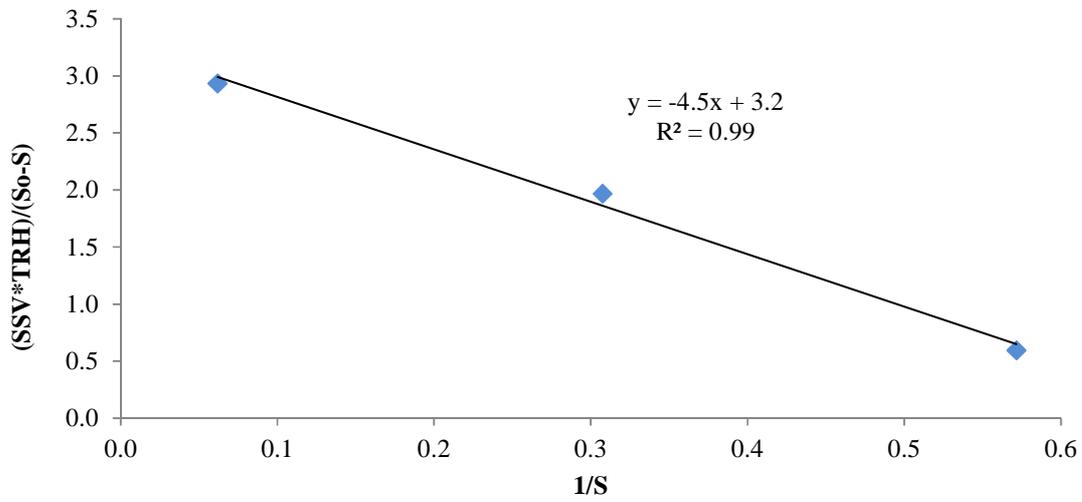


Figura 4.42 Determinación de los coeficientes cinéticos k y K_s

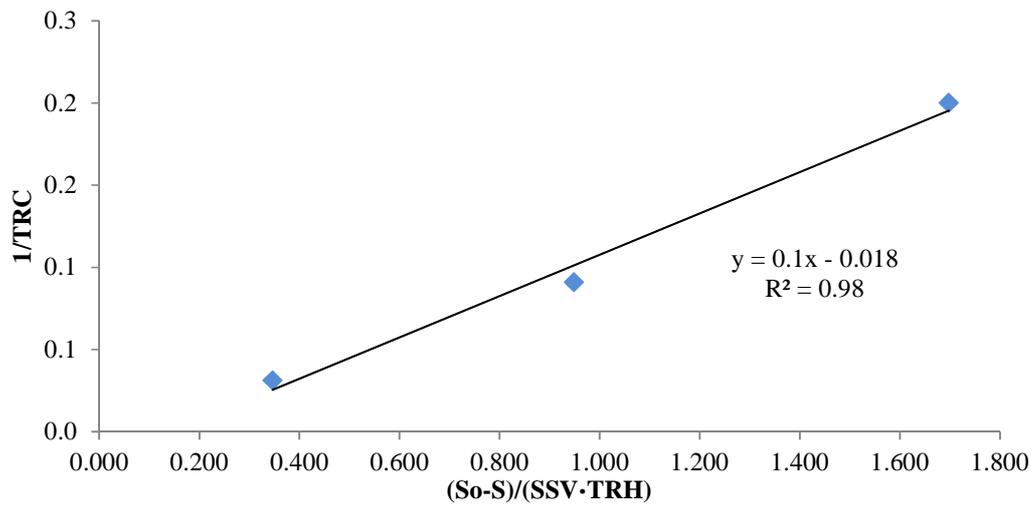


Figura 4.43 Determinación de los coeficientes cinéticos Y y kd

Tabla 4.17 Coeficientes cinéticos

k mgDQO·mgSSV·d ⁻¹	K_s mgDQO·L ⁻¹	kd d ⁻¹	Y , mgSSV·mgDQO ⁻¹	μ_m d ⁻¹
0.3	1.4	0.01	0.1	0.03

5. CONCLUSIONES

En este trabajo de investigación se determinaron los principales mecanismos de remoción de los fármacos reguladores de lípidos ACL y GFZ en aguas sintéticas tratadas mediante un sistema constituido por dos biorreactores con membranas sumergidas a escala piloto. Las concentraciones de los fármacos en los influentes, permeados y en el licor mezclado fueron determinadas mediante el desarrollo de un método analítico por cromatografía de gases masas-masas. Además se establecieron cuáles son los principales parámetros de operación y los procesos que integran el mecanismo de remoción de los fármacos. Las principales conclusiones de este estudio son las siguientes:

- El mecanismo de remoción de los fármacos ACL y GFZ fue la biodegradación y adsorción simultánea, siendo la biodegradación la principal vía de remoción tanto para GFZ (93-100%) como para el ACL (60-79%). Los altos TRC utilizados en esa investigación favorecieron la remoción de estos fármacos. Así mismo, se observó que la remoción de ambos compuestos aumentó de manera proporcional al aumento de la tasa de nitrificación, es decir la nitrificación favorece su remoción, por lo que se deduce que los compuestos son degradados por vías cometabólicas y debido a la presencia de la enzima amonio monooxigenasa.
- La sorción de los compuestos fármacos en la biomasa tuvo una aportación relativamente pequeña en su remoción, menor de 4% para ambos fármacos y esto se observó cuando se utilizaron concentraciones de biomasa de 10,000 mg·L⁻¹.
- Los resultados de las pruebas para determinar las cinéticas de remoción se ajustaron a un modelo de primer orden para el GFZ. En el caso de ACL los resultados se ajustaron a un modelo de pseudoprimer orden (con k_d) y al modelo de Monod. Esto confirma que los compuestos son biodegradados por vías cometabólicas. Los valores de los coeficientes cinéticos de k y K_s indicaron una alta afinidad de los microorganismos al sustrato. La fracción de sustrato utilizada para el crecimiento de la biomasa fue menor de 10% de la DQO consumida, esto es debido al lento crecimiento que tienen los microorganismos en este tipo de reactores al trabajar con altos TRC. El sustrato consumido por los microorganismos fue utilizado básicamente para sus requerimientos energéticos y no para síntesis celular. El decaimiento endógeno en el sistema fue relativamente bajo, lo cual se confirma con el valor de k_d dos-tres veces menor que los valores típicos reportados para aguas residuales municipales.
- Los biorreactores con membrana sumergida demostraron la capacidad de remover completamente el GFZ presente en el agua. TRC de 10 d y TRH de 4 h son suficientes para la obtener la completa remoción del GFZ, aplicando cargas orgánicas de 0.48 kgDQO·kgSST⁻¹·d⁻¹ y con SSTLM de 10,000 mg·L⁻¹. Valores de TRC y TRH ligeramente mayores, de 11 d y 7 h respectivamente, se necesitan cuando los SSTLM son de 6,000 mg·L⁻¹. La remoción del GFZ se atribuye

básicamente a biodegradación y no hay acumulación del compuesto en la biomasa. El compuesto ACL resultó ser más persistente en comparación con el GFZ, lográndose una remoción máxima de 84%. El aumento de los valores de TRC y TRH favorece la remoción del ACL. Remociones promedio de 78-79% fueron obtenidas con TRC de 16-32 d, TRH a 10 h, siendo la F/M de 0.21-0.34 $\text{kgDQO}\cdot\text{kgSST}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, TRH de 7-10 h y SSTLM de 6,000-10,000 mg/L. Con base en la cantidad de ACL determinada en la biomasa se puede afirmar que la principal vía de su remoción fue la biodegradación, ya que la contribución de la sorción en la biomasa fue de solo 1.0-2.5%.

- La variación de los parámetros de operación como F/M y TRC no influyó sobre la remoción de la DQO la cual fue mayor del 98% durante todo el periodo experimental. El uso de metanol como fuente de carbono en el agua sintética fue adecuado para realizar el estudio del mecanismo de remoción de los dos fármacos ACL y DFZ. El balance de masa permitió identificar los mecanismos de remoción de los fármacos, así como su transporte en el biorreactor, observándose una remoción por biodegradación y sorción simultánea.
- La operación de los reactores se realizó trabajando con fluxes de $23 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ y PTM menores de 27 kPa. Durante las pruebas abióticas realizadas se determinó que la remoción de los fármacos por adsorción en las membranas y en las paredes del reactor fue menor de 10%. Los coeficientes de sorción de los dos compuestos fármacos en estudio indicaron una alta afinidad de sorción en la biomasa inactiva.
- El método analítico desarrollado permite una óptima separación e identificación de los dos fármacos estudiados, logrando límites de detección instrumentales comprendidos entre $0.005\text{-}0.007 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en un tiempo menor de 10 min. La validación del método cromatográfico se realizó tanto en fase líquida como sólida, cumpliendo con la garantía de calidad de la prueba de desempeño CAGC7-06 para ambos compuestos.

6. REFERENCIAS

- Abegglen, C., Joss, A., McArdell, c., Fink, G. Schlu, M., Ternes, T., Siegrist, H. (2009). The fate of selected micropollutants in a single-house MBR. *Water Research*. 43, 2036–2046.
- Aguilar, C., Ramírez, E., Gallegos, J., Leyva, O., Oseguera, J., Lozano, H., Gómez, F. (2005). La hipertrigliceridemia familiar no se asocia a mayor prevalencia de complicaciones macrovasculares en la diabetes mellitus tipo 2. *Gaceta Médica de México*. 141. 3, 201-205.
- Aguilar, B. Jiménez, E. Becerril and P. Castro, Use of nanofiltration for potable water from an aquifer recharged with wastewater. *Water Science and Technology*. 57 (2008) 927–933.
- Alison, L., Spongberg, A., Witter, D. (2008). Pharmaceutical compounds in wastewater process stream in northwest Ohio. *Science of the Total Environment*. 397,148-157.
- Andreozzi, R., Marotta, R., Nicklas, P. (2003). Pharmaceutical in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* 50, 1319-1330.
- Antónic, J., Heath, E. (2007). Determination of NSAIDs in Rivers sediments samples. *Analytical and Bionalytical Chemistry*. 387, 1337-1342.
- Atkins, P y De Paula, J. (2008) Química Física. Ed. 2008. Buenos Aires: Medica Panamericana. 1096p.
- Associated Press. (2009) AP IMPACT: Tons of released drugs taint US water. *Associated Press Writers*. April 19, 2009.
- Ashton D, Hilton M, Thomas K. (2004). Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Science of the Total Environment*. 333, 167–184.
- American Public Health Association (APHA), 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd ed. APHA-AWWA-WEF, Washington, D.C.
- Bandala, E., Pelaez, M., Dionysiou, D., Gelover, S., Garcia, J., Macias, D. (2006). Degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) using cobalt-peroxymonosulfate in fenton-like process. *Journal of Photobiology a: Chemistry*.
- Barceló, D. (2007). Pharmaceuticals residues analysis. *Trends in Analytical Chemistry*. 26. 6, 454-455.
- Barceló, D., López, A. (2007). Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Fundación Nueva Cultura del Agua. Panel científico-técnico de seguimiento de la política de aguas. *Universidad de Sevilla-Ministerio de Medio Ambiente*. 28 p.
- Barceló, D., Petrovick, M. (2006). The handbook of environmental chemistry. Emerging contaminant from industrial and municipal waste: occurrence, Analysis and effects. España, Ed. Springer. Vol.5. 288p.
- Basile, A. (2013). Handbook of membrane reactors: Reactor Types and Industrial Applications (Woodhead Publishing Series in Energy). Woodhead Publishing; 1 edition. 968p.
- Barret, M., Carrere, H., Latrille, E., Wisniewski, C., Patureau, D. (2010) Micropollutant and sludge characterization for modelling sorption equilibria. *Environmental Science and Technology*. 44, 1100-1106.
- Batt, A., Kim, S., Aga, D., (2006). Enhanced biodegradation of iopromide and trimethoprim in nitrifying activated sludge. *Environmental Science and Technology*. 40, 7367–7373.

- Beaubien, A., Bâty, M., Jeannot, F., E. Francoeur E., Manem J. (1996). Design and operation of anaerobic membrane bioreactors: development of a filtration testing strategy. *Journal of Membrane Science*. 109, 173-184.
- Becker, A., Gerstmann, S., Hartmunt, F., 2008. Perfluorotanoic acid and perfluoroactane sulfonate in the sediment of the Roter Main River; Bayreuth Germany. *Environmental Pollution*. 156, 818-820.
- Behera, S., Kim, H., Oh, J., Park, H. (2011). Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. *Science of Total Environment*. 40, 4351-4360.
- Bellido, D. (2006). Metabolismos de fármacos y sus implicaciones clínicas. Manual de Nutrición y metabolismo. Cap 10. 1 ed. Sep. 625p.
- Benotti, M., Stanford, D., Wert, C., Snyder, A. (2009). Evaluation of photocatalytic reactor membrane pilot system for the removal of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds from wastewater. *Water Research*. 43, 1513-1522.
- Bernhard, M., Müller, J., Knepper, T. (2006). Biodegradation of persistent polar pollutants in wastewater: Comparison of optimized lab-scale membrane bioreactor and activated sludge treatment. *Water Research*. 40, 3419-3428.
- Borgmann, U., Bennie, D., Ball, A., Palabrica, V. (2007). Effect of a mixture of seven pharmaceuticals on *hyalella azteca* over multiple generations. *Chemosphere*. 66, 1278-1283.
- Boiesen, A., Arvin, E., Broholm, K. (1993). Effect of mineral nutrients on the kinetics of methane utilization by *methanotrophs*. *Biodegradation* 4, 163-170.
- Buisson, H., Cote, P., Praderie, M., Paillrd, H. (1998). The use of immersed membranes for upgrading wastewater treatment plants. *Water Science and Technology*. 37, 89-95.
- Burke, M. (2008). Something in the water, Drugs have been finding their way into our water supplies for as long as they have been in use, so should we worry? *Chemistry World*. 48-52.
- Buser, H., Muller, M., Theobald, N. (1998). Occurrence of the pharmaceuticals drug clofibrac acid and the herbicide mecoprop in various Swiss lakes and in the North Sea. *Environmental Science and Technology*. 32. 1, 182-192.
- Brady, F. (2003). Tratamiento de aguas residuales por ultrafiltración en operación de lote modificado. *Agua Latinoamérica*. Enero/febrero. 38-41p.
- Carballa, M., Omil, F., Lema, J., Lomopart, M., García, C., Rodríguez, I., Gómez, M., Ternes, T. (2005). Behavior of pharmaceutical and personal care products in a sewage treatment plant of northwest Spain. *Water Science and Technology*. 8, 29-35.
- Carballa, M., Omil, F., Lema, J.M., 2007. Calculation methods to perform mass balances of micropollutants in sewage treatment plants. Application to pharmaceutical and personal care products (PPCPs). *Environmental Science and Technology*. 41, 884-890.
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., Pomati, F., Calamari, D., Zuccato, E. (2006). Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. *Environmental Science and Technology*. 40, 347-363.
- Camacho-Muñoz, D., Martín, J., Santos, J., Aparicio, I., Alonso, E. (2014). Concentration evolution of pharmaceutically active compounds in raw urban and industrial wastewater. *Chemosphere* 111, 70-79.
- Canesi, L., Lorussol L., Ciacci, C., Betti, M., Regoli, F., Poiana, G., Gallo, G., Marcomini, A. (2007). Effects of blood lipid lowering pharmaceuticals (bezafibrate and gemfibrozil) on

- immune and digestive gland functions of bivalve mollusc, *mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere*. 69, 994-1002.
- Csay, T., Rácz, G., Salik, A., Takács, E., Wojnárovits, L. (2014). Reactions of clofibric acid with oxidative and reductive radicals Products, mechanisms, efficiency and toxic effects. *Radiation Physics and Chemistry*. 102, 72–78.
- CCA (Centro Canario del Agua). (2003). Introducción a los biorreactores de membrana. Fundación centro Canario del Agua. 27 p.
- Chávez, A., Maya, C., Gibson, R., Jiménez, B. (2011). The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during infiltration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, Mexico. *Environmental Pollution* 159:1354-1362.
- Chávez, A., Maya, C., Gibson, R., Jiménez, B. (2011). The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during infiltration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, Mexico. *Environmental Pollution* 159:1354-1362.
- Chen, H., Wang, P., Ding, W. (2008). Using liquid chromatography–ion trap mass spectrometry to determine pharmaceutical residues in Taiwanese rivers and wastewaters. *Chemosphere*. 72, 863–869.
- Cheremisinoff, N. (2002). Handbook of water and wastewater treatment technologies. Ed Utterworth-Heinemann. 654pp.
- Chiemschaisri, C., Yamamoto, K. (1993). Performance of membrane separation bioreactor at various temperatures for domestic wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*. 87, 119-129.
- Cho, J., Song, K., Yun, H., Ahn, K., Kim, J., Cheng, T. (2005). Quantitative analysis of biological effect on membrane fouling in submerged membrane bioreactor. *Water Science and Technology*. 5, 9-18.
- Cicek, N., Winnen, H., Suidan, M., Wrenn, B., Urbain, V., Manem, J. (1998). Effectiveness of the membrane bioreactor in the biodegradation of high molecular weight compounds. *Water Research*. 32, 1553-1563.
- Clara, M., Strenn, B., Ausserleitner, M., Kreuzinger, N. (2004). Comparison of the behavior of selected micropollutants in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plant. *Water Science and Technology*. 50. 5, 29-36.
- Clara, M., Kreuzinger, N., Strenn, B., Gans, O., Kroiss, H. (2005a). The solids retention time a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants. *Water Research*. 39, 97-106.
- Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N., Kroiss, H. (2005b). Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Research*. 39, 4797-4807.
- Cleuvers, M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceutical including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters*. 142, 185-194.
- Coimbra, A., João Peixoto, M., Coelho, I., Lacerda, R., Carvalho, P., Gesto, M., Lyssimachou, A., Lima, D., Soares, J., André, A., Capitão, A., Castro, L., Santos, M (2015). Chronic effects of clofibric acid in zebrafish (*Danio rerio*): A multigenerational study. *Aquatic Toxicology* 160: 76–86.
- Cruz-Moratúa, C., Jeli, A., Perez, S., Petrović, M., Barceló, S., Marco-Urrea, E., Sarrá, M., Vicenta, T. (2013). Continuous treatment of clofibric acid by *Trametes versicolor* in a

fluidized bed bioreactor: Identification of transformation products and toxicity assessment. *Biochemical Engineering Journal*.75,79-85.

- Comerton, M., Andrews, C., Bagley, M. (2009). The influence of natural organic matter and cations on the rejection of endocrine disrupting and pharmaceutically active compounds by nanofiltration. *Water Research*. 43, 613-622.
- Cortancans, T., Hernández, A., Del Castillo, I., Montes, E., Hernández, M. (2005). Presencia de fármacos en aguas residuales y eficacia de los procesos convencionales en su eliminación. *Catedra de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Universidad politécnica de Madrid*. 13p.
- Corcoran, J., Winter, M., Lange, A., Cumming, R., Stewart, F. (2015). Owenb, Charles, R. Tylera,* Effects of the lipid regulating drug clofibric acid on PPAR α -regulated gene transcript levels in common carp (*Cyprinus carpio*) at pharmacological and environmental exposure levels. *Aquatic Toxicology*. Accepted date: 31-1. 2015.
- Coleman, H., Khan, S., Watkins, G., Stuetz, R. (2007). Fate and analysis of endocrine disrupting chemicals in some sewage treatment plants in Australia. *Water Science and Technology*. 58, 2187-2194.
- Cote, P., Buisson, H., Pound, C., Arakaki, G. (1997). Immersed membrane activated sludge for the reuse of municipal wastewater. *Desalination*. 113, 189-196.
- Côté, P., Masini, M., Mourato, D.(2004). Comparison of membrane options for water reuse and reclamation. *Desalination* 167,1-11.
- D'Alessio, M., Yoneyama, B., Ray, C. (2015). Fate of selected pharmaceutically active compounds during simulated riverbank filtration. *Science of the Total Environment*. 505, 615-622.
- Daughton, C. (2001). Emerging pollutants and communicating the science of environmental chemistry and mass spectrometry: pharmaceuticals in the environment. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 12, 1067-1076.
- Dalkmann, P., Broszat, M., Siebe, C., Willaschek, E., Sakinc, T., Huebner, J., Amelung, W., Grohmann, E., Siemens, J.(2012). Accumulation of pharmaceuticals, *Enterococcus*, and resistance genes in soils irrigated with wastewater for zero to 100 year in Central Mexico. e45397 *PLOS ONE*. 7:9, 1-10.
- Davidson, H., Armani, A., McKenney, J., Jacobson, T. (2007). Safety Considerations with Fibrate Therapy. *The American Journal of Cardiology*. Vol. 99, Issue 6A
- Deborde, M., Gunten, V. (2008). Reaction of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment- kinetics and mechanisms: a critical review. *Water Research*. 42, 13-51.
- Defrance, L., Jaffrin, M. (1998). Comparison between filtrations at fixed transmembrane pressure and fixed permeate flux: application to a membrane bioreactor used for wastewater treatment. *Journal of Membrane Science* 152, 203-210.
- Delgado, S. (2009). Nuevas tecnologías de depuración de aguas residuales. Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Química. Universidad de La Laguna. España. 9p.
- Dickenson, E., Shane, A., Snyder, A., Sedlak, D., Drewes, J. (2011). Indicator compounds for assessment of wastewater effluent contributions to flow and water quality. *Water Research*. 45, 199- 212.

- Diedrich, H. (2007). Risk assessment of emerging contaminants in aquatic system. *Trends in Analytical chemistry*. 26.11, 1095-1099.
- Dorne, J., Skinner, L., Frampton, D., Sputgeon, J. Ragas, D. (2007). Human and environmental risk assessment of pharmaceuticals: differences, similarities, lessons from toxicology. *Analytical and Bionalytical Chemistry*. 387, 1259-1268.
- Durán-Alvarez, J., Becerril-Bravo, E., Silva, V., Jiménez-Cisneros, B., Gibson, R. (2009). The analysis of a group of acidic pharmaceuticals, carbamazepine, and potential endocrine disrupting compounds in wastewater irrigated soils by gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta* 78: 1159–1166.
- Durán-Álvarez, J., Prado-Pano, B., Jiménez-Cisneros, B. (2012). Sorption and desorption of carbamazepine, naproxen and triclosan in a soil irrigated with raw wastewater: Estimation of the sorption parameters by considering the initial mass of the compounds in the soil. *Chemosphere* 88: 84–90.
- Duran-Alvarez, J., Jimenez- Cisneros, B. (2014). Beneficial and negative impacts on soil by the reuse of treated/untreated municipal wastewater for agricultural irrigation-a review of the current knowledge and future perspectives. Environmental Risk assessments of soils contamination. Chapter 5. Book edited by Maria C. Hernandez-Soriano, ISBN 978-953-51-1235-8, Published: March 26, 2014 under CC BY 3.0 license.
- Drewes, J., Heberer, T., Rauch, T., Reddersen, K. (2003). Fate on pharmaceutical during Ground Water Recharge. *Ground Water Monitoring and Remediation*. 23, 64-72.
- Drewes, E., Hemming, H., Ladenburger, J., Schaeue, J., Sonzogni, W. (2005). An assessment of endocrine disrupting activity changes during wastewater treatment through the use of bioassays and chemical measurements. *Water Environment Research*. 77, 12–23.
- EMA, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. (2001). Draft CPMP discussion paper on environmental risk assessment of non genetically modified organism (non-GOM) containing medicinal products for human use. CPMP/SWP/4447/00. Draft report London, UK.
- EMA, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. (2006). Guideline on the Environmental Risk assessment of medicinal products for human Use. EMA/CHSWP/4447/00. London, 12 pp.
- Emblidge, J., DeLorenzo, P. (2006.) Preliminary risk assessment of the lipid-regulating pharmaceutical clofibrac acid, for three estuarine species. *Environmental Research*. 10, 216-226.
- Estrada-Arriaga, E.B., Mijaylova, N.P. (2010). A comparison of biodegradation kinetic models applied to estrogen removal with nitrifying activated sludge. *Water Science and Technology*. 62, 2183-2189.
- European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations. (2003). The pharmaceutical industry in figures: update [online] Available at [www efpia.org/6_pub1/Inffigures2003.pdf](http://www.efpia.org/6_pub1/Inffigures2003.pdf) (verified 23 Aug.2004). EFPIA, Brussels.
- EPA. (2008). Environmental Protection Emergency Response. United States Solid Waste and EPA 505-F-07-003 Agency (5106P) 1.
- EUR. European Commission. (2010). Membrane technologies for water applications. Highlights from a selection of European research projects. 7th Framework programme.

- Fava, F., Armenante, P.M., Kafkewitz, D., Marchetti, L. (1995). Influence of organic and inorganic growth supplements on the aerobic biodegradation of chlorobenzoic acids. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 43, 171–177.
- Farre, M., Petrovic, M., Barceló, D. (2007). Recently developed GC/MS and LC/MS methods for determining NSAIDs in water samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387, 1203-1214.
- Fan, X., Urbain, V., Qian, Y., Manem, J. (1996). Nitrification and mass balance with a membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. *Water Science and Technology*. 34, 129-136.
- Fane, A., Chang, S. (2002). Membrane Bioreactors: Design and Operational Options. *Filtration and Separation*. 26-28p.
- Fatta, D., Nikolaou, A., Achilleos, A., Meric, S. (2007). Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. *Trac Trends in Analytical Chemistry*. 26, 515-533.
- Fauzi, I.A., Matsuura, T. (2012). *Sustainable Membrane Technology for Energy, Water and Environment*. Editorial Wiley. 352p.
- Fernandez-Fontaina, E., Carballa, M., Omil, F., Lema, J. (2012). Influence of nitrifying conditions on the biodegradation and sorption of emerging micropollutants. *Water Research*. 46, 5434-5444.
- Ferrari, B., Paxéus, R., Giudice, A., Pollio, G., Garric, J. (2003). Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: Study of carbamezepine, clofibrac acid and diclofenac. *Ecotoxicology environment safety*. 55, 359- 370.
- Ferrari, B., Mons, R., Vollat, B., Fraysse, B., Paxéus, R. Giudice, A., Pollio, G., Garric, J. (2004). Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? *Environmental Toxicology and chemistry*. 23.5, 1244-1354.
- Ferreira, M., Geilvoet, S., Moreau, A., Atasoy, E., Krzeminski, P., Van Nieuwenhuijzen, J., Van-derGraaf S. (2010). MLSS concentration: Still a poorly understood parameter in MBR filterability. *Desalination*. 250, 618–622.
- Félix-Cañedo, T., Durán-Álvarez, J., Jiménez-Cisneros, B. (2013). The occurrence and distribution of a group of organic micropollutants in Mexico City's water sources. *Science of the Total Environment*. 454–455:109–118.
- Fent, K., Weston A., Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic toxicology*. 76,122-159.
- Flores, J., Media, V., Armijo, J. (2008). *Metabolismo de los fármacos*. Farmacología humana. 6 Ed. Masson Barcelona. 1540 p.
- Fogler, S. (2001). *Principios y cálculos básicos de la ingeniería química*. Ed. Printice-Hall. 998p.
- Forrez, I., Carballa, M., Noppe, H., De Brabander, H., Boon, N., Verstraete, W. (2009). Influence of manganese and ammonium oxidation on the removal of 17 α -ethinylestradiol (EE2). *Water Research*. 43, 77-86.
- Fundacion Española del Corazon. (2009). Recuperado el día 26 de septiembre, 2009 de dirección electronica <http://www.fundaciondelcorazon.com/> documento disponible el es sitio web.

- Gagnon, C., Lajeunesse, A., Cejka, P., Gagné, F., Hausler, R. (2008). Degradation of selected acid and neutral pharmaceutical products in a primary-treated wastewater by disinfection processes. *Ozone: Science and Engineering*. 30, 387-392.
- Garzón-Zúñiga, M.A. ; Lessard, P. & Buelna G. (2003). Determination of the hydraulic residence time in a trickling biofilter filled with organic matter. *Environmental Technology* 24 (5) pp. 605 – 614.
- Gander, M., Jefferson, B., Judd S. (2000). Membrane bioreactors for use in small wastewater treatment plants: membrane materials and effluent quality. *Water Science and Technology*. 41, 205–211.
- Galus, M., Jeyaranjaan, J., Smith, E., Li, H., Metcalfe, C., Wilson, J. (2013). Chronic effects of exposure to a pharmaceutical mixture and municipal wastewater in zebrafish. *Aquatic Toxicology*. 132– 133, 212– 222.
- Ghyoot, W., Vandaele, S., Verstraete, W. (1999). Nitrogen removal from sludge reject water with a membrane-assisted bioreactor. *Water Research*. 33, 23-32.
- Gibson, R., Becerril-Bravo, E., Silva-Castro, V., Jiménez-Cisneros, B. (2007). Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and determination by gas chromatography – mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1169, 31-39.
- Gibson R., Durán-Alvarez J.C., León E.K. , Chávez A., Jimenez C.B. (2010). Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula, Valley, Mexico. *Chemosphere* 81:1437-1445.
- Grelier, P., Rosenberger, S., Tazi-Pain, A. (2006). Influence of sludge retention time on membrane bioreactor hydraulic performance. *Desalination*. 192, 10-17.
- Göbel, A., McArdeell, C., Joss, A., Siegrist, H., Giger, W. (2007). Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies, *Science of the Total Environment*. 372, 361–371.
- Gorman, D. (2001). Department-of-health-Canada: Notice to interested parties-Intent to develop environmental assessment regulations for products regulate under the food and drug act. *Canadian Gazette part I*. 135, 3282-3283.
- Gómez M., Petrovic, M., Fernández-Alba, R., Barceló, D. (2006). Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. *Journal of Chromatography A*. 1114, 224–233.
- Gracia-Lor, E., Sancho, J.V., Serrano, R., Hernández, F. (2012). Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia. *Chemosphere*. 87, 453-462.
- Graeme, P. (2008). Introduction to membranes–MBRs: Manufacturers' comparison: part 1. *Filtration and Separation*. 45, 28-31.
- Gregus, Z., Fekete, E., Halászi, E., Ágners G., Klaassen, C. (1998). Effects of fibrates on glycine conjugation of benzoic acid in rats. *Drug metabolism and disposition*. 26, 11-16.
- Grenni, P., Patrolecco, L., Ademollo, N., Tolomei, A., Barra, A. (2013). Degradation of Gemfibrozil and Naproxen in a river water ecosystem. *Microchemical Journal*. 107, 158-164.
- Gross, M., Petrovic, M., Barceló, D. (2006). Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography- tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for

- screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta*. 70. 4, 678–690.
- Gross, M., Petrovic, M., Barceló, D. (2007). Wastewater treatment plant as a pathway for aquatic contamination by pharmaceuticals in the Ebro River basin (Northeast Spain). *Environmental toxicology and chemistry*. 26, 1553-1562.
- Gross, M., Petrovic, M., Ginebrada, A., Barceló, D. 2010. Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environment International*. 36, 15.26.
- Hallin-Sorensen, B., Nielsen, N., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Lützhof, H., Jorgensen, S.E. (1998). Occurrence, fate and effect of pharmaceutical substances in the environment. *Chemosphere*. 36, 357-393.
- Hao, C., Zhao, X., Yang, P. (2007). GC-MS and HPLC-MS analysis of bioactive pharmaceuticals and personal care products in environmental matrices. *Trends in Analytical Chemistry*. 26, 569-580.
- Haseborg, Q., Frimmel, H. (2007). Impact of selected pollutants in synthetic industrial wastewater on nitrifying biofilms in fixed bed biofilms reactors –visualized with fluorescence in-situ hybridization. *Analytical letters*. 40, 1473- 1486.
- Hasan, Z., Jeon, J. Jhung, S. (2012). Adsorptive removal of naproxen and clofibric acid from water using metal-organic frameworks. *Journal of Hazardous Materials*. 209– 210. 151– 157.
- Hao, C., Clement, R., Yang, P. (2007). Liquid chromatography–tandem mass spectrometry of bioactive pharmaceutical compounds in the aquatic environment—a decade’s activities. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387: 4, 1247-1257
- Heather M. Coleman, H., Troester, S., Khan, J., McDonald, A., Watkins, G., Stuetz, R. (2009). Assessment of trace organic chemical removal by a membrane bioreactor using gas chromatography/mass spectrometry and a yeast screen bioassay. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 28, 2537–2545.
- Henschel, P., Wenzel, A., Diedrich, M., Fliender, A. (1997). Environmental hazard assessment of pharmaceuticals. *Regulatory toxicology and Pharmacology*. 22, 220-225.
- Hernando, M., Petrovic, M., Fernandez, A., Barceló, D. (2004). Analysis by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and acute toxicity evaluation for B- blockers and lipid –regulating agents in wastewater samples. *Journal of chromatography A*. 1046. 133-140.
- Hirsch R, Ternes TA, Haberer K, Kratz K-L. (1999). Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Science of Total Environment*. 225, 109–18.
- HidroWater (2010). Ultrafiltration industrial. Catálogo Mempure by Hidro Water. 6p.
- Holbrook, D., Novak, T., Grizzard, J., Love, G. (2002). Estrogen receptor agonist fate during wastewater and biosolids treatment processes: A mass balance analysis. *Environmental Science and Technology*. 36, 4533–4539.
- Hu, Y., Chen, X., Tao, G., Kekred, K. (2007). Fate of endocrine disrupting compounds in membrane bioreactor systems. *Environment Science Technology* : 41,4097–4102.
- Huang, X., Gui, P., Qian, Y. (2001). Effect of sludge retention time on microbial behavior in submerged membrane bioreactor. *Process Biochemistry*. 36, 1001-1006.

- Huschek G, Hansen PD, Maurer HH, Krenzel D, Kayser A. (2004). Environmental risk assessment of medicinal products for human use according to European Commission recommendations. *Environmental Toxicology*. 19, 226–40.
- Hyland, K., Dickenson, E., Drewes, J., Higgins, C. (2012). Sorption of ionized and neutral emerging trace organic compounds onto activated sludge from different wastewater treatment configurations. *Water Research*. 46, 1958–1968.
- International Organization for standardization. (2007). Water quality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) – Part 3: Method using freeze-dried bacteria ISO 11348-3:2007
- IUPAC. (2013). Nomenclature of Organic Compounds. A guide to the Blue Book. The most recent version of Nomenclature of Organic Chemistry. Recommendations and Preferred Name 2013 (Blue Book) was published in December 2013. These rules supercede 1979 and 1993 recommendations.
- Isidori, M., Nardelli, A., Pascarella, L., Rubino, M., Parrella, A. 2007. Toxic and genotoxic impact of fibrates and their photoproducts on non-target organisms. *Environment International*. 33, 635–641.
- Jáuregui, H., Zarragoitia, Z., Quesada, I., Wilhelm, A., Delmas, H., Albas, C. (2007). Biorreactores de membrana y ultrasonido: Tecnologías emergentes para el tratamiento de residuales hospitalarios. VII Congreso de la Sociedad Cubana de Bioingeniería Habana.
- Jefferson, B., Laine, A., Stephenson, T., Judd, S., (2001). Advanced biological unit processes for domestic water recycling. *Water Science and Technology*. 43, 211–218.
- Jelic, A., Gross, M., Ginebrada, A., Cespedes-Sánchez., De Francesco, V., Petrovic, M., Barcelo, D. (2011). Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water Research*. 45, 1165-1176.
- Jemba, K. (2006). Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. *Ecotoxicology Environmental Safety*. 63,113–30.
- Jenkins, D., Richard, M., Daigger, G. (2004). Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems. *IWA Publishing*. 190p.
- Jimenez-Cisneros, B. (1995). Wastewater reuse to increase soil productivity. *Water Science and Technology*. 32, 12: 173-180.
- Jiménez, B., Chávez, A. (2004). Quality assessment of an aquifer recharged with wastewater for its potential use as drinking source: “El Mezquital Valley” case. *Water Science and Technology* 50, 269–276.
- Jimenez-Cisneros, B. (2014). Water Recycling and Reuse: An overview. *Water Reclamation and Sustainability* 18: 431–454.
- Di Marzi, W. (2004). Microbiología de lodos activados: una herramienta retrospectiva y predictiva de la depuración de efluentes. *AGUA LATINOAMÉRICA*. septiembre/octubre. 2p
- Joss, A., Andersen, H., Ternes, T., Richle, P., Siegrist, H. (2004). Removal of estrogens in municipal wastewater treatment under aerobic and anaerobic conditions: consequences for plant optimization. *Environmental Science and Technology*. 38, 3047-3055.
- Joss, A., Keller, E., Alder, A., Göbel, A., McArdell, S., Ternes, T., Hansrvedi, S. (2005). Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Research*. 39, 3139-3152.

- Joss, A., Zabczynski, S., Göbel, A., Hoffmann, B., Löffler, D., McArdell, C., Ternes, T., Thomsen, A., Siegrist, H. (2006). Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme. *Water Research*. 40, 1686-1696.
- Judd, S. (2002). Submerged Membrane Bioreactors: Flat Plate or Hollow Fibre? *Filtration and Separation*. 39.5, 30-31.
- Judd, S. (2005). Fouling control in submerged membrane bioreactors. *Water Science and Technology*. 51, 6-7: 27-34.
- Judd, S., Judd, C. (2006). *The MBR Book, Principles and Applications of Membrane Bioreactors in Water and Wastewater Treatment*. Kindle Editions, September 27, 325p.
- Jux U, Baginski R, Arnold H G, Krönke M, Seng P. (2002). Detection of pharmaceutical contaminations of river, pond, and tap water from Cologne (Germany) and surroundings. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 205. 393–398.
- Kanda, R., Griffin, P., Huw, J., Fothergill, J. (2003). Pharmaceutical and personal care products in sewage treatment works. *Journal of Environmental Monitoring*. 5, 823-830.
- Khan SJ, Ongerth JE (2002). Estimation of pharmaceutical residues in primary and secondary sewage sludge based on quantities of use and fugacity modeling. *Water Science and Technology*. 46, 105-113.
- Khan, J., Visvanathan, C., Jegatheesan, V. (2009). Prediction of membrane fouling in MBR systems using empirically estimated specific cake resistance. *Bioresource Technology*. 100, 6133-6136.
- Kasprzyk, H., Dinsdale, A., Guwy, J. (2008). Multiresidue method for the analysis of pharmaceuticals, personal care products and illicit drugs in surface water and wastewater by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical and Bionalytical Chemistry*. 391, 1293-1308.
- Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale RM, Guwy AJ. (2009). The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water Research*. 43,363–80.
- Kyu, S. M., Byeong, G. C., Kyu-Tae, L., Kyung, G. S. (2013). Influences of solid retention time, nitrification and microbial activity on the attenuation of pharmaceuticals and estrogens in membrane bioreactors. *Water Research*. 47, 3151-3162.
- Kerr, J., Gou, Z., Smith, D., Goss, G., Belosevic, M. (2008). Use of goldfish to monitor wastewater and reuse water for xenobiotics. *Journal of Environmental Engineering and Science*. 7, 369-383.
- Kimura, K., Hara, H., Watanabe, Y. (2005). Removal of pharmaceutical compounds by submerged membrane bioreactors. *Desalination*. 178, 135-140.
- Kimura, K., Hara, h., Watanabe, Y. (2007) Elimination of selected acid pharmaceutical from municipal wastewater by activated sludge system and membrane bioreactors. *Environmental Science and Technology*. 41, 3708-3714.
- Köck M, Farré M, Martínez E, Gajda-Schranz K, Ginebreda A, Navarro A, (2010). Integrated ecotoxicological and chemical approach for the assessment of pesticide pollution in the Ebro River delta (Spain). *Journal of Hydrology*. 383, 73–82.
- Köck-Schulmeyer M, Villagrasa M, López de Alda M, Céspedes-Sánchez R, Ventura F, Barceló D. (2013). Occurrence and behavior of pesticides in wastewater treatment plants and their environmental impact. *Science of Total Environment*. 458, 466–76.

- Kolpin, W., Furlong, T., Meryer, M., Thurman, E., Zaugg, D., Barber, L., Buxton, H. (2002). Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in U.S. Streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environmental Science and Technology*. 36, 1202-1211.
- Krakoff, J., Vela, S., Brinton, E. (2000). The role of fibric acids derivatives in the secondary prevention of coronary heart disease. *Current Cardiology Report*. 2, 452-458.
- Kraigher, B., Mandic-Mulec, I. (2011). Nitrification activity and community structure of nitrite-oxidizing bacteria in the bioreactors operated with addition of pharmaceuticals. *Journal of Hazardous Materials*. 188,78-84.
- Kosjek, T., Heat, E., Kompare, B. (2007). Removal of pharmaceutical residues in a pilot plant wastewater treatment plant. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387, 1379-1387.
- Kosma, C., Lambropoulou, D., Albanis, T. 2010. Occurrence and removal of PPCPs in municipal and hospital wastewaters in Greece. *Journal of Hazardous Materials*. 179, 804-817.
- Kovalova L, Siegrist H, Singer H, Wittmer A, McArdell CS. (2012). Hospital wastewater treatment by membrane bioreactor: performance and efficiency for organic micropollutant elimination. *Environmental Science and Technology*. 46, 1536-45.
- Kumagai, T., Inoue, T., Mihara, Y., Ebina, K., Yokota, K. (2006). Influences of Drugs on the Oxygen Uptake Rate and Biosorption of Activated Sludge. *Biological pharmaceutical bulletin*. 29, 183-186 .
- Labandeira, A., Eljarrat, E., Barceló, D. (2007). Congener distribution of polybrominated diphenyl ethers in feral carp (*Cyprinus carpio*) from the Llobregat River, Spain. *Environmental Pollution*. 146, 188-195.
- Lacorte, S., Raldu´a A., Mart´inez, E., Navarro, A., Diez, S., Bayona, M., Barceló, D. (2006). Pilot survey of a broad range of priority pollutants in sediment and fish from the Ebro river basin (NE Spain). *Environmental Pollution*. 140, 471-482.
- Lacey, C., Basha, S., Morrissey, A., Tobin, J., (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater process streams in Dublin, Ireland. *Environmental Monitoring Assessment*: 184:1049-1062.
- Lacina, P., Mravcová, L., Vávrová, M. (2013). Application of comprehensive two dimensional gas chromatography with mass spectrometric detection for the analysis of selected drug residues in wastewater and surface wáter. *Journal of Environmental Sciences*. 25, 204-212
- Lajeunesse, A., Gagnon, C. (2007). Determination of acid pharmaceutical products and carbamezapine in roughly primary-treated wastewater by solid-phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*. 87, 565-578.
- Langel K, Gunnar T, Ariniemi K, Rajmäki O, Lillsunde P. (2011). A validated method for the detection and quantitation of 50 drugs of abuse and medicinal drugs in oral fluid by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 879: 13-14, 859-870
- Larson, A. (2009). Microbial diversity and development of antibiotic resistance associated with industrial wastewater treatment. 750,000 SEK to ERB Moore (JL co-applicant).
- Lehrer, T. (2009). Ecology and wildlife, Pharmed Fish. *Environmental Health Perspectives* 117. 6, A240.

- Lee H B, Peart T E, Svoboda M L (2005). Determination of endocrine-disrupting phenols, acidit pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 109, 122–129.
- Levenspiel, O. (2002). Ingeniería de las reacciones químicas. Ed. Reverte. 638p.
- Lin, W., Chen, C., Ding, W. (2005). Determination of pharmaceutical residues in waters by solid-phase extraction and large-volume on-line derivatization with gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1065. 2, 279-285.
- Li, H., M. Yang, Y. Zhang, T. Yu and Y. Kamagata, 2006. Nitrification performance and microbial community dynamics in a submerged membrane bioreactor with complete sludge retention. *J. Biotechnol.*, 123: 60-70.
- Li, Y., Zhu, G., Jern , N. Keat, S., Tan , K (2014). A review on removing pharmaceutical contaminants fromwastewater by constructed wetlands: Design, performance and mechanism. *Science of the Total Environment*. 468–469, 908–932.
- Li, C., Cabassud, C., Bernard, R., Guigui, R. (2015). Effects of pharmaceutical micropollutants on the membrane fouling of a submerged MBR treating municipal wastewater: Case of continuous pollution by carbamazepine. *Water Research*. 69, 183 194
- Liebig, T., Wagner, M., Bjerrum, L., Denecke, M. (2001). Nitrification performance and nitrifier community composition of a chemostat and a membrane-assisted bioreactor for the nitrification of sludge reject water. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 24, 203-210.
- Lishman, L., Smyth, S.A., Sarafin, K., Kleywegt, S., Toito, J., Peart, T., Lee, B., Servos, M., Beland, M., and Seto, P. (2006). Occurrence and reductions of pharmaceuticals and personal care products and estrogens by municipal wastewater treatment plants in Ontario, Canada. *Science of the Total Environment*. 367, 544–558.
- Lin AY-C, Tsai Y-T, Yu T-H, Wang X-H, Lin C-F. (2011). Occurrence and fate of pharmaceuticals and personal care products in Taiwan's aquatic environment. *Desalination and Water Treatment*. 32, 57–64.
- Liu, Q., Zhou, Y., Lingyun, C., Zheng, C. (2010). Application of MBR for hospital wastewater treatment in China. *Desalination* 250, 605–608.
- Loos R, Carvalho R, António DC, Comero S, Locoro G, Tavazzi S, (2013). EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Research*. 47, 6475–6487.
- Luo, W., Hai, F., Price, W., Guo, W., Ngo, H., Yamamoto, K., Nghiem, L. (2014). High retention membrane bioreactors: Challenges and opportunities. *Bioresource Technology* 167, 539–546.
- Luo, W., Hai, F., Kang, K., Price, W., Guo, W., Ngo, H., Yamamoto, K., Nghiem, L. (2015). Effects of salinity build-up on biomass characteristics and trace organic chemical removal: Implications on the development of high retention membrane bioreactors. *Bioresource Technology*. 177, 274–281.
- Magdeburg, A., Stalter, D., Schlüsener, M., Ternes, T., Oehlmann, J. (2014). Evaluating the efficiency of advanced wastewater treatment: Target analysis of organic contaminants and (geno-)toxicity assessment tell a different story. *Water Research*. 50, 35-47.
- Martín, J., Santos J., Aparicio, I., Alanso, E., (2010). Multi-residue method for the analysis of pharmaceutical compounds in sewage sludge, compost and sediments by sonication-assisted extraction and LC determination. *Journal of Separation Science*. 33, 1760-1766.

- Martínez-Hernández, S., Texier, A.-C., de Maria Cuervo-López, F., Gómez, J. (2011). 2-Chlorophenol consumption and its effect on the nitrifying sludge. *Journal of Hazardous Materials*. 185, 1592-1595.
- Mattson, B. (2007). A voluntary environmental classification system for pharmaceuticals substances. *Drug Information Journal*. 41, 2. Academic Research Library. 187-191.
- MD Consult. Drug Information. Clofibrate [web en línea]. 2009. <http://home.mdconsult.com/das/drug/view/39126689-2/1/842/top?sid=284027359>.
- Metcal, Eddy. (2003). Wastewater engineering treatment and reuse. Ed. McGraw Hill. 1878p.
- Metcalf, C., Koenig, B., Bennie, T., Servos, M., Ternes, T., Hirsch, R. (2003a). Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of Canadian sewage treatment plants. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 22, 2872-2880.
- Metcalf, C., Miao, X., Koenig, B., Struger, J. (2003b). Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower great lakes, Canada. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 22, 2881-2889.
- Meng, F., Shi, B., Yang, F., Zhang, J. (2007). New insights into membrane fouling in submerged membrane bioreactor based on rheology and hydrodynamics concepts *Membrane Science*. 302, 87-94.
- Miao, X., Bishay, F., Chen, M., Metcalfe, C. (2004). Occurrence of antimicrobials in the final effluents of wastewater treatment plants in Canada. *Environmental Science and Technology*. 38, 3533-3541.
- Melin, T., Jefferson, D. B., Bixio, C., Thoeye, C., De Wilde, W., De Koning, J., Van der J., Graaf, J., Wintgens, T. (2006). Membrane bioreactor technology for wastewater treatment and reuse. *Desalination*, 187, 271-282.
- Melo-Guimarães, A., Torner-Morales, F., Durán-Álvarez, J., Jiménez-Cisneros, B. (2013). Removal and fate of emerging contaminants combining biological, flocculation and membrane treatments. *Water Science & Technology*. 67.4; 877-885.
- Mimeault, C., Woodhouse, J., Miao, X., Metcalfe, C., Moon, T., Trudeau, V. (2005). The human lipid regulator, gemfibrozil bioconcentrates and reduces testosterone in the goldfish, *Carassius auratus*. *Aquatic Toxicology*. 73, 44-54.
- Mimeault, C., Trudeau, V., Moon W. (2006). Waterborne gemfibrozil challenges the hepatic antioxidant defense system and down-regulates peroxisome proliferator-activated receptor beta (PPAR β) mRNA levels in male goldfish (*Carassius auratus*). *Environmental Research*. 100, 216-226
- McClellan, K., Halden, R. (2010). Pharmaceuticals and personal care products in archived U.S. biosolids from the 2001 EPA national sewage sludge survey. *Water Research*. 44, 658 - 668.
- Molinari, R., Argurio, P., Poerio, T. (2009). Flux enhancement of stagnant sandwich compared to supported liquid membrane systems in the removal of Gemfibrozil from waters. *Journal of Membrane Science*. 340, 26-34.
- Moy, T., Brumley, W. (2003). Multiresidue determination of acid pesticides in water by PLC/DAD with confirmation by GC/MS using conversion to methyl ester with trimethylsilyldiazomethane. *Journal of Chromatographic Science*. 47, 343-349.
- Mulder, M. (2000). Principles of membrane technology. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.

- Mulder, M. (2001). Membrane bioreactors for wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*. 194, 145-146.
- Muñoz, I., Gomez, J., Molina, A., Huijbregtc, M., Fernandez, A., Garci,a E. (2008). Ranking potential of priority and emerging pollutants in urban wastewater through life cycle impact assessment. *Chemosphere* 74, 37-44.
- Nagamatsu, K., Kudo, K., Usumoto, Y., Tsuji, A., Nishi, H., Ikeda, N. (2012). Rapid screening of 18 non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) using novel NAGINATATM gas chromatography-mass spectrometry software. *Forensic Toxicology*. 30, 1–8.
- Nakada, N.; Komori, K., Suzuki Y., Konishi, C., Houwa, I., Tanaka, H. (2007). Occurrence of 70 pharmaceutical and personal care products in Tone River basin in Japan. *Water Science and Technology*. 56, 133-140.
- Neira F.R., Arcos,A.A., Durán- Álvarez, J.C. Jimenez-Cisneros, B. (2012). Operating conditions and membrane selection for the removal of conventional and emerging pollutants from spring water using nanofiltration technology: the Tula Valley case. *Desalination and Water Treatment*. 42 (2012) 117–124
- Nentwig, G., Oetken, M., Oehlmann, J. (2004). Effects of pharmaceuticals on aquatic invertebrates: the example of carbamaepine and clofibrac acid. *Pharmaceuticals in the Environment*. Sources, Fate, Effects and Risks. Springer, Heidelberg, pp. 195–208.
- Ngo H, GuoW, Vigneswaran S. (2012). Chapter 8:membrane processes forwater reclamation and reuse. In: Zhang TC, Surampalli RY, Vigneswaran S, Tyagi RD, Ong SL, Kao CM, editors. Membrane technology and environmental applications. USA: American Society of Civil Engineers (ASCE).. p. 239–75.
- Nikolaou, A., Meric, S., Fatta, D. (2007). Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387, 1225-1234.
- Nunes, B., Carvalho, F., Guillemino, L. (2004). Acute and chronic effects of clofibrate and clofibrac acid on the enzymes acetylcholinesterase, lactate dehydrogenase and catalase of mosquitofish, *gambusia holbrooki*. *Chemosphere*. 57, 1581-1589.
- N Li., Fane, A., Winston, H., Matsuura, T. (2008). Advanced membrane technology and applications. Editorial Wiley. 1016p.
- Ort, C., Lawrence M., Reungoat J., Eaglesham G., Carter, S., Keller, J. (2010). Determining the fraction of pharmaceutical residues in wastewater originating from hospitals. *Water Research*. 44, 605-615.
- Orvos, D., Vertsteeg, J., Inauen, M., Capdevielle, Rothensteins A. (2002). Aquatic toxicity of triclosan. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21, 1338-1349.
- Observatorio dkv de salud y medio ambiente en España. (2008). Estado de la cuestión: alimentación, medio ambiente y salud. Tomo 1.
- Onesios, K.M., Yu, J.T., Bouwer, E.J. (2009). Biodegradation and removal of pharmaceuticals and personal care products in treatment systems: a review. *Biodegradation*. 20, 441-466.
- Parrott, J., Bennie D. (2009). Life- Cycle Exposure of fate minnows to a mixture of six common pharmaceuticals and triclosan. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*. 72, 633-641.
- Paterson, D., Brumley, W., Kellier, V., Ferguson, L. (2000). Determination of clofibrac acid in sewage effluent by GC/MS: Conversion to methyl Ester with Trimethylsilyldiazomethane. *American Laboratory*. 34, 20-28.

- Paxeus, N. (2004). Removal of selected non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, beta-blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to aquatic environment. *Waster Science and Technology*. 50, 253-260.
- Pedersen, J., Soliman, M., Suffet, M. (2005). Human pharmaceuticals, hormones, and personal care products ingredients in runoff from agricultural fields irrigated with treated wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 1625-1632.
- Pedrouzo, M., Reverté, S., Borrull, F., Marcé, R. (2007). Pharmaceutical determination in surface and wastewater using high-performance liquid chromatography-(electrospray)-mass spectrometry. *Journal of Separation Science*. 30, 287-303.
- Prindiville, S., Mennigen, J., Zamora, J., Moon, T., Weber, J. (2011). The fibrate drug gemfibrozil disrupts lipoprotein metabolism in rainbow trout. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 251, 201-208.
- Perez, S., Barceló, D. (2007). Application of advanced MS techniques to analysis and identification of human and microbial metabolites of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Trends in Analytical Chemistry*. 26. 6, 494-514.
- Petrovic, M., González, S., Barceló, D. (2003). Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 22, 685- 756.
- Petrović, M., Hernando, M., Díaz-Cruz, M., Barceló, D. (2005). Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *Journal of Chromatography A*. 1067: 1-14
- Petrovic, M., Radjenovic, J., Postigo, C., Kuster M., Farre M., Lopez A., Barceló D. (2008). Emerging contaminants in waste water: source and occurrence. *Environmental Chemistry*. Vol. 5 Part S/1. 1-35.
- Poblete, S. (2007). Medio ambiente y calidad de vida. Biblioteca del congreso nacional departamento de estudios, extensión y publicaciones unidad de extensión y publicaciones. Santiago – Valparaíso. Vol. 2 N° 18. 36 p.
- Pomati, F., Castiglioni, S., Zuccato, E., Fanelli, R., Vigetti, D., Rossetti, C., Calamari D. (2006). Effects of a Complex Mixture of Therapeutic Drugs at Environmental Levels on Human Embryonic Cells. *Environmental Science and Technology*. 40, 2442-2447.
- Pomies, M., Choubert, J.M., Wisniewski, C., Coquery, M. (2013). Modeling of micropollutant removal in biological wastewater treatments: a review. *Science of the total environment* 443. 733-748.
- Poseidon, detailed report related to the overall duration. (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. 61p.
- Postigo C, López de Alda MJ, Barceló D, Ginebreda A, Garrido T, Fraile J. (2010). Analysis and occurrence of selected medium to highly polar pesticides in groundwater of Catalonia (NE Spain): an approach based on on-line solid phase extraction–liquid chromatography–electrospray– tandem mass spectrometry detection. *Journal of Hydrology*. 383, 83–92.
- Pressman, G., Georgious, G., Spiegel, G. (2004). Hollow fiber membrane bioreactor for cometabolic degradation of chlorinated solvents-experimental results and model development. IWA Specialized conference on Water Environmental Membrane Technology. Jun 7-10, Seul, Korea.

- Plósz, B.G., Leknes, H., Liltved, H., Thomas, K.V. (2010). Diurnal variations in the occurrence and the fate of hormones and antibiotics in activated sludge wastewater treatment in Oslo, Norway. *Science of the Total Environment*. 408, 1915–1924.
- Qi, W., Singer, H., Berg, M., Müller, B., Pernet-Coudrier, B., Liu, H., Qu, J. (2015). Elimination of polar micropollutants and anthropogenic markers by wastewater treatment in Beijing, China. *Chemosphere*. 119 (2015) 1054–1061.
- Quero, H. (2007). Comparativa de ampliación E.D.A.R. mediante reactor biológico convencional o MBR. Universidad Politécnica de Cataluña. Departamento de Ingeniería Química.
- Quinn, B., Gagne, F., Blaise, C. (2008). An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on *cnidaria hyda attenuata*. *Science of the Total Environment*. 389, 306-314.
- Quinn, B., Schmidt, W., O'Rourke, K., Hernan, R. (2011). Effects of the pharmaceuticals gemfibrozil and diclofenac on biomarker expression in the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and their comparison with standardised toxicity tests. *Chemosphere*. 7p.
- Quintana, B., Reemtsma, T. (2004). Sensitive determination of acidic drugs and triclosan in surface and wastewater by ion –pair reverse-phase liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*. 18, 765-774.
- Quintana, B., Rodill, R., Reemtsma, T. (2004). Suitability of hollow fiber liquid-phase micro-extraction for the determination of acidic pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry without matrix effects. *Journal of Chromatography A*. 1061, 19-26.
- Quintana B., Weiss S., Reemtsma T. (2005). Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Research*. 39, 2654-2664.
- Radjenovic, J., Petrovic, M., Barceló, D. (2007a). Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387, 1365:1377.
- Radjenovic, J., Petrovic, M., Barceló, D. (2007b.) Advanced mass spectrometric methods applied to the study of fate and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment. *Trends in analytical chemistry*. 26. 11, 1132-1144.
- Radjenovic, J., Matosic, M., Mijatovic, I., Petrovic, M., Barceló, D. (2008). Membrane Bioreactor (MBR) as an Advanced Wastewater Treatment Technology. *Environmental Chemistry*. 5, 37-101.
- Radjenovic, J., Petrovic, M., Barceló, D. (2009). Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. *Water Research*. 43, 831-841.
- Ramos, A. (2009). Medicamentos de consumo humano en el agua, propiedades físico-químicas. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 47, 2.
- Reddersen, K., Heberer, T. (2003). Multi compound methods for the detection of pharmaceutical residues in various water applying solid phase extraction (SPE) and gas chromatography with mass spectrometric. *Journal of Separation Science*. 26, 1443-1450.
- Raldua, D., André, M., Babin, P. (2008). Clofibrate and gemfibrozil induce an embryonic malabsorción syndrome in zebrafish. *Toxicology adb applied pharmacology*. 228, 301-314.

- Reemtsma, T., Jekel, M. (2006). Analytical methods for polar pollutants. *Organic Pollutants in the Water Cycle*. Cap 1, 1-38p.
- Rhaman, E., Yanful K., Jasmin S. (2009). Endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the aquatics environmt: implications for drinking water industry and global environmental health. *Journal of water and Health*. 7, 224-243.
- Robinson, I., Junqua, G., Van Coillie, R., Thomas, O. (2007). Trends in the detection of pharmaceuticals products and their impact and mitigation in water and wastewater in North America. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387, 1143-1151.
- Roberts P H, Thomas K. (2006). The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Science of the Total Environment*, 356, 143–153.
- Rodríguez I, Quintana J B, Carpinteiro J, Carro A M, Lorenzo R., Cela R. (2003). Determination of acidic drugs in sewage water by gas chromatography-mass spectrometry as *tert*butyldimethylsilyl derivatives. *Journal of Chromatography A*. 985, 265–274.
- Rodriguez, A., Rosal, R., Perdigon, J., Mezcuca, M., Agüera, A., Hernando, M., Leton, P., Fernandez, A., Garcia, E. (2008). Ozone – Bases technologies in water and wastewater treatment in: Barceló D, Petrovic M. (eds). *Emerging contaminants from industrial and municipal waste (the Handbook of environmental Chemistry)*. Springer, Berlin. P 127-175.
- Rosal, R., Rodea, I., Boltes, K., Fernandez, P., Leganés, F., Gonzalo, S., Petre, A. (2009). Ecotoxicity assessment of lipid regulators in water and biologically treated wastewater using three aquatic organisms. *Environmental Science and Pollution Research*. DOI 10.1007/s 11356-009-01377-1 marzo.10 p.
- Rosenberger, S., Kruger, U., Witzig, R., Manz, W., Szewzyk, U., Kraume, M. (2002). Performance of a bioreactor with submerged membranes for aerobic treatment of municipal wastewater. *Water Research*. 36, 413-420.
- Rousseau, R. M. (2004). *Principios basicos de los procesos quimicos*. España, 712p: Limusa Wiley.
- Runnalls, T., Hala, D., Sumpter, J. (2007). Preliminary studies into the effects of the human pharmaceutical clofibric acid on sperm parameters in adult fathead minnow. *Aquatic Toxicology*. 84,111-118.
- Sacks, M. (2008). After the fenofibrate intervention and event lowering in Diabetes (FIELD) Study: Implications for fenofibrate. *The American Journal of Cardiology*. Vol 102 (12A). December. 34L-40L.
- Shane, S. (2008). Occurrence, Treatment, and Toxicological Relevance of EDCs and Pharmaceuticals in Water Ozone. *Science and Engineering*. 30, 65–69.
- Salgado, R., Oehmen, A., Carvalho, G., Noronha, J., Reis, M. (2012). Biodegradation of clofibric acid and identification of its metabolites. *Journal of Hazardous Materials* 241–242: 182– 189.
- Sanderson, H., Johnson, D., Wilson, C., Brain, R., Solomon, R. (2003). Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceutical toxicity to fish, daphnias and algae by ECOSAR screening. *Toxicology Letters* 144, 383-395.
- Sampayo, R., Narro, J., Fernandez, S., Lozano, G., Vargas, V., Mata, C., Morales, A., Gonzáles, G., Cortés, G., Cerda, F., Martínez, R. (2006). Effect of clofibric acid in desmin

- and vimentin contents in rat Myocardiocytes. *International Journal of Toxicology*. 25, 403-408.
- Santos, L., Araújo, A.N., Fachini, A., Pena, A., DelerueMatos, C., Montenegro, M. 2010. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*. 175, 45–95.
- Saravanan, M., Jang-Hyun, H., Narayanasamy, A., Ramesha, M. (2014). Toxicological effects of clofibrac acid and diclofenacon plasma thyroïd hormones of an Indian majorcarp, *Cirrhinus mrigala* during short and long-term exposures. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 38, 948–958.
- Saroj, D., Guglielmi, G., Chiarani, D., Andreottola, D. (2008). Subcritical fouling behavior modeling of membrane bioreactors for municipal wastewater treatment: The prediction of the time to reach critical operating condition. *Desalination*. 231, 175-181.
- Scharf, S., Gans, O., Sattelberger, R. (2002). Arzneimittelwirkstoffe inm Zu-und Ablauf von Kläranlagen. Umweltbundesamant wien, Report UBA-BE-201.
- Schwaiger, J., Ferling, H., Mallow, U., Wintermayr, H., Negele, R., 2004. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquatic Toxicology*. 68, 141-150.
- Schwarzenbach, R., Gschwend, P., Imboden, D. (1993). *Environmental Organic Chemistry*. Ed. Wiley. New York. 1330p.
- Schmidt, F., Schnurr, S., Wolf, R., Braunbeck, T., 2012. Effects of the anti-thyroidal compound potassium-perchlorate on the thyroid system of the zebrafish. *Aquatic Toxicology*. 109, 47–58.
- Segarra D., 2006. Medicamentos en el rio. www. Webislam.com. España enero 17.
- Serrano, D., Suárez. S., Lema, J.M., Omil, F. (2011) Removal of persistent pharmaceutical micropollutants from sewage by addition of PAC in a sequential membrane reactor. *Water Research*. 45, 5323-5533.
- Siemens, J., Huschek, G., Siebe, C., Kaupenjohann, M. (2008). Concentration and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system. México City-Mezquital valley. *Water Research*. 42, 2124-2134.
- Siemens, J., Huschek, G., Walshe, G., Siebe, C., Kasteel, R., Wulf, S., Clemens, J., Kaupenjohann, M. (2010). Transport of Pharmaceuticals in Columns of a Wastewater-Irrigated Mexican Clay Soil. *Journal of Environmental Quality*. 39:1201–1210.
- Sipma, J., Osuna, B., Collado, N., Monclús, H., Ferrero, G., Comas, J., Rodríguez-Roda, I. (2010). Comparison of removal of pharmaceuticals in MBR and activated sludge systems *Desalination*. 250, 653–659.
- Sui, Q., Huang, J., Deng, S., Yu, G., Fan, Q. (2010). Occurrence and removal of pharmaceuticals, caffeine and DEET in wastewater treatment plants of Beijing, China. *Water Research*. 44, 417–426.
- Schröder, H. (2002). Mass spectrometric monitoring of the degradation and elimination efficiency for hardly eliminable and hardly biodegradable polar compounds by membrane bioreactors. *Water Science and Technology*. 46, 57-64.
- Schmidt, W., Kathleen, T., Rourke, O., Hernan, R., Quinn, B. (2011). Effects of the pharmaceuticals gemfibrozil and diclofenac on the marine mussel (*Mytilus* spp.) and their comparison with standardized toxicity tests. *Marine Pollution Bulletin*. 7p.

- Shane, A. (2008). Occurrence, Treatment, and Toxicological Relevance of EDCs and Pharmaceuticals in Water Ozone: *Science and Engineering*. 30, 65–69.
- Smith, C. (2005). Significance and treatment of drugs in wastewater. Conference Drug in Waters. Pharmacology Associates. 7p.
- Smital, T. (2008). Acute and chronic effects of emerging contaminants. *Environmental Chemistry*. Vol. 5, Part S/1. 105–142.
- Soliman, M., Perderson, A., Suffet, H. (2004). Rapid gas chromatography-mass spectrometry screening method for human pharmaceuticals, hormones, antioxidants and plasticizers in water. *Journal of Chromatography A*. 1029, 223-237.
- Spongberg, A., Witter, J., Acuña, J., Vargas, J., Murillo, M., Umaña, G., (2011). Reconnaissance of selected PPCP compounds in Costa Rican surface waters. *Water Research*. 45, 6709–6717
- Sponza, D. (2002). Extracellular polymer substances and phycochemical properties of flocks in steady- and unsteady-state activated sludge systems. *Process Biochemistry*. 37, 983-988.
- Scientific America. (2009). Pharmed Fish. [60-Second Science](#). Scientific America Magazine March 26, 2009.
- Stephenson, T., Judd, S., Jefferson, B., Brindle K. (2000). Membrane bioreactors for wastewater treatment. IWA Publishing. 175 p.
- Strenn, B., Clara, M., Gans, O., Kreuzinger, N. (2003). The compartment of selected pharmaceutical in sewage treatment plants. Water Pollution VII. WIT Press, Southampton, UK.
- Strenn, B., Clara, M., Gans, O., Kreuzinger, N. (2004). Carbamezepine, Diclofenac, ibuprofen and bezafibrate investigations on the behavior of selected pharmaceuticals during wastewater treatment. *Water Science and Technology*. 50, 268-276.
- Stumpf, M., Ternes, T., Wilken, D., Rodriguez, V., Baumann, W. (1999). Polar drugs residues in sewage and natural wasters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Science Total Environmental*. 225, 135-141.
- Sovadinová, I., Liedtke, A., Schirmer, K. (2014). Effects of clofibrac acid alone and in combination with 17 β -estradiol on mRNA abundance in primary hepatocytes isolated from rainbow trout. *Toxicology in Vitro* 28, 1106–1116.
- Suárez, S., Reif, R., Lema, J., Omil, F. (2012). Mass balance of pharmaceutical and personal care products in a pilot-scale single-sludge system: influence of T, SRT and recirculation ratio. *Chemosphere*. 89, 164–71.
- Suárez, S., Lema, J., Omil, F. (2010). Removal of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions. *Water Research*. 44, 3214-3224.
- Sumpter, P. (2007). Environmental effects of human pharmaceuticals. *Drug Information Journal* 41, 2. Academic Research library. 143-147.
- Tauxe-Wuersch, A., De Alencastro, L., Grandjean, D., Tarradellas, J. (2005). Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Research*. 39, 1761–1772.
- Tandoi, V., Jenkins, D., Wanner, J. (2006). Activated sludge separation problems: theory, control measures, practical experiences. IWA Publishing. 201p.
- Tambosi, J., Yamanaca, Y., José H., Peralta, R.F. (2010). Recent research data on the removal of pharmaceuticals from sewage treatment plants. *Quim nova*. 33, 411-420.

- Tamtam, F., Van Oort, T., Le Bot, B., Dinh, T., Mompelat, S., Chevreuil, M., Lamy, I., Thiry, M. (2011). Assessing the fate of antibiotic contaminants in metal contaminated soils four years after cessation of long-term waste water irrigation. *Science of the Total Environment*. 409, 540–547.
- Teijon G, Candela L, Tamoh K, Molina-Díaz A, Fernández-Alba AR. (2010). Occurrence of emerging contaminants, priority substances (2008/105/CE) and heavy metals in treated wastewater and groundwater at Depurbaix facility (Barcelona, Spain). *Science of Total Environment*. 408, 3584–95.
- Ternes, T. (2001). Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*. 20. 8, 419-434.
- Ternes, T., Janex-Habibi, T., Knacker, N., Kreuzinger, H., Siegrist, A. (2006). 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. POSEIDON, detailed report related to the overall duration. Contract No. EVK1-CT- 2000–00047
- Teijon, G., Candela, L., Tamoh, K., Molina-Díaz, A., Fernández-Alba, A. (2010). Occurrence of emerging contaminants, priority substances (2008/105/CE) and heavy metals in treated wastewater and groundwater at Depurbaix facility (Barcelona, Spain). *Science of the Total Environment*. 408, 3584-3595.
- Triebkorn, R., Casper, H., Scheil, V., Schwaiger, J. (2007). Ultrastructural effects of pharmaceuticals (carbamezapine, clofibrac acid, metropol, diclofenac) in rainbow trout, (*oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*) *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387, 1405-1416.
- Trinh T, van den Akker B, Stuetz RM, Coleman HM, Le-Clech P, Khan SJ. (2012). Removal of trace organic chemical contaminants by a membrane bioreactor. *Water Science and Technology*. 66, 1856–63.
- Thibaut, R., Porte, C. (2008). Effects of fibrates, anti-inflammatory drugs and antidepressants in the fish hepatoma cell line PLHC-1: cytotoxicity and interactions with cytochrome P450 A1. *Toxicology in vitro*. 22, 1128-1135.
- Thorsen, T., Flogstad, H. (2006). Nanofiltration in drinking water treatment. TECHNEAU company. D5.3.4B.
- Urbain, V., Mobarry, B., De Silva, V., Stahl, A., Rittman, B., Manem, J. (1998). Integration of performance, molecular biology and modeling to describe the activated sludge process. *Water Science and Technology*. 37, 223-229.
- Urase, T., Chie, Kagawa, C., Kikuta, T. (2005) Factors affecting removal of pharmaceutical substances and strogens in membrane separation bioreactors. *Desalination*. 178, 107-113.
- US, Department of Health and Human Services, Food and Drugs Administration. Center for Drugs Evaluation and Research (CDER). Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). (1998). Guidance for industry Environmental Assessment of Human Drug and Biological Applications. July CMC6, Revision 1.
- US-EPA. United States Environmental Protection Agency.(1994). Chemical summary for methanol. Prepared by Office of Pollution Prevention and Toxic. EPA 749-F-94-013a.
- 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, 1239-1243.

- Verenitch, S., Lowe, C., Mazumbe, A. (2006). Determination of acid drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography- ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1116, 193-203.
- Verlicchi P, Al AukidyM, Zambello E. (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment a review. *Science of Total Environment*. 429, 123–55.
- Vieno, N.M., Tuhkanen, T., Kronberg, L. (2005). Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from a sewage treatment plant and in the recipient water. *Environmental Science and Technology*. 39, 21, 8220-8226.
- Vieno, N., Sillanpää, M. (2014). Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant — A review. *Environment International*. 69, 28–39.
- Xia, K., Bhandari, A., Das, K., Pillar, G. (2005). Occurrence and fate of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in biosolids. *Journal of Environmental Quality*. 34, 91-104.
- Xu, J., Wu, L., Chen, W., Chang, A. (2008). Simultaneous determination of pharmaceuticals, endocrine disrupting compounds and hormone in soils by gas chromatography- mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1202, 189-195
- Xu J., Chen W., Wu L., Green R., Chang A. (2009). Leachability of some emerging contaminants in reclaimed municipal wastewater-irrigated turf grass fields. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 28, 1842-1850.
- Xue, W., Wu, C., Xiao, K., Huang, X., Zhou, H., Tsuno, H., Tanaka, H. (2010). Elimination and fate of selected microorganic pollutants in a full-scale anaerobic/anoxic/aerobic process combined with membrane bioreactor for municipal wastewater reclamation. *Water Research*. 44, 5999-6010.
- Yi Hua, W., Bennett, E., Maio, X., Metcalfe, C., Letcher, R. (2006). Seasonality effects on pharmaceuticals and S-Triazine herbicides in wastewater effluent and surface water from the Canadian side of the upper Detroit River. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25, 2356-2365.
- Yi, T., Harper W. (2007). The link between nitrification and biotransformation of 17 alpha-ethinylestradiol. *Environmental Science and Technology*. 41, 4311–4316.
- Ye, Y., Chen, v., Fane A. (2006). Modeling long term subcritical filtration of model EPS solutions. *Desalination*. 191, 318-327.
- Yu, W., Peldszuz, S., Huck, P. (2007). Optimizing gas chromatographic–mass spectrometric analysis of selected pharmaceuticals and endocrine-disrupting substances in water using factorial experimental design. *Journal of Chromatography A*. 1148, 65-77.
- Yunlong, L., Wenshan, Guo.,Huu Hao, N., Long Duc, N., Faisal, I., Jian, Z., Shuang, L., Xiaochang, C. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the Total Environment*. 473–474 : 619–641.
- Wagner, J., Rosenwinkel, K., Judd, S. (2000). Sludge production in membrane bioreactors under different conditions. *Water Science Technology*. 41, 251–258.
- Wang, S., Holzem, R., Gunsch, C. (2008). Effects of pharmaceutically active compounds on a mixed microbial community originating from a municipal wastewater treatment plant. *Environmental Science and Technology*. 42, 1091-1095.

- Watkinson, J., Murby, E., Costanzo, S. (2007). Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Research*. 41, 4164-4176.
- Weigel, S., Kuhlmann, J., Hühnerfuss, H. (2002). Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea. *Science of the Total Environment*. 295, 131-141.
- Wei, J., Helm, G., Corner-Walked, N., Hou, X. (2006). Characterization of a non-fouling ultrafiltration membrane. *Desalination*. 192, 252-261.
- Weiss, S., Reemtsma, T. (2008). Membrane bioreactors for municipal wastewater treatment a viable option to reduce the amount of polar pollutants discharged into surface waters? *Water Research*. 42, 3837-3847.
- Witzig, R., Manz, W., Rosenberger, S., Kruger, U., Kraume, M., Szewzyk, U. (2002). Microbiological aspects of a bioreactor with submerged membranes for aerobic treatment of municipal wastewater. *Water Research*. 36, 394-402.
- Zhanguang, L., Xuefei, Z., Xiaohua, C., Chaomeng, D., Zhang, J., Yalei, Z. (2013). Biosorption of clofibric acid and carbamazepine in aqueous solution by agricultural waste rice Straw. *Journal of Environmental Sciences*. 25, 2384-2395.
- Zhou, X., Oleszkiewicz, J.A., 2010. Biodegradation of oestrogens in nitrifying activated sludge. *Environmental Technology*. 31, 1263-1269.
- Zwiener C. (2007). Occurrence and analysis of pharmaceuticals and their transformation products in drinking water treatment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387, 1159-1162.
- Zwiener C., Frimmel, F. (2003). Short-term test with a pilot sewage plant and biofilm reactors for the biological degradation of pharmaceutical compounds clofibric acid, ibuprofen, and diclofenac. *The Science of the Total Environment*. 309, 201-211.