



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
INGENIERÍA

FACULTAD DE INGENIERÍA

TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES CON
PRESENCIA DE COMPUESTOS DISRUPTORES ENDOCRINOS
MEDIANTE UN BIOPROCESO AEROBIO CON MEMBRANAS

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN INGENIERÍA

AMBIENTAL-AGUA

P R E S E N T A :

M. en I. EDSON BALTAZAR ESTRADA ARRIAGA

TUTOR:

DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA

2011





UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
INGENIERÍA

JURADO ASIGNADO:

Presidente:	DRA. BLANCA JIMÉNEZ CISNEROS
Secretario:	DR. GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ
1er. Vocal:	DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA
2do. Vocal:	DR. SIMÓN GONZÁLEZ MARTÍNEZ
3er. Vocal:	DRA. ARACELI PATRICIA PEÑA ÁLVAREZ

Lugar donde se realizó la tesis:

FACULTAD DE INGENIERÍA, CAMPUS MORELOS

TUTOR DE TESIS:

DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA

FIRMA

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México a través de la Coordinación de Estudios de Posgrado (CEP), por la beca otorgada para la realización de los estudios de Doctorado.

A la Universidad Nacional Autónoma de México a través de la Facultad de Ingeniería Campus Morelos, por el apoyo brindado para la realización del presente trabajo de investigación.

A la Dra. Petia Mijaylova Nacheva, por su gran apoyo incondicional y sus enseñanzas brindadas durante mi ingreso y permanencia en el doctorado y por darme la oportunidad de aceptarme bajo su tutela.

Al Dr. Germán Buitrón Méndez y a la Dra. Araceli Peña Álvarez, por sus acertados cuestionamientos y orientaciones que ayudaron a enriquecer este trabajo.

A los integrantes del H. jurado:

Dra. Blanca Jiménez Cisneros
Dr. Germán Buitrón Méndez
Dr. Simón González Martínez
Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez

Por sus valiosas aportaciones para mejorar este documento.

A Ignacio Zúñiga, Luis Alberto Gónzales y al Q. Manuel Sánchez (integrantes del laboratorio de cromatografía del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua), por su tiempo y apoyo en el desarrollo de las técnicas cromatográficas y en el manejo de los equipos para la detección de los compuestos disruptores endocrinos.

A mis amigos y compañeros de la Planta Piloto del IMTA en especial al M.C. Diego Cuevas por brindarme su amistad y apoyo durante mi formación.

DEDICATORIAS

Nuevamente te doy gracias DIOS por permitirme vivir feliz con mi familia y conmigo mismo, de seguir adelante y culminar esta excelente etapa de mi vida.

A mi gran esposa y amiga LILY y a mi extraordinario hijo LEO, antes que nada les pido una disculpa por todo este tiempo que estuve ausente (saben a lo que me refiero). Día y noche ustedes siempre se convirtieron en mi motivación y en mi motor de vida para levantarme y seguir adelante. Muchas gracias por resistir mi lejanía y porque siempre estuvieron respaldándome en todos los momentos de flaqueza y necesidad. Gracias mis amores de todo corazón por darme esta gran felicidad. LOS AMO MIS GORDIS.

A mi MAMY y a mi HERMANITA, porque siempre estuvieron ahí apoyándome y brindándome todo su amor, cariño y confianza. Muchas gracias porque somos una gran familia. LAS AMO.

A mi PAPY, ya que nuevamente me mandaste tu fortaleza desde donde tú estas. Te AMO y EXTRAÑO.

Con especial cariño a mi super amigo Francisco Orozco Molina (Paco) que nos cuida desde el cielo.

A toda mi familia, en especial a YEYITA, vamos A SEGUIR ¡ADELANTE!

A mi suegra Doña Chivis y a Don Paco desde New York.

A mis grandes amigos, Pancho (Diego), Compa (Memo), Tanochis (Tania), Mandil (Pepe), Beto (Esposo de Tanochis), el Doctor Marco Garzón, Serge, la nueva mamá (Liliana), Cubito (hijo de la nueva mamá), Ernest (Ernesto).

“Si he logrado ver más lejos, es porque siempre me he apoyado en hombros de gigantes”

RESUMEN

Este trabajo estuvo enfocado en la determinación de los mecanismos de remoción de tres contaminantes emergentes considerados como compuestos disruptores endocrinos (CDEs) presentes en aguas residuales municipales a través de bio-reactores con membranas (BRM). Los compuestos en estudio fueron tres estrógenos, estrona (E1), 17 β -estradiol (E2) y 17 α -etinilestradiol (EE2). Asimismo, el presente trabajo evaluó la presencia de estos compuestos en aguas residuales del Emisor Central y Gran Canal provenientes de la Cd. de México y su remoción en un BRM escala piloto.

Se desarrollaron dos métodos analíticos por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas/masas para la detección de estrógenos en el agua residual (fase líquida) y en la biomasa (fase sólida). Los límites de detección de los compuestos en el agua residual fueron $< 0.05 \text{ ng.L}^{-1}$ y $< 2 \text{ ng.g}^{-1}$ en la biomasa. Los porcentajes de recuperación de los estrógenos fueron mayores a 93% en el agua residual y, en la biomasa mayores a 66%. Estadísticamente se dedujo que los métodos propuestos para la detección de E1, E2 y EE2 en el agua residual y en la biomasa son confiables.

Se utilizaron 3 BRM nivel laboratorio para la remoción de los tres estrógenos en un agua sintética. Los reactores fueron operados con diferentes tiempos de residencia hidráulica (TRH) y tiempos de retención celular (TRC). Durante todo el periodo experimental (284 días de operación), los estrógenos fueron determinados en la fase líquida y sólida, indicando que los compuestos se adsorben en el lodo. Con un TRC de 60 d y un TRH de 12 h, las remociones de los estrógenos fueron del 100% con concentraciones en el efluente menores a 0.1 ng.L^{-1} . Los altos TRC aplicados a los BRM generaron un proceso de nitrificación, el cual influyó sobre la remoción de los compuestos. Se observó que con bajas tasas de nitrificación las remociones de los estrógenos fueron entre el 87 y 97%, mientras que con actividades altas de nitrificación se alcanzaron remociones hasta el 100%.

Un BRM a nivel piloto fue utilizado para remover estrógenos presentes en aguas residuales reales generadas por la zona metropolitana de la Ciudad de México. El reactor fue operado durante más de 234 días. Los compuestos fueron detectados en estas aguas residuales con concentraciones de hasta 90 ng.L^{-1} . El BRM piloto fue evaluado con diferentes TRC y TRH. Con TRC entre 46 y 60 d y TRH mayores a 7 h, se obtuvieron remociones de E1, E2 y EE2 superiores al 96% con concentraciones en el efluente del reactor por debajo de 1 ng.L^{-1} .

Dos diferentes métodos fueron propuestos para el cálculo del balance de masas de los estrógenos en los BRM. En el primer método se utilizaron las concentraciones de los compuestos en la fase líquida y sólida y, en el segundo se utilizaron los valores del coeficiente de adsorción K_D de cada compuesto y las concentraciones en la fase líquida. El propósito de estas metodologías fue identificar los procesos que actúan en la remoción del E1, E2 y EE2 en los BRM, así como el destino de los CDEs a través del bio-reactor. Los resultados de los balances de masas, indicaron que los tres estrógenos son removidos por biodegradación.

La degradación biológica de E1, E2 y EE2 fueron estudiados en experimentos en batch, utilizando biomasa nitrificada proveniente de los BRM experimentales. Los resultados indicaron que los estrógenos fueron removidos por biodegradación. Se utilizaron los modelos cinéticos de orden cero, de primer orden, pseudo primer orden, pseudo primer orden considerando el coeficiente de adsorción K_D y el modelo de Monod para determinar la constante de reacción de cada estrógeno. Los resultados de las cinéticas se ajustaron a un modelo pseudo primer orden introduciendo el coeficiente de adsorción K_D y al modelo de Monod, sugiriéndose que los compuestos son biodegradados por cometabolismo.

ABSTRACT

This work was focused on the determination of removal mechanisms of three pollutants considered emerging endocrine disrupting compounds (EDCs) present in municipal wastewater by membrane bioreactors (MBR). The compounds under study were three estrogens, estrone (E1), 17 β -estradiol (E2) and 17 α -ethinylestradiol (EE2). In addition, this study evaluated the presence of these compounds in two wastewaters from Mexico City; Emisor Central and Gran Canal.

Two simple analytical methods were developed for the detection and quantification of estrone, 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol in municipal wastewater and activated sludge (biomass) down to ng.L⁻¹ concentrations by gas chromatography tandem mass spectrometry. The limits of detection in wastewater were < 0.05 ng.L⁻¹. The limit of detection in activated sludge was of < 2.0 ng.g⁻¹. Average recoveries of the three estrogens in wastewater and biomass were greater than 93% and 66% respectively. Using these methods, the occurrence of endocrine disrupting in untreated and treated wastewater municipal and biomass in membrane bioreactor were detected.

Aerobic membrane bioreactors were operated for the removal of two natural estrogens, E1 and E2, and the synthetic estrogen EE2. The effects of hydraulic residence time (HRT) and of solid retention time (SRT) were studied using synthetic and real wastewaters in the laboratory and in pilot membrane bioreactors, respectively. The HRT was varied in the range 7-12 h in both reactors. The SRT was 35-95 d in the laboratory MBR and 34-88 d in the pilot MBR. The results showed that the increases in HRT and SRT enhanced the biodegradation process after adaptation to microorganisms. With HRT > 7 h and SRT of 60 d, the estrogen removals were in the range of 96-100% in both systems. The positive influence of long SRT on nitrification process increased estrogens removal.

Two different methods were proposed for the mass balance calculations of estrogens in a membrane bioreactor. The first method was measured data in both liquid and solid phase. The second method was use the adsorption coefficient K_D and estrogen concentrations in liquid phase. The purpose of these methodologies, facilitate the identification of the main mechanisms involved in the removal of E1, E2 and EE2 by MBR. Both methods are applied for determination mass balance of estrogens. In that way, the fate of E1, E2 and EE2 are biologically degraded by MBR.

The biological degradation of E1, E2 and EE2 was studied in batch experiments at typical concentration levels using nitrifying activated sludge from a membrane bioreactor (MBR). Since first-order, pseudo first-order and Monod-type kinetics were observed. Pseudo first order kinetic was reformulated using only the soluble concentrations S and assuming adsorption coefficient K_D of the estrogens. Greater than 98% of E1, E2 and EE2 were found to be removed in batch reactors. According to these results, the biodegradation kinetics were adjusted to pseudo first-order assuming adsorption coefficient K_D and Monod-type kinetic. Monod-type kinetic indicates that these compounds are biodegraded by co-metabolism.

ÍNDICE

	Página
Resumen	
Abstract	
Índice	i
Índice de Figuras	vi
Índice de Tablas	xi
Glosario de términos	xiii
Introducción	xvii
Problemática de los compuestos disruptores endocrinos	xix
1. ANTECEDENTES	1
1.1. Compuestos disruptores endocrinos	1
1.1.1. Clasificación de compuestos disruptores endocrinos	3
1.1.2. Hormonas naturales y sintéticas (estrógenos del sexo)	5
1.1.3. Estrógenos naturales y excreciones por seres humanos	5
1.1.4. Estrógenos sintéticos	6
1.1.5. Metabolismo y excreción de estrógenos	8
1.1.6. Características fisicoquímicas de los estrógenos naturales y sintéticos	9
1.1.7. Mecanismos de la disrupción endocrina en la acción de las hormonas	11
1.2. Compuestos disruptores endocrinos en el medio ambiente	14
1.2.1. Presencia de estrógenos naturales y sintéticos en el ambiente	14
1.2.2. Efecto de las concentraciones de los disruptores endocrinos en el ambiente	17
1.3. Presencia de compuestos disruptores endocrino (estrógenos) en las aguas residuales municipales y su destino en las plantas de tratamiento de aguas residuales	20
1.3.1. Remoción de CDE mediante diferentes procesos de tratamiento de agua	25
1.3.2. Degradación de compuestos disruptores endocrinos mediante microorganismos	31
1.3.3. Métodos analíticos para la cuantificación y detección de estrógenos en las aguas residuales municipales y lodos	35
1.4. Bio-reactores con membranas (BRM)	37
1.4.1. Configuraciones de los BRM	37
1.4.1.1. BRM sumergidos	37
1.4.1.2. BRM externos	38
1.4.1.3. Diferencias entre los tipos de configuración de los BRM	39
1.4.1.4. Problemática asociada a la operación de los BRM	41
1.4.1.5. Reducción de la colmatación de las membranas	43
1.4.1.6. Limpieza de las membranas	44
1.4.1.6.1. Limpieza física	44

	Página	
1.4.1.6.2	Limpieza química	45
1.4.2.	BRM en el mundo	45
1.4.3.	Ventajas de los BRM	46
2.	OBJETIVOS E HIPÓTESIS	47
2.1.	Objetivo general	47
2.2.	Objetivos específicos	47
2.3.	Hipótesis	47
3.	METODOLOGÍA	48
3.1.	Metodología del método analítico	49
3.1.1.	Reactivos	49
3.1.2.	Cromatógrafo de gases (CG)	49
3.1.3.	Espectrómetro de masas/masas (MS/MS)	49
3.1.4.	Estrategia para la detección de los estrógenos	50
3.1.5.	Tratamiento de la muestra	51
3.1.5.1.	Tratamiento de la muestra en fase líquida (agua residual)	51
3.1.5.1.1	Filtración	51
3.1.5.1.2	Extracción en fase sólida (EFS)	51
3.1.5.1.3	Limpieza con sílica gel	52
3.1.5.1.4	Derivatización	53
3.1.5.2.	Tratamiento de la muestra en fase sólida (biomasa)	53
3.1.5.2.1	Extracción sólido-líquido	54
3.1.5.2.2	Limpieza con sílica gel	54
3.1.5.2.3	Extracción en fase sólida	54
3.1.6.	Validación del método	55
3.1.6.1	Recuperaciones	55
3.1.6.2	Límites de detección (LDD) y límites de cuantificación (LDC)	55
3.2.	Metodología experimental (bio-reactores con membranas)	57
3.2.1.	Pruebas abióticas	57
3.2.1.1.	Volatilización de los estrógenos	57
3.2.1.2.	Sorción de los estrógenos en las tuberías y paredes de los reactores	57
3.2.1.3.	Influencia de la composición del agua residual sintética en la remoción de los estrógenos	57
3.2.1.4.	Retención de los estrógenos en las membranas	58
3.2.2.	Bio-reactores con membranas para la remoción de E1, E2 y EE2	59
3.2.2.1.	Sistema experimental (BRM a nivel laboratorio)	59
3.2.2.2.	Flujo crítico y sub-crítico	61
3.2.2.3.	Limpieza de las membranas	62

	Página	
3.2.2.4.	Arranque y operación de los BRM	63
3.2.2.5.	Agua residual sintética	64
3.2.2.6.	Inóculo	65
3.2.3.	Determinación del coeficiente de adsorción (K_D) en el lodo activado	65
3.2.4.	Contribución de la biodegradación, adsorción y volatilización en la remoción de E1, E2, Y EE2	66
3.2.4.1.	Experimentos en batch: cinéticas de remoción de los estrógenos	66
3.2.4.1.1.	Pseudo cinética de primer orden a partir del coeficiente K_D	68
3.2.5.	Agua sintética	69
3.2.6.	Bio-reactor con membranas a nivel piloto para el tratamiento de un agua residual municipal	70
3.2.6.1.	Inóculo	72
3.2.6.2.	Agua residual municipal	72
3.2.7.	Balances de masas	72
3.2.7.1.	Balance de masas considerando la concentración del compuesto en la fase líquida y sólida (Método 1)	73
3.2.7.2.	Balance de masas considerando la concentración en la fase líquida y el coeficiente K_D (Método 2)	73
3.2.8.	Mediciones y análisis físicoquímicos	74
3.2.9.	Métodos de análisis (Métodos APHA)	75
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	76
4.1.	Método cromatográfico	76
4.1.1.	Identificación de los estrógenos mediante cromatografía de gases	76
4.1.2.	Identificación de estrógenos mezclados	77
4.1.3.	Optimización de la derivatización	81
4.1.4.	Pruebas con columnas VF-17ms y VF-5ms	83
4.1.5.	Resumen de las condiciones de operación del cromatógrafo de gases y espectrómetro de masas/masas seleccionadas para la detección de E1, E2 y EE2 en aguas y lodos residuales	86
4.1.6.	Validación del método	87
4.1.6.1.	Tratamiento de las muestras en aguas residuales y biomasa	87
4.1.6.2.	Límites de detección y cuantificación	89
4.1.6.3.	Recuperaciones	90
4.1.6.4.	Linealidad del método (tratamiento de la muestra)	92
4.2.	Operación bio-reactores con membranas	94
4.2.1.	Pruebas hidráulicas en los BRM	94
4.2.1.1.	Prueba hidráulica con el módulo de membranas a nivel laboratorio	94
4.2.1.2.	Determinación flujo crítico y sub-crítico en los BRM a nivel laboratorio	95
4.2.1.3.	Operación en condiciones sub-críticas	100

	Página	
4.2.1.4.	Frecuencia de retrolavados	103
4.2.1.5.	Pruebas hidráulicas y obtención del flujo crítico y sub-crítico en el BRM piloto	104
4.2.2.	Remoción de E1, E2 y EE2 en los bio-reactores con membranas a nivel laboratorio	107
4.2.2.1.	Pruebas abióticas	107
4.2.2.1.1.	Volatilización y sorción de los estrógenos	107
4.2.2.1.2.	Retención de los estrógenos en las membranas de ultrafiltración	107
4.2.2.1.2.1.	Membranas de polisulfona	107
4.2.2.1.2.2.	Membranas de PVDF	110
4.2.2.1.3.	Mecanismos de remoción de los estrógenos en las membranas	111
4.2.2.2.	Operación y desempeño de los BRM a nivel laboratorio en la remoción de E1, E2 y EE2	116
4.2.2.2.1.	Influencia del TRC y TRH sobre la remoción de los estrógenos	122
4.2.2.2.2.	Relación entre la remoción del E1, E2 y EE2 y el proceso de nitrificación	129
4.2.2.2.2.1.	Balance de nitrógenos	137
4.2.2.2.3.	Detección de estrógenos en la biomasa inactivada	138
4.2.2.2.3.1.	Determinación del coeficiente de adsorción K_D	138
4.2.2.2.3.2.	Adsorción de los estrógenos en la biomasa desactivada	141
4.2.2.2.4.	Destino de los estrógenos en los BRM	144
4.2.2.2.4.1.	Contribución de los procesos de biodegradación y adsorción sobre la remoción de los estrógenos en los BRM	144
4.2.2.2.4.2.	Balance de masas	149
4.2.2.2.4.2.1.	Comparación de los balances de masas obtenidos mediante el Método 1 y Método 2	151
4.2.2.2.5.	Cinéticas de remoción	157
4.2.2.2.5.1.	Contribución de los procesos de biodegradación, adsorción y volatilización sobre la remoción de los estrógenos en experimentos en batch	157
4.2.2.2.5.2.	Modelos cinéticos	160
4.2.2.2.5.3.	Identificación de los subproductos de la biodegradación de E1, E2 y EE2	165
4.2.2.2.5.4.	Remoción de materia orgánica y nitrógeno amoniacal en pruebas batch	166
4.2.2.2.6.	Desempeño de los reactores en la remoción de materia orgánica y otros parámetros	167
4.2.2.2.6.1.	Materia orgánica	167
4.2.2.2.6.2.	Determinación de coeficientes cinéticos	170
4.2.2.2.6.3.	Sólidos suspendidos volátiles	174
4.2.2.2.6.4.	Seguimiento de la colmatación de las membranas	177

	Página	
4.2.2.2.6.5.	Turbiedad en los permeados de los BRM	182
4.2.3.	Bio-reactor con membranas a nivel piloto para el tratamiento de un agua residual municipal real	184
4.2.3.1.	Arranque y operación del bio-reactor con membranas	184
4.2.3.2.	Agua residual municipal	184
4.2.3.2.1.	Muestreo y caracterización del agua residual municipal	185
4.2.3.3.	Evaluación del BRM piloto sobre la remoción de E1, E2 y EE2 presentes en el agua residual municipal	188
4.2.3.3.1.	Influencia del TRC y TRH sobre la remoción de los estrógenos	189
4.2.3.3.2.	El proceso de nitrificación en la remoción de los estrógenos	192
4.2.3.3.3.	Concentración de estrógenos en la biomasa del BRM piloto	197
4.2.3.3.4.	Balance de masas	199
4.2.3.3.5.	Desempeño del BRM en la remoción de materia orgánica	207
4.2.3.3.5.1.	Evolución de las tasas de remoción	209
4.2.3.3.6.	Determinación de los coeficientes cinéticos	210
4.2.3.3.7.	Turbiedad y color	211
4.2.3.3.8.	Seguimiento de la colmatación de las membranas en el tratamiento del agua residual municipal	212
5.	CONCLUSIONES	214
6.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	218
7.	LISTA DE PUBLICACIONES Y MEMORIAS EN CONGRESOS	234

Índice de Figuras

	Página
Figura 1.1. Excreción del 17 α - etinilestradiol (EE2) en el cuerpo y su destino en el medioambiente (Fuente: Guengerich, 1990)	7
Figura 1.2. Desconjugación del 17 β -estradiol	9
Figura 1.3. Principales mecanismos de acción de los compuestos disruptores endocrinos	13
Figura 1.4. Rutas de transporte de los estrógenos excretados por seres humanos (Fuente: modificado de Velagaletti, 1995)	15
Figura 1.5. Rutas de transporte de los estrógenos excretados por animales de granjas (Fuente: modificado de Velagaletti, 1995)	16
Figura 1.6. Transformación de estrógenos catalizadas por el citocromo P-450	33
Figura 1.7. Biotransformación de EE2 por <i>C. elegans</i>	34
Figura 1.8. Biotransformación de EE2 por diferentes microalgas	35
Figura 1.9. Diagrama esquemático de un BRM integrado (sumergido)	38
Figura 1.10. Diagrama esquemático de un BRM con configuración externa	39
Figura 1.11. Mecanismos de la colmatación en los bio-reactores con membranas	42
Figura 1.12. Factores que afectan el ensuciamiento en los BRM	43
Figura 3.1. Diagrama de flujo del estudio sobre el transporte y distribución de los estrógenos por medio de BRM	48
Figura 3.2. Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas/masas	50
Figura 3.3. Sistema de extracción en fase sólida	52
Figura 3.4. Sistema de limpieza en cartucho con silica gel	53
Figura 3.5. Sistemas experimentales: a) diagrama de los sistemas para la operación de los BRM; b) fotografía de los tres reactores	60
Figura 3.6. Módulo de membranas de fibra hueca de ultrafiltración (General Electric)	60
Figura 3.7. Esquema experimental utilizado en las cinéticas de remoción	67
Figura 3.8. Bio-reactor con membranas a nivel piloto	71
Figura 3.9. Esquema del BRM para el balance de masas	72
Figura 4.1. Cromatogramas y espectros de los estrógenos; a) E1, b) E2, c) EE2 y d) E2- acetato (surrogado)	78
Figura 4.2. Cromatograma de los estrógenos a una concentración de 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$	79
Figura 4.3. Cromatograma de los estrógenos a una concentración de 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ con tiempos de retención por debajo de 20 min	79
Figura 4.4. Cromatograma de E1, E2 y EE2 mediante el modo SIM a una concentración de 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$	80
Figura 4.5. Cromatograma de los estrógenos para la separación del E1 y el EE2 mediante pulsos de presión a una concentración de 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$	81
Figura 4.6. Cromatograma sobre la influencia del volumen de la mezcla de derivatizantes a una concentración de los analitos de 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$	82

Figura 4.7. Cromatograma de los compuestos con diferentes tiempos de reacción para llevar a cabo la derivatización de los analitos a una concentración $2 \mu\text{g.L}^{-1}$	82
Figura 4.8. Cromatogramas; a) columna VF-17ms y b) columna VF-5ms	83
Figura 4.9. Cromatograma de los estrógenos aumentando el voltaje del multiplicador y la corriente de emisión para una concentración de 10 ng.L^{-1}	85
Figura 4.10. Cromatograma de los estrógenos a una concentración de 1 ng.L^{-1} con un rampa de temperatura de 160°C (1 min), $25^\circ\text{C min}^{-1}$ hasta 260°C , 2°C min^{-1} hasta 280°C ; 280°C (2 min)	85
Figura 4.11. Tratamiento de la muestra para el agua residual	87
Figura 4.12. Tratamiento de la muestra para la biomasa	88
Figura 4.13. Cromatograma para el cálculo del límite de detección de los estrógenos de acuerdo a la relación S/R. (a) 0.01 ng.L^{-1} , (b) 0.001 ng.L^{-1} , (c) 0.0001 ng.L^{-1} y (d) $0.00001 \text{ ng.L}^{-1}$	90
Figura 4.14. Linealidad del método en el tratamiento de la muestra para el agua residual y la biomasa	92
Figura 4.15. Relación entre el flux, PTM y R en las pruebas con agua desionizada	94
Figura 4.16. Flujo crítico y sub-crítico para diferentes concentraciones de biomasa. a) $4,200 \text{ mg SSV.L}^{-1}$, b) $6,150 \text{ mg SSV.L}^{-1}$ y c) $7,940 \text{ mg SSV.L}^{-1}$	96
Figura 4.17. Evolución de la tasa de colmatación $d\text{PTM}/dt$ en la determinación de las condiciones críticas y sub-críticas	97
Figura 4.18. Comportamiento de la resistencia en la determinación de las condiciones críticas y sub-críticas	98
Figura 4.19. Comportamiento de la permeabilidad con diferentes concentraciones de biomasa	99
Figura 4.20. Comportamiento del flux, PTM y la permeabilidad en condiciones sub-críticas para diferentes concentraciones de la biomasa: a) $4,250 \text{ mg SSV.L}^{-1}$, b) $5,100 \text{ mg SSV.L}^{-1}$ y c) $6,250 \text{ mg SSV.L}^{-1}$	101
Figura 4.21. Variación de la tasa de colmatación $d\text{PTM}/dt$ con diferentes concentraciones de biomasa en condiciones sub-críticas	102
Figura 4.22. Relación PTM vs flux con agua desionizada en el BRM piloto	105
Figura 4.23. a) Obtención de la zona crítica y sub-crítica en el BRM piloto y b) seguimiento de la permeabilidad	106
Figura 4.24. Retención de los estrógenos en las membranas de polisulfona. a) TRH 7 h; b) TRH 12 h	109
Figura 4.25. Comportamiento de la materia orgánica y nitrógeno amoniacal en pruebas abióticas con membranas	110
Figura 4.26. Retención de los estrógenos en la membrana de polifluoruro de vinilideno	111
Figura 4.27. Interacciones hidrofóbicas (puentes de hidrógeno) entre los estrógenos y la membrana de polisulfona	112
Figura 4.28. Interacciones hidrofóbicas (puentes de hidrógeno) entre los estrógenos y la membrana de polifluoruro de vinilideno	113
Figura 4.29. Comportamiento de los estrógenos en el BRM 1	117

	Página
Figura 4.30. Comportamiento de los estrógenos en el BRM 2	118
Figura 4.31. Comportamiento de los estrógenos en el BRM 3	119
Figura 4.32. Influencia de los SSV sobre la remoción de E1, E2 y EE2	122
Figura 4.33. Remoción de estrógenos con diferentes TRC y TRH. a) TRH = 12 h, b) TRH = 7 h	124
Figura 4.34. Relación entre diferentes TRC y TRH sobre la remoción de E1, E2 y EE2	126
Figura 4.35. Remoción de E1, E2 y EE2 con un TRH de 7 y 12 h	127
Figura 4.36. Evolución del proceso de nitrificación en la remoción de los estrógenos: a) BRM 1; b) BRM 2 y c) BRM 3	132
Figura 4.37. Porcentaje de nitrificación con diferentes TRC	133
Figura 4.38. Relación entre la nitrificación y la remoción de E1, E2 y EE2	134
Figura 4.39. Relación del TRC en las tasas de formación de nitratos	136
Figura 4.40. Transformación cometabólica de los estrógenos mediante microorganismos nitrificantes	137
Figura 4.41. Isotermas de adsorción determinadas con biomasa desactivada del BRM	140
Figura 4.42. Adsorción de los estrógenos en la biomasa inactivada	143
Figura 4.43. a) Detección de E1, E2 y EE2 en la biomasa del BRM 1, b) Tasas de biodegradación y adsorción	146
Figura 4.44. a) Detección de E1, E2 y EE2 en la biomasa del BRM 2, b) Tasas de biodegradación y adsorción	147
Figura 4.45. a) Detección de E1, E2 y EE2 en la biomasa del BRM 3, b) Tasas de biodegradación y adsorción	148
Figura 4.46. Flujo de estrógenos en la purga de lodos obtenidos mediante el método 1 y 2	153
Figura 4.47. Remociones de E1, E2 y EE2 por adsorción obtenidos mediante el método 1 y 2	155
Figura 4.48. Remociones de E1, E2 y EE2 por biodegradación obtenidos mediante el método 1 y 2	156
Figura 4.49. Remoción de E1, E2 y EE2 en pruebas batch	159
Figura 4.50. Cinética de reacción de E1, E2 y EE2 aplicando el modelo de orden cero	161
Figura 4.51. Cinética de reacción de E1, E2 y EE2 aplicando el modelo de primer y pseudo primer orden	162
Figura 4.52. Cinética de reacción de E1, E2 y EE2 aplicando el modelo pseudo primer orden con K_D y al modelo de Monod	163
Figura 4.53. Biotransformación de E2 a E1	165
Figura 4.54. Remoción de la materia orgánica en experimentos en batch	166
Figura 4.55. Remoción de $N-NH_4^+$ a través del tiempo con experimentos en batch	167
Figura 4.56. Tasas orgánicas aplicadas y removidas en la operación de los BRM	169

	Página
Figura 4.57. Remoción de materia orgánica y estrógenos bajo diferentes TRH y TRC	170
Figura 4.58. Determinación de los coeficientes cinéticos k y K_S	171
Figura 4.59. Determinación de los coeficientes cinéticos Y y k_d	172
Figura 4.60. Relación SSV/SST en los BRM	174
Figura 4.61. Evolución de la biomasa en los BRM. a) BRM 1, b) BRM 2 c) BRM 3	176
Figura 4.62. Evolución de la colmatación de las membranas en los reactores. a) BRM 1, B) BRM 2 y c) BRM 3	178
Figura 4.63. Evolución de las resistencias en los reactores	179
Figura 4.64. Evolución de la tasa de colmatación de las membranas con diferentes condiciones de operación	180
Figura 4.65. a) Acumulación de sólidos en la superficie de las membranas de ultrafiltración; b) membranas después del baño químico	182
Figura 4.66. Comportamiento de la turbiedad en los permeados de los BRM	183
Figura 4.67. Localización de puntos de muestreo del agua residual municipal	185
Figura 4.68. Detección de estrógenos encontrados en el agua residual provenientes del Emisor Central y Gran Canal	187
Figura 4.69. Remoción de estrógenos operados con diferentes TRC en el BRM piloto	190
Figura 4.70. Remociones de estrógenos con diferentes TRH en el BRM piloto	191
Figura 4.71. Concentraciones de lo estrógenos con diferentes TRH en el efluente del BRM piloto	191
Figura 4.72. Evolución del $N-NH_4^+$ y formación de $N-NO_2^-$ y $N-NO_3^-$ en el BRM	193
Figura 4.73. Cargas de $N-NH_4^+$ aplicada y removida en el tratamiento del agua residual	195
Figura 4.74. Evolución del proceso de nitrificación en la remoción de los estrógenos	196
Figura 4.75. Relación entre la nitrificación y la remoción de E1, E2 y EE2	197
Figura 4.76. a) Detección de E1, E2 y EE2 en la biomasa del BRM piloto, b) Tasas de biodegradación y adsorción	199
Figura 4.77. Flujo de estrógenos en la entrada de BRM piloto mediante el método 1 y 2	202
Figura 4.78. Flujo de estrógenos en la purga de lodos obtenidos mediante el método 1 y 2	203
Figura 4.79. Remociones de E1, E2 y EE2 por biodegradación obtenidos mediante el método 1 y 2	205
Figura 4.80. Remociones de E1, E2 y EE2 por adsorción obtenidos mediante el método 1 y 2	206
Figura 4.81. Desempeño del BRM piloto en el tratamiento del agua residual real	208

	Página
Figura 4.82. Evolución de los sólidos suspendidos en el BRM piloto	208
Figura 4.83. Cargas orgánicas aplicadas al reactor en el tratamiento del agua residual municipal	209
Figura 4.84. Evolución de las tasas de remoción en el tratamiento del agua residual municipal	210
Figura 4.85. Comportamiento de la turbiedad durante el tratamiento del agua residual municipal en el BRM piloto	212
Figura 4.86. Comportamiento de la turbiedad durante el tratamiento del agua residual municipal en el BRM piloto	212
Figura 4.87. Evolución de la colmatación de la membrana en el tratamiento del agua residual municipal	213

Índice de Tablas

	Página
Tabla 1.1. Principales compuestos disruptores endocrinos	4
Tabla 1.2. Niveles promedios de estrógenos excretados en la orina de hombres y mujeres (Fuente: Johnson <i>et al.</i> , 2000)	5
Tabla 1.3. Características fisicoquímicas de los estrógenos (Fuente: Routledge <i>et al.</i> , 1998)	10
Tabla 1.4. Concentraciones de los estrógenos en diferentes matrices ambientales	14
Tabla 1.5. Concentración letal media de CDE en la inducción de la proteína <i>vitellogenin</i> en la producción de huevecillos en peces	18
Tabla 1.6. Efecto de los disruptores endocrinos en diferentes especies de peces	18
Tabla 1.7. Actividades estrogénicas de los CDE	19
Tabla 1.8. Concentraciones de estrógenos en aguas residuales obtenidas en algunas investigaciones	21
Tabla 1.9. Concentraciones de estrógenos en los influentes y efluentes de plantas de tratamiento de aguas residual en el mundo (proceso lodos activados)	21
Tabla 1.10. Concentraciones de estrógenos en plantas de tratamiento de aguas residuales municipales de Australia	22
Tabla 1.11. Remoción de estrógenos mediante diferentes procesos biológicos	26
Tabla 1.12. Remoción de estrógenos en experimentos a escala laboratorio	29
Tabla 1.13. Comparación entre los BRM sumergidos y los BRM con membranas externas	40
Tabla 1.14. Características de los BRM comerciales	46
Tabla 3.1. Características del módulo de membranas de polisulfona	61
Tabla 3.2. Frecuencia de succión/retrolavado	63
Tabla 3.3. Condiciones de operación de los BRM	64
Tabla 3.4. Composición del agua residual sintética	65
Tabla 3.5. Composición del agua residual sintética para experimentos en batch	70
Tabla 3.6. Programa de muestreo de los sistemas experimentales	75
Tabla 3.7. Técnicas utilizadas para el control del sistema	75
Tabla 4.1. Condiciones del cromatógrafo	76
Tabla 4.2. Condiciones de operación del espectrómetro de MS/MS	76
Tabla 4.3. Tiempos de retención e iones precursores de los estrógenos	77
Tabla 4.4. Tiempos de retención con diferentes columnas	84
Tabla 4.5. Tiempos de retención de E1, E2 y EE2	86
Tabla 4.6. Condiciones seleccionadas para el cromatógrafo de gases	86
Tabla 4.7. Condiciones de operación en el espectrómetro de MS/MS	86

	Página
Tabla 4.8. Determinación del LDD y LDC de los estrógenos en el agua residual y la biomasa	89
Tabla 4.9. Recuperaciones de los estrógenos en agua residual en cartuchos C ₁₈ y silica gel	91
Tabla 4.10. Recuperaciones de los estrógenos en la derivatización de los analitos presentes en el agua residual y en la biomasa	92
Tabla 4.11. Coeficientes de variación en el tratamiento de las muestras en el agua residual y la biomasa	93
Tabla 4.12. Parámetros de operación en la limpieza física de las membranas con diferentes escenarios de succión/retrolavado	104
Tabla 4.13. Volatilización y sorción de los estrógenos en los reactores experimentales	107
Tabla 4.14. Concentraciones de E1, E2 y EE2 en los efluentes de los BRM con diferentes condiciones de operación	121
Tabla 4.15. Remoción de E1, E2 y EE2 mediante diferentes procesos biológicos	128
Tabla 4.16. Efecto de la nitrificación en la remoción del E1, E2 y EE2 con diferentes condiciones de operación en los BRM	135
Tabla 4.17. Balance de nitrógeno durante la operación de los tres BRM con diferentes condiciones de operación	138
Tabla 4.18. Coeficientes de adsorción K _D de los estrógenos con diferentes tipos de biomasa y con suelo	141
Tabla 4.19. Flujos máxicos de estrógenos a través de los BRM y remociones mediante procesos de biodegradación y adsorción en diferentes fases experimentales utilizando las concentraciones de E1, E2 y EE2 en la fase líquida y sólida	151
Tabla 4.20. Tasas de biodegradación y adsorción de estrógenos obtenidas en los reactores batch	160
Tabla 4.21. Velocidades de remoción obtenidas por diferentes modelos cinéticos	164
Tabla 4.22. Resumen de operación de los reactores en la remoción de la materia orgánica	168
Tabla 4.23. Coeficientes cinéticos en los BRM a nivel laboratorio	173
Tabla 4.24. Características fisicoquímicas del agua residual Emisor Central	186
Tabla 4.25. Características fisicoquímicas del agua residual del Gran Canal	186
Tabla 4.26. Concentraciones de E1, E2 y EE2 en aguas residuales crudas	188
Tabla 4.27. Variación de las concentraciones de estrógenos en los muestreos y en el influente de BRM piloto	189
Tabla 4.28. Balance de nitrógeno en la operación del BRM piloto	194
Tabla 4.29. Tasa de nitrificación específica	196
Tabla 4.30. Concentraciones de estrógenos detectadas en los SST presentes en el influente del BRM piloto	200
Tabla 4.31. Flujos máxicos de estrógenos a través del BRM piloto y remociones mediante procesos de biodegradación y adsorción	201
Tabla 4.32. Coeficientes cinéticos obtenidos en el BRM piloto	211

Glosario de términos

Abreviatura

σ	Desviación estándar
ΔN	Diferencia entre el nitrógeno total en el efluente e influente
ΔK	Diferencial de la permeabilidad
Y	Coefficiente de producción celular
X_i	Concentración de estrógenos en los sólidos del influente
X_e	Concentración de estrógenos en los sólidos del efluente
x/m	Relación adsorbato/adsorbente
$X = X_p$	Concentración de estrógenos en la biomasa o en la purga de lodos
X	Concentración en la fase sólida
W	Watts
V_{BRM}	Volumen de trabajo del BRM
$v=V$	Volumen
UV-VIS	Luz ultravioleta visible
UV	Luz ultravioleta
UF	Ultrafiltración
TRH	Tiempo de residencia hidráulica
TRC	Tiempo de retención celular
TMSI	1-(trimetilsilil) imidazola
TMS	trimelsilil
T	temperatura
t	tiempo
$s_y, s_{y/x}, s_e$	Desviación estándar de la regresión lineal
SSV_{BRM}	Concentración de sólidos suspendidos volátiles en el BRM
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
SST_i	Concentración de sólidos suspendidos totales en el influente
SST_e	Concentración de sólidos suspendidos totales en el efluente
SST_{BRM}	Concentración de sólidos suspendidos totales en el BRM
SST	Sólidos suspendidos totales
SPE	Sustancias poliméricas extracelulares
SIM	Monitoreo selectivo de iones
S_i	Concentración del estrógeno en el influente
S_e	Concentración del estrógeno en el efluente
SCAN	Monitoreo de iones totales

Glosario de términos (continuación)

Abreviatura

SBR	Reactor en secuencia batch
S₀	Concentración inicial en la fase líquida o soluble
S/R	señal/ruido
s	Segundos
S	Concentración final en la fase líquida o soluble o concentración en la fase líquida o soluble
R_T	Resistencia hidráulica total
rpm	Revoluciones por minuto
R_{ef}	Remoción en el efluente
R_{bio}	Remoción por biodegradación
R_{ad}	Remoción por adsorción
R1	Reactor batch
R	Retención en las membranas
Q_P	Caudal de purga en el BRM
Q_i	Caudal influente
Q_e	Caudal efluente
PVDF	Polifluoruro de vinilideno
PTM	Presión transmembrana
POA	Procesos de oxidación avanzada
PMS	Productos microbianos solubles
pKa	Constante de disociación
pH	Potencial de hidrógeno
OI	Osmosis inversa
OD	Oxígeno disuelto
O₃	Ozono
NTK	Nitrógeno total Kjendahl
N_T	Nitrógeno total
N-NO₃⁻	Nitrógeno de nitratos
N-NO₂	Nitrógeno de nitritos
N-NH₄⁺	Nitrógeno amoniacal
ng	Nanogramo
NF	Nanofiltración
N₂	Nitrógeno gas
N.D.	No detectable
n	Numero de muestras
MSTFA	n-metil-n(trimetilsilil) trifluoroacetamida
mm	Milímetros
mL	Mililitros
μL	Microlitro
min	Minutos
mg	Miligramo

Glosario de términos (continuación)

Abreviatura

MF	Microfiltración
MBI	Mineralización biológicamente inducida
m/z	Relación masa/carga
m/m	masa/masa
m	Metros
<i>m</i>	Peso del lodo
log K_{wo}	Coefficiente de partición octanol-agua
LDD	Límite de detección
LDC	Límite de cuantificación
L	Litro
K_s	Constante de saturación
kPa	kilo pascales
kg	Kilogramo
kDa	kiloDaltons
K_D	Coefficiente de adsorción
k_d	Coefficiente de decaimiento endógeno
K	Permeabilidad
<i>k</i>	Constante de reacción, constante de la velocidad de la reacción o tasa máxima de utilización del sustrato
J	Flux
IVL	Índice volumétrico de lodos
Hz	Hertz
HPLC-UV-VIS	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento acoplado con un detector con arreglo de diodos UV-VIS
HPLC/MS/MS	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento acoplado a un espectrofotómetro de masas
HPLC	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento
h	Hora
GLUC	Glucuronida
g	Gramos
F_P	Flujo másico de estrógenos en la purga de lodos
F_i	Flujo másico de estrógenos en el influente
F_e	Flujo másico de estrógenos en el efluente
F/M	Relación alimento-microorganismos
eV	Electrovolts
EFS	Extracción en fase sólida
EE2	17 α -etinilestradiol
EC₅₀	Concentración letal media
E2-acetato	17 β -estradiol-17 β -acetato

Glosario de términos (continuación)

Abreviatura

E2-3-sulfato	17 β -estradiol-3-sulfato
E2-3-glucuronida	17 β -3-glucuronida
E2	17 β -estradiol
E3	Estriol
E1-3-sulfato	Estrona-3-sulfato
E1	Estrona
DTE	1,4-ditioeritriol
DQO_T	Demanda química de oxígeno total
DQOs	Demanda química de oxígeno disuelta o soluble
DQO	Demanda química de oxígeno
dPTM/dt	Tasa de colmatación
DDT	Dicloro difenil tricloroetano
d	Días
CV	Coefficiente de variación
C_p	Concentración en el permeado
cm	Centímetro
CL-UV-VIS	Cromatografía de líquidos acoplado con un detector con arreglo de diodos UV-VIS
CL-MS	Cromatografía de líquidos acoplado a un espectrofotómetro de masas
CL	Cromatografía de líquidos
CG/MS, CG/MS/MS	Cromatografía de gases acoplado a un espectrofotómetro de masas
CG	Cromatografía de gases
S_{eq}	Concentración en el equilibrio
CDEs	Compuestos disruptores endocrinos
C_a	Concentración en la alimentación
C₁₈	Octadecil trifuncional
C	Concentración total del compuesto (fase líquida + fase sólida)
BRM	Bio-reactor con membranas
bar	Bar
μ_{max}	Tasa máxima de crecimiento específico de los microorganismos
μm	Micrometro
μg	Microgramo
μ	Viscosidad
μ	Tasa de crecimiento específico de los microorganismos
°C	Grados centígrados
\bar{x}	Media de las áreas

INTRODUCCIÓN

Recientemente, se ha puesto atención a un grupo de contaminantes presentes en las aguas residuales municipales, los compuestos disruptores endocrinos (CDEs). Estos compuestos tienen la capacidad de interferir con la función normal del sistema endocrino de los seres humanos y de la fauna. Los CDE son compuestos químicos que interfieren con la actividad normal de las hormonas. La disrupción endocrina puede ser a través de los productos químicos sintéticos que actúan o bloquean la actividad hormonal normal o a través de la exposición de altas dosis de las hormonas naturales producidas en el cuerpo. Estos compuestos pueden causar efectos reproductivos y de salud irreversibles en seres humanos y fauna.

Las aguas residuales municipales son una mezcla compleja de compuestos químicos orgánicos naturales y sintéticos que contiene miles de compuestos con concentraciones variadas. Estos compuestos incluyen a los CDE tales como, las hormonas naturales o estrógenos (estrone (E1), 17β -estradiol (E2) y el estriol (E3)) y compuestos sintéticos como el 17α -etinilestradiol (EE2), bisfenol A y nonilfenol. Junto con su parcial remoción en las plantas de tratamiento de aguas residuales han generado la presencia de CDE en aguas superficiales en concentraciones de ng.L^{-1} (Daughton y Ternes, 1999; Ternes *et al.*, 1999b). Como las concentraciones de los CDE en el medio ambiente son muy bajas, estos compuestos se pueden clasificar como micro-contaminantes. Sin embargo, estas concentraciones bajas, han mostrado que cada compuesto, puede incrementar los efectos estrogénicos en el ambiente (Netzeva *et al.*, 2006; Rajapakse *et al.*, 2002).

El alto volumen de producción de varios CDE, de sus características fisicoquímicas y de su lanzamiento intencional y no intencional al ambiente, generan su presencia en las aguas residuales, aguas superficiales y otras matrices ambientales que reciben las descargas de las aguas residuales tratadas y no tratadas (Birkett y Lester, 2003). Los metabolitos inactivos de las hormonas y sus imitadores se excretan con la orina y heces fecales, los cuales pueden ser retransformados a sus compuestos activos por los microorganismos presentes en las alcantarillas y en los sistemas de tratamiento biológico (Ternes *et al.*, 1999b).

Las investigaciones actuales sobre la presencia de compuestos los CDE (especialmente estrógenos) en las agua residuales municipales e industriales son llevadas a cabo principalmente por varios países europeos (Reino Unido, Alemania e Italia), Países bajos, Japón, Canadá y los Estados Unidos de América.

Los procesos convencionales tales como los sistemas de lodos activados pueden remover parcialmente a estos compuestos presentes en las aguas residuales quedando concentraciones trazas en sus efluentes, los cuales pueden representar un peligro potencial al medio ambiente.

Consecuentemente existe la necesidad de considerar a los procesos avanzados y no convencionales para la remoción de estos compuestos. La tecnología de bio-reactores con membranas (*Membrana Bio-reactor (MBR)*) puede emplearse como una opción viable para una remoción considerable de estos compuestos. Recientemente el uso de los procesos con membranas se ha incrementado para el tratamiento y reúso de aguas residuales domésticas, municipales e industriales que incluyen irrigación agrícola, procedimientos industriales con agua de enfriamiento, servicio al público, recreativo y recarga de acuíferos. Los principales factores que han favorecido la implementación de esta tecnología han sido la construcción de membranas menos caras y más resistentes con requerimientos de presión más bajos y fluxes más altos, tornando a los bio-reactores con membrana (BRM) como competencia directa con los sistemas convencionales de tratamiento (Herrera *et al.*, 2006; Adham *et al.*, 2001).

Varios estudios se han realizado para investigar la remoción de CDE en las plantas de tratamiento de aguas residuales incluyendo BRM. Estos últimos, han sido propuestos como una tecnología viable para la remoción de los compuestos disruptores. Sin embargo, estos estudios no generan información acerca del transporte y destino de estos compuestos ni de sus mecanismos de remoción tales como la biodegradación, la desorción y la adsorción.

La aplicación de esta tecnología y el entendimiento acerca del transporte y distribución de estos compuestos a través del proceso biológico como la biodegradación, volatilización, desorción y adsorción, contribuirá con la solución de la problemática de los compuestos disruptores endocrinos presentes en las aguas residuales municipales.

PROBLEMÁTICA DE LOS COMPUESTOS DISRUPTORES ENDOCRINOS

El agua es un recurso finito y el tratamiento de ella resulta costoso. En la actualidad, el tema sobre el reúso del agua residual municipal se ha tomado más en serio debido a la escasez de recursos hídricos. Además, es uno de los principales temas de investigación relacionados a los problemas ambientales. Si bien es cierto que ya se han comenzado a tratar las aguas residuales municipales para su reúso, una nueva problemática ha surgido en años recientes en torno a su tratamiento y reúso y, está relacionada con la presencia de compuestos disruptores endocrinos, farmacéuticos y productos para el cuidado personal. Ha sido bien documentado, que algunos de estos compuestos causan serios problemas en los organismos vivos a niveles de ng.L^{-1} y otros, además generan resistencia a poblaciones microbianas hacia el ataque de ciertos compuestos.

La causa principal de la presencia de estos micro-contaminantes en los sistemas acuáticos son las descargas de las aguas residuales municipales, siendo la fuente principal de liberación de estos compuestos las excreciones humanas (heces fecales y orina) y el vertido incontrolado de medicamentos caducos. Los CDE se descargan en el ambiente sin recibir algún tratamiento y recientemente se ha estimado un aumento de estos debido a la sobrepoblación de las áreas urbanas (Katori *et al.*, 2002; Johnson *et al.*, 2000; Körner *et al.*, 2000).

Estas descargas llegan al sistema de alcantarillado y de ahí a las plantas de tratamiento de aguas residuales en donde son removidos y/o biodegradados parcialmente, quedando concentraciones trazas en sus efluentes, contaminando así a las aguas superficiales y suelos. La feminización de organismos machos ha sido observada en ríos y lagos en los cuales se vierten los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Masunaga *et al.*, 2000; Miles-Richardson *et al.*, 1999; Folmar *et al.*, 1996; Sumpter, 1995)

Las bajas remociones de estos compuestos en las plantas de tratamiento se debe a que son recalcitrantes. Además de que las plantas de tratamiento actualmente instaladas no están diseñadas para la remoción de los mismos, puesto que solo están diseñadas para la remoción de materia orgánica y nutrientes. Una propuesta para mitigar esta problemática es la aplicación de nuevas tecnologías para el tratamiento del agua residual. Para esto, son necesarios procesos de tratamiento no convencionales que permitan obtener altas remociones de estos compuestos, un efluente con alta calidad de agua tratada y un área reducida. La tecnología de bio-reactores con membranas (BRM) ofrece estas características.

En México se tienen pocos reportes sobre la presencia de CDE en las aguas residuales municipales y en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Es de suma importancia investigar su presencia en diferentes matrices ambientales cuya actividad de población e industrial sea alta.

Por lo tanto, en México existe la necesidad de implementar nuevas tecnologías de tratamiento de aguas residuales tanto municipales como industriales para poder enfrentar nuevos retos como lo es la presencia de CDE, (especialmente estrógenos naturales y sintéticos) en las aguas residuales. Además, es necesario identificar concentraciones de estos compuestos en las aguas residuales de México en sus zonas con mayor densidad de población, así como detectar sus concentraciones en los influentes y efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales.

1. ANTECEDENTES

1.1. Compuestos disruptores endocrinos

El sistema endocrino es el principal mecanismo de regulación de diversas funciones en el cuerpo. Los mensajeros del sistema endocrino son las hormonas que se sintetizan y se excretan en cantidades muy bajas y que son transportados por todo el organismo mediante la circulación sanguínea.

Las hormonas que se transportan en la sangre se encuentran en estado libre o se unen a las proteínas y se adhieren en los órganos receptores especializados de la hormona en la superficie de la célula o dentro de la célula (receptores nucleares). Este complejo hormona-receptor activa diversas funciones de la célula o del órgano.

Las hormonas regulan varias funciones del cuerpo como es el crecimiento, el desarrollo y los mecanismos homeostáticos del organismo, tales como la reproducción, mantenimiento de los niveles normales de la glucosa o los iones en la sangre, la presión arterial, metabolismo general y otras funciones de los músculos o del sistema nervioso.

Muchas sustancias químicas de origen natural y antropogénicos pueden causar efectos en el complejo hormona-receptor los cuales pueden influenciar en el sistema endocrino de los seres humanos y animales. Estos compuestos pueden ser sintéticos (origen antropogénico), por ejemplo, hormonas y productos químicos industriales o pueden ser naturales como los estrógenos.

Algunas investigaciones han mostrado que en concentraciones bajas, estos productos o compuestos químicos pueden interferir en los sistemas endocrinos y causar cáncer en los sistemas reproductivos masculino y femenino y otros efectos en la salud de los seres vivos (Bruchet *et al.*, 2002). Por lo tanto, esas sustancias o productos son definidas como "compuestos disruptores endocrinos".

El término compuesto disruptor endocrino (tomado del inglés *endocrine disruptor chemical*) define un conjunto diverso y heterogéneo de compuestos químicos capaces de alterar el equilibrio hormonal.

En el año de 1996, la Comunidad Científica Europea en su reporte en sobre "*El impacto de los compuestos disruptores endocrinos en la salud humana y fauna*", ha definido a un compuesto disruptor endocrino (CDE) como:

"Una sustancia exógena que causa efectos adversos en la salud de un organismo intacto o en su progenie, por consiguiente cambios en las funciones endocrinas."

"Un disruptor endocrino es una sustancia que posee propiedades que pueden causar disrupción endocrina en un organismo intacto."

Por otro lado, la Agencia de Protección al Medioambiente de los Estados Unidos (U.S. EPA por sus siglas en inglés) define a un CDE como:

“Un agente exógeno que interfiere con la síntesis, secreción, transporte, la acción de enlace receptor-hormona o la eliminación de las hormonas naturales en el cuerpo, que son las responsables de los controles de la homeostasis (conjunto de fenómenos de autorregulación, que conduce al mantenimiento interno de un organismo), reproducción, del desarrollo y/o del comportamiento en el organismo” (U.S.EPA, 1997b).

En otras palabras los CDE son compuestos que interfieren con el funcionamiento normal de los procesos hormonales del sistema endocrino.

La exposición de los CDE pueden causar anomalías en órganos y partes del cuerpo (Colborn y Clemen, 1992), induce o promueve la activación de células cancerosas (Safe, 2000) o interfieren con el desarrollo y metamorfosis de los anfibios y de los insectos (Hutchinson, 2002; Mosconi *et al.*, 2002). Los CDE modulan con frecuencia la transcripción de genes (ADN). La multiplicidad hormonal de estas sustancias activas, la diversidad de sus mecanismos de acción y la dimensión del impacto potencial a la salud humana y ambiental son los principales problemas que representan estos compuestos (Damstra *et al.*, 2002).

La comisión científica para la toxicidad, ecotoxicidad y el medio ambiente del Comité Europeo, identificó en 1999, una fuerte evidencia obtenida en estudios de laboratorio, que mostraron el potencial de algunos químicos ambientales que causan disrupción endocrina a niveles de exposición ambientales reales (Anónimo, 2007a).

En 1996, el gobierno de Estados Unidos ordenó a la Agencia de Protección al Medioambiente de los Estados Unidos la evaluación del agua potable para detectar la presencia de compuestos con potencial disruptivo, siendo ésta una de las seis investigaciones prioritarias de la Agencia (Anónimo, 2007b).

La problemática de los CDE no es reciente.. En 1938, el dietilstilbestrol una hormona sintética fue administrada a las mujeres embarazadas para prevenir abortos. En todo el mundo, esta hormona fue administrada cerca de 4.8 millones de mujeres. En 1971, este compuesto generó cáncer vaginal en la descendencia femenina de las mujeres que utilizaron la droga durante el primer trimestre del embarazo. En este mismo año, la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos prohibieron la administración de esta droga tanto en animales como en los humanos. En 1972, el uso del diclorodifeniltricloroetano (DDT) fue restringido en los Estados Unidos, después de que varios estudios mostraron efectos estrogénicos en mamíferos y pájaros (Suidan *et al.*, 2005). Los primeros reportes sobre la presencia de hormonas en el ambiente fueron publicados en 1965, mostrando que los estrógenos son removidos parcialmente en el tratamiento del agua residual (Stumm-Zollinger y Fair, 1965).

Los CDE tienen dos características principales: que están presentes en varios compuestos químicos que son de origen natural o sintéticos, los cuales están presentes

en los hogares, trabajo y aun en alimentos y agua potable, la otra característica es que son persistentes. Una vez descargados al sistema de alcantarillado, los CDE pueden experimentar una serie de procesos bioquímicos y fisicoquímicos tales como la dilución, la fotólisis, biodegradación y la adsorción en lodos y sedimentos los cuales pueden contribuir a su eliminación en el ambiente. Sin embargo, todavía están presentes en concentraciones bajas en el orden de ng.L^{-1} (Desbrow *et al.*, 1998) y que pueden afectar al ambiente.

Las descargas de estos compuestos en el medio ambiente principalmente en las aguas residuales ha despertado un gran interés debido a que causan serios efectos adversos sobre la salud, tales como una disminución en la cantidad de espermatozoides, cáncer de mama, y anormalidades en los sistemas reproductivos de seres humanos y fauna como es el caso de la feminización en peces machos.

1.1.1. Clasificación de compuestos disruptores endocrinos

Los CDE se pueden clasificar en cuatro categorías principales: hormonas naturales y sintéticas (estrógenos del sexo) (Thorpe *et al.*, 2003; Colborn y Clemet, 1992); metabolitos de los detergentes (Snyder *et al.*, 2000); plastificantes (Sheanan *et al.*, 2002; Purdom *et al.*, 1994;); y biocidas (Snyder *et al.*, 2000).

Estos compuestos tienen la capacidad de afectar directa o indirectamente el sistema endocrino de los seres vivos. Los CDE que se encuentran en el ambiente incluyen: el dicloro difenil tricloroetano (DDT) (Sumpter y Jobling, 1995), bifenilos policlorados (Sumpter y Jobling, 1995), fenoles (Routledge *et al.*, 1999), organoclorados (Estrada y García, 2004), ésteres de ftalato (Routledge *et al.*, 1999), etoxilatos alquilfenólicos (Ferguson *et al.*, 2001), y hormonas naturales y sintéticas (estrógenos) (Braga *et al.*, 2005; Aerni *et al.*, 2004; Andersen *et al.*, 2003; D'Ascenzo *et al.*, 2003; Baronti *et al.*, 2000;.Larsson *et al.*, 1999; Ternes *et al.*, 1999a).

Las hormonas o estrógenos y los etoxilatos alquilfenólicos son los compuestos que han recibido una mayor atención, debido a que su presencia en las aguas residuales han mostrado un mayor impacto en el medio ambiente (Thorpe *et al.*, 2003; Huang y Sedlak, 2001; Körner *et al.*, 2000; Ternes *et al.*, 1999b). De estos dos grupos, los estrógenos naturales y sintéticos presentan una mayor actividad estrogénica en las aguas residuales (Snyder *et al.*, 2001; Körner *et al.*, 2000).

Los principales estrógenos que generan un mayor efecto disruptivo sobre los seres vivos y los cuales se encuentran en las aguas residuales no tratadas y tratadas en concentraciones entre 1 y 400 ng.L^{-1} son la Estrona (E1), 17β -estradiol (E2), Estriol (E3) y 17α -etinilestradiol (EE2) (Jürgens *et al.*, 2002; Colborn y Clemet, 1992). Aunque el E3 puede ser detectado en altas concentraciones en los efluentes de las plantas de tratamiento, es un disruptor endocrino que genera una menor actividad estrogénica en los seres vivos comparados con el E1, E2 y EE2. El alto potencial estrogénico del E1, E2 y EE2 se cree que está relacionada con una alta acumulación en el plasma

sanguíneo (Larsson *et al.*, 1999; Stumpf *et al.*, 1996). En la siguiente Tabla 1.1 se presentan los compuestos que pueden presentar una mayor disrupción endocrina en los seres humanos y medio ambiente.

Tabla 1.1 Principales compuestos disruptores endocrinos

Principal aplicación	Sustancias
Materia prima para surfactantes Materia prima para aceites solubles y resinas fenólicas	4-t-butilfenol 4-n-pentilfenol 4-n-hexilfenol 4-heptilfenol 4-n-octilfenol 4-t-octilfenol Nonilfenol
Materia prima para la fabricación de policarbonatos y resinas epóxicas Metabolitos intermediarios de colorantes Plastificantes para plásticos	Bisfenol-A 2,4-diclorofenol Dietil ftalato Dipropil ftalato Di-n-butil ftalato Dipentil ftalato Dihexil ftalato Di-2-etilhexil ftalato Dicilohexil ftalato Butilbencil ftalato
Tratamiento de alquitrán y de gases de escape de automóviles Plastificantes para plásticos Materias primas para la elaboración de medicinas Materia primas para plásticos y resinas Materia prima para el cristal líquido Agentes para el recubrimiento de plásticos y para pruebas de fuego Se producen durante la fabricación de compuestos orgánicos clorados	Benco (a) pileno Di-2—etilhexil adipato 4-nitrotolueno Bencofenona Monómeros del estireno Dímeros y trímeros del estireno n-butilbenceno Bifenilos policromados Bifenilos policlorados Octacloroestireno Nonilfenol etoxilato
Estrógenos naturales	Estrona (E1) 17β-estradiol (E2) Estriol (E3) Progesterona Testosterona
Estrógenos sintéticos (pastillas anticonceptivas)	17α-etinilestradiol (EE2) Progesterona Testosterona

1.1.2. Hormonas naturales y sintéticas (estrógenos del sexo)

Existen tres grupos principales de hormonas del sexo: las progestinas, andrógenos y estrógenos. El E1, E2 y E3 son los estrógenos más importantes. De los tres, el E2 tiene una actividad biológica más alta, el E1 tiene un tercio de esa actividad mientras que la actividad del E3 es solamente el 1% del E2 (Bachrach y Smith 1996). Estas hormonas son los estrógenos principales de las mujeres. También están presentes en los varones, pero en concentraciones más bajas. El E2 se convierte fácilmente a E1. Aunque esta reacción enzimática es reversible, la formación de E1 se ve más favorecida (Cooke y Naaz, 2004) El E3 es un intermediario del E1 y E2. La concentración del E3 es generalmente baja, aumenta durante el embarazo, convirtiéndose en gran medida la hormona predominante del sexo en la madre y el feto (Johnson *et al.*, 2000). El EE2 es compuesto sintético derivado del E2 y es la sustancia activa de las pastillas anticonceptivas.

1.1.3. Estrógenos naturales y excreciones por seres humanos

Los estrógenos y los andrógenos naturales se producen en el organismo masculino y femenino en diversas cantidades (Tabla 1.2). Las hormonas son moléculas lipofílicas, solubles en grasas que se excretan principalmente como glucuronatos solubles o conjugaciones de sulfatos en el agua. Bajo condiciones ambientales estas conjugaciones se hidrólizan rápidamente transformándose en hormonas libres (E1, E2, E3 y EE2) (Ternes *et al.*, 1999a; Ternes *et al.*, 1999b).

Los seres humanos excretan varias cantidades de hormonas dependiendo de parámetros tales como edad, estado de la salud, embarazo, periodo menstrual de la mujer. Tyler y Routledge (1998) y Colucci *et al.* (2001) reportaron que las cantidades de estrógenos naturales excretados por los seres humanos en el periodo pre-menopausia de las mujeres se encuentran entre 10 y 100 $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$. La cantidad de E1 excretado es dos veces más alta en comparación con E2 y E3.

Tabla 1.2. Niveles promedios de estrógenos excretados en la orina de hombres y mujeres (Fuente: Johnson *et al.*, 2000)

Hormona	Mujer ($\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)	Mujer durante el embarazo ($\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)	Mujer en la menopausia ($\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)	Hombres ($\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)
Estriol	4.8	6000	1.0	1.5
Estrona	8.0	600	4.0	3.9
Estradiol	3.5	259	1.0	1.6

Después de la menopausia, las mujeres excretan solamente entre 5 y 10 μg de estrógenos diariamente. Las cantidades de los estrógenos excretados por los hombres son de 2 a 25 $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ (Williams y Stancel, 1996). Las mujeres embarazadas puede excretar hasta 30 mg por día, pero los valores promedios se encuentran alrededor de 250 $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$. Se asume que las mujeres que usan pastillas anticonceptivas pueden excretar una dosis diaria de estrógenos entre 25 y 50 μg (Johnson *et al.*, 1999; Tabak *et al.*, 1981). Las hormonas mencionadas, naturalmente están presentes en la orina como conjugados glucoronidas o sulfatos en mayores niveles. Las cantidades administradas de las hormonas sintéticas son generalmente altas y en la mayoría de los casos, gran parte de estas no es asimilada, sino es excretada por el organismo (Johnson *et al.*, 2000). Las hormonas de reemplazo se prescriben a las mujeres que han experimentado una cirugía de los ovarios o después de la menopausia. A menudo, las pastillas prescritas contienen E2 o E1 y progesterona. Alrededor de 65% de los estrógenos administrados se encuentran en la orina y alrededor de 15% en las heces fecales (Johnson *et al.*, 2000).

1.1.4. Estrógenos sintéticos

Este grupo de productos farmacéuticos consiste principalmente en pastillas anticonceptivas, parches anticonceptivos e administración intramuscular (hormonas para inhibir la ovulación), así como estrógenos usados durante la menopausia. Hasta el momento no se encuentran otras aplicaciones de estos estrógenos sintéticos.

Los estrógenos sintéticos son copias casi exactas de los naturales. Las pastillas anticonceptivas contienen estrógenos sintéticos, tales como el EE2, que se combina a veces con una progestina (progesterona). La dosis típica de administración del EE2 es de 20 a 50 $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ durante 21 días. Después de la administración, aproximadamente el 16.5% del EE2 no es metabolizado en el cuerpo, pero existen conjugados de esta hormona que se encuentra en la orina y un 9% en heces fecales (Johnson *et al.*, 2000). La exposición de organismos a estos estrógenos sintéticos es extremadamente peligrosa.

En la Figura 1.1 se muestra la ruta metabólica del EE2 a través del cuerpo. Como las pastillas anticonceptivas son tomadas durante tres semanas puede interpretarse como un promedio de ingesta de 26 $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$. El total del EE2 que puede llegar a una planta de tratamiento de aguas residuales municipales debido a su excreción en el cuerpo y siguiendo la desconjugación durante su transporte en las alcantarillas es de 10.5 $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$.

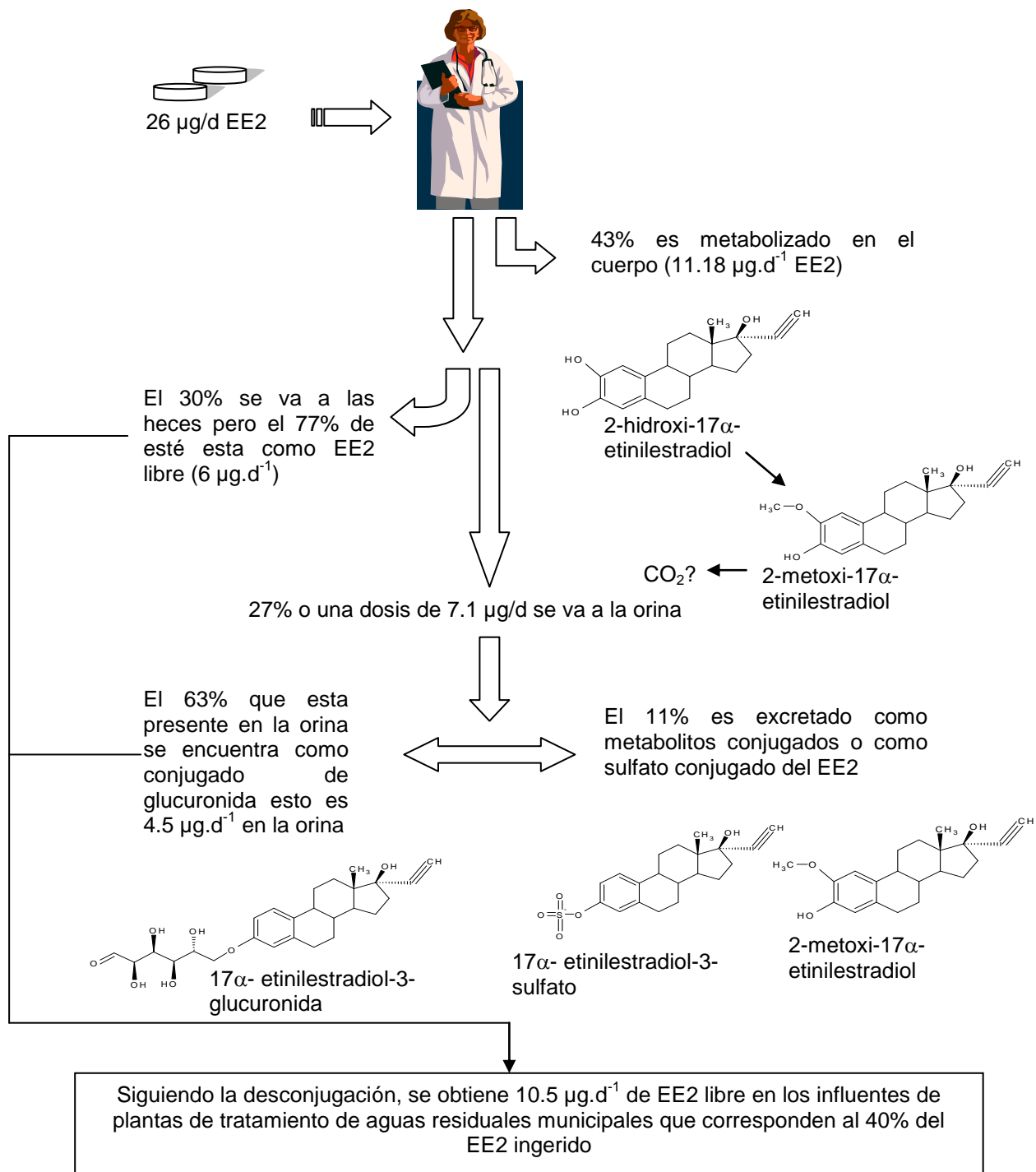


Figura 1.1. Excreción del 17 α - etinilestradiol (EE2) en el cuerpo y su destino en el medioambiente (Fuente: Guengerich, 1990)

1.1.5. Metabolismo y excreción de estrógenos

Antes de su excreción, las hormonas estrogénicas son inactivadas o conjugadas vía sulfatación o glucuronidación. La eliminación ocurre principalmente a través de la orina y en cantidades más pequeñas en las heces fecales.

Para facilitar su excreción con la orina, el cuerpo excreta los estrógenos en una forma biológica inactiva como conjugaciones de sulfato y glucuronida. Tales conjugaciones pueden, dependiendo de diversos factores, generar una reactivación de los estrógenos a su forma activa (Panter *et al.*, 1999) (Figura 1.2). Este cambio o desconjugación de los estrógenos depende de las características ácido-base de la matriz ambiental y de los procesos bacterianos dentro de la matriz. El conocimiento de estos factores permite que uno prediga si existen concentraciones suficientemente altas de los compuestos libres y activos para obtener una respuesta de disrupción endocrina en organismos expuestos.

La conjugación de E2 y EE2 puede ocurrir en la posición C₃, C₁₇ y en ambas posiciones (C₃ y C₁₇). La conjugación del E3 ocurre en todas las posiciones anteriores y puede ocurrir en la posición C₁₈. La sulfatación puede presentarse en todas las posiciones anteriormente mencionadas respecto a la molécula. En la Figura 1.2 se muestra la ruta metabólica de la desconjugación del E2. Las rutas metabólicas de la desconjugaciones del E1, E3 y EE2 pueden ser similares a la desconjugación del E2.

Los estrógenos se excretan principalmente del cuerpo humano como conjugaciones inactivas (Baronti *et al.*, 2000). Sin embargo, algunos microorganismos como la *E. coli* pueden convertir estas conjugaciones inactivas dentro de la actividad biológica a estrógenos sin conjugar (estrógenos activos) (Ternes *et al.*, 1999b). Baronti *et al.* (2000) sugirió que estas desconjugaciones ocurren durante su transporte en el sistema de alcantarillado, mientras que Nasu *et al.* (2001) reportó que esta desconjugación puede ocurrir en el tratamiento primario y secundario de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

Ternes *et al.* (1999b) encontró que los conjugados de glucuronida del E2 fueron removidos del agua en minutos y biotransformados en E2 y E1. Se determinó que el E2-3-glucuronida fue fácilmente transformado a su forma activa en un sistema semicontinuo de lodos activados y en la cloración del agua potable. Así, se puede asumir que todos los conjugados glucuronidos, que son excretados en la orina o las heces fecales, son desconjugados antes de llegar a las plantas de tratamiento de aguas residuales (Panter *et al.*, 1999).

La desconjugación de las formas sulfatadas ocurre en el sistema de alcantarillado y también en el intestino grueso y delgado. Esto indica que bacterias tales como bacterias desulfactantes pueden transformar a los estrógenos inactivos a su forma activa. Cepas desulfactantes estrictamente anaerobias, aisladas de heces humanas, fueron capaces de romper el E1-3-sulfato y E2-3-sulfato (Kira *et al.*, 2002).

Sin embargo, D'Ascenzo *et al.* (2003) sugirió que contrario a las glucuronidas, los conjugados sulfatados son más persistentes en los sistemas de alcantarillado y pueden ser detectados en grandes cantidades en el influente de plantas de tratamiento. Este estudio indicó que el E1-3-sulfato puede ser detectado en el efluente de las plantas de tratamiento sugiriendo que algunas cantidades de conjugados sulfatados pueden persistir a través de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

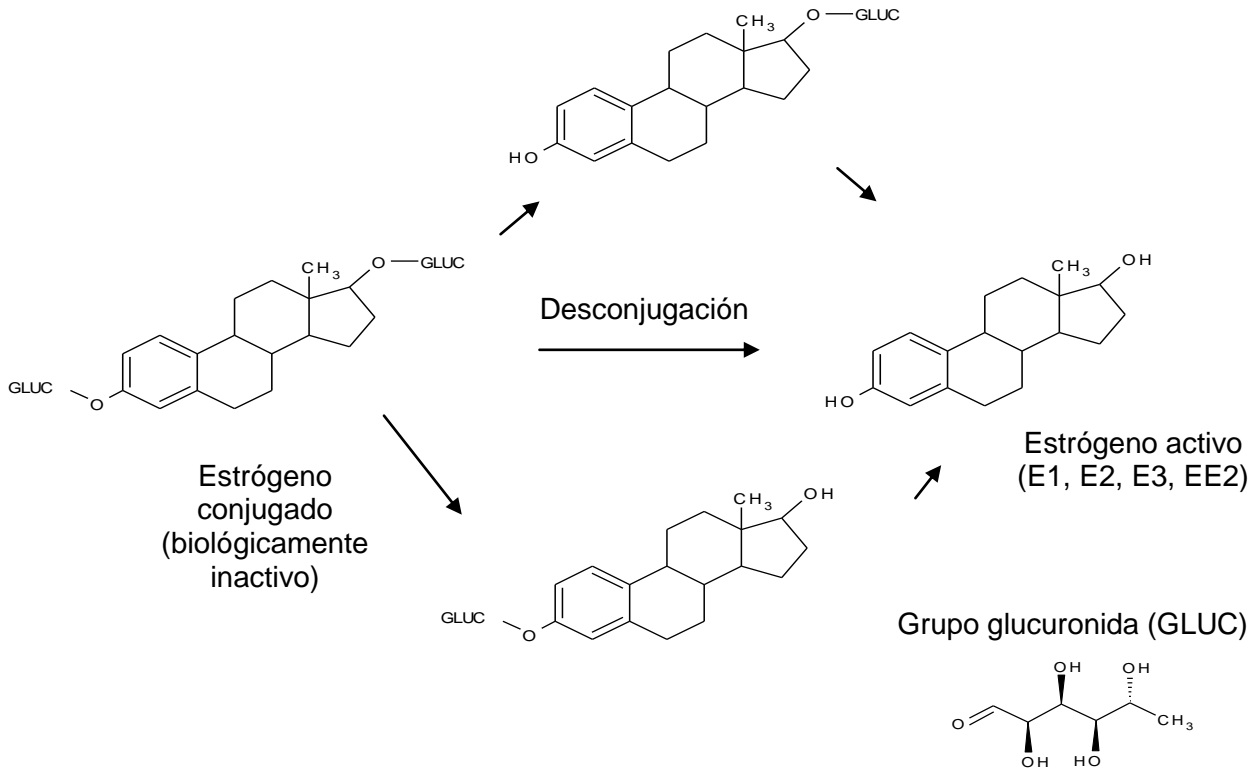


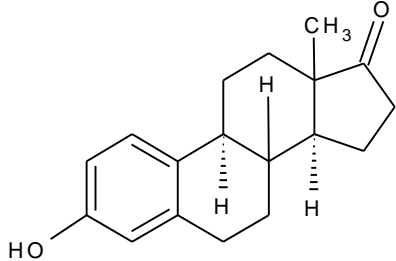
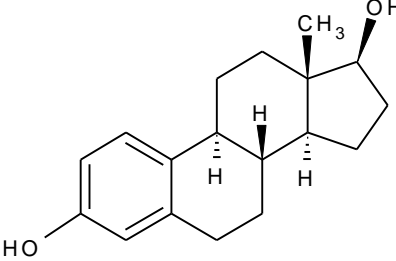
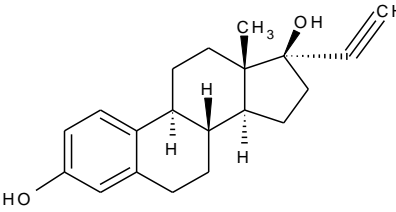
Figura 1.2. Desconjugación del 17β-estradiol

1.1.6. Características fisicoquímicas de los estrógenos naturales y sintéticos

En la Tabla 1.3 se muestran las principales propiedades fisicoquímicas de los estrógenos naturales y sintéticos. La solubilidad en el agua de los estrógenos es baja en el rango de 0.3 hasta aproximadamente 13 mg.L⁻¹. Los estrógenos presentan un alto coeficiente de partición octanol-agua (log K_{wo}), indicando que estos compuestos pueden adsorbirse a una superficie sólida. Todos los estrógenos tienen presiones muy bajas del vapor. Con estas propiedades fisicoquímicas que presentan los estrógenos

podemos concluir que son compuestos no volátiles, hidrofóbicos no polares y pueden adsorberse a los sólidos en varias matrices ambientales.

Tabla 1.3. Características fisicoquímicas de los estrógenos
(Fuente: Routledge *et al.*, 1998)

Compuesto	Estructura	Peso molecular	Solubilidad en el agua a 20°C (mg.L ⁻¹)	Presión de vapor (mm Hg)	Log K _{wo}
Estrona (E1)		270.4 (C ₁₈ H ₂₂ O ₂)	13	1.42E-07	3.13
17 β-estradiol (E2)		272.4 (C ₁₈ H ₂₄ O ₂)	13	1.26E-08	4.01
17α- etinilestradiol (EE2)		296.4 (C ₂₀ H ₂₄ O ₂)	11.3	2.67E-09	3.67

Los estrógenos son lípidos formados por una molécula de ciclopentanoperhidrofenantreno (o esterano), constituida por cuatro carbociclos condensados denominados A, B, C y D, que presentan varias sustituciones: un radical metilo en las posiciones C-13., un grupo alifático en la posición C-17 (EE2), dos grupos hidroxilo en la posición C-3, C-17. En el caso de la estrona presenta un grupo hidroxilo en la posición C-3. La característica distintiva de los estrógenos es la presencia de un triple doble enlace en el anillo A condición que le confiere propiedades aromáticas (anillo fenólico) únicas de este grupo y características únicas para la unión al receptor estrogénico. En las moléculas de los estrógenos se puede distinguir una cabeza polar constituida por el grupo hidroxilo y una cola o porción apolar formada por el carbociclo

de núcleos condensados y los sustituyentes alifáticos (grupo etinil en el caso del EE2 en la posición C-17). Así, los estrógenos son compuestos hidrofóbicos. Aunque los estrógenos son principalmente apolares, su cadena lateral tiene un grupo polar hidroxilo capaz de formar puentes de hidrógeno.

1.1.7. Mecanismos de la disrupción endocrina en la acción de las hormonas

El sistema endocrino ejerce su función de control a través de glándulas, hormonas y células especializadas (receptoras) que actúan como un complejo del sistema de comunicaciones. Las glándulas endocrinas reaccionan a los estímulos externos secretando unas sustancias químicas denominadas hormonas. Las células en donde las hormonas ejercen su efecto; son capaces de reaccionar con las hormonas porque contienen receptores nucleares con los que éstas pueden unirse induciendo la síntesis de ARN y proteínas. Estos receptores existen sobre todo en las células de los órganos diana, como vagina, útero, glándulas mamarias, adenohipófisis y eminencia media hipotalámica. Las hormonas nadan en el torrente sanguíneo hasta encontrar una célula diana apropiada; cuando esto sucede, la hormona encaja en la célula diana <<como una llave en su cerradura>>, y la célula es impulsada a realizar una acción específica. (Gonzales, 1997).

Las hormonas regulan funciones muy diferentes y de muy diverso grado de complejidad, así, pueden:

- Actuar de simples transmisores de información.
- Controlar límites superiores a inferiores de funciones metabólicas.
- Ejercer funciones de control por retroalimentación.
- Controlar sistemas complejos como el ciclo menstrual.
- Regular el desarrollo de glándulas mamarias.
- Regular niveles metabólicos.
- Regular el desarrollo embrionario.

El control del metabolismo del sistema endocrino, la reproducción, el comportamiento, el crecimiento y desarrollo segregan hormonas que viajan vía sanguínea para afectar otras células del cuerpo. Las hormonas que circulan en el cuerpo están en concentraciones muy bajas de 1 picogramo por mililitro de sangre a unos pocos microgramos por mililitro de sangre (Guyton, 1991).

El nivel de hormonas que circulan en la sangre y la cantidad de receptores disponibles celulares en el cuerpo son las responsables de estimulación del sistema endocrino. Por lo tanto, los CDE pueden alterar este control natural y conducir a efectos perjudiciales. (Olea *et al.*, 2000).

Las hormonas inducen un efecto sobre las células cuando estas células poseen un receptor específico con una hormona en particular. Bajo condiciones normales, las hormonas se incorporan al núcleo de la célula y se unen con el receptor. Este complejo hormona-receptor promueve la transcripción y, la síntesis de un nuevo ARN el cual induce la producción de nuevas proteínas, y respuestas fisiológicas correspondiente.

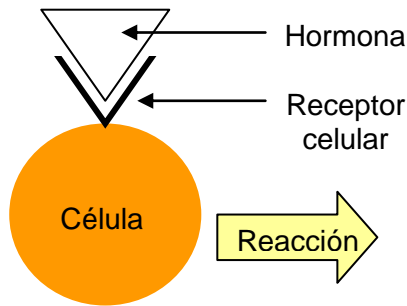
Hay dos mecanismos principales de la disrupción endocrina: agonista y antagonista (Figura 1.3) (Metzler, 2001). Una molécula agonista se puede unir con un receptor y generar la misma respuesta esperada de la hormona específica. Por otra parte, hay moléculas que ocupan el receptor de la hormona y evitan la transcripción del ARN, dando por resultado ninguna respuesta, incluso si la hormona está presente, a estas moléculas se le conocen como antagonistas de la hormona.

La inhibición antagónica en el complejo hormona-receptor puede ser competitiva, es decir el inhibidor compite por el sitio activo de la hormona o puede ser incompetitiva, el inhibidor se une en el complejo del receptor o en el receptor-hormona pero no en el sitio activo. La inhibición competitiva puede desactivar la acción de las hormonas y la inhibición incompetitiva puede dar lugar a reacciones más lentas o reducidas realizadas por el receptor.

Otros mecanismos de acción de los CDE en el complejo hormona-receptor son: mimetizar la acción de las hormonas, es decir imitan la acción de las hormonas; alterar su patrón de síntesis y metabolismo, y modular los niveles de los receptores correspondientes. Existen varios factores que incrementan el establecimiento de los mecanismos de acción de los CDE en el complejo hormona-receptor:

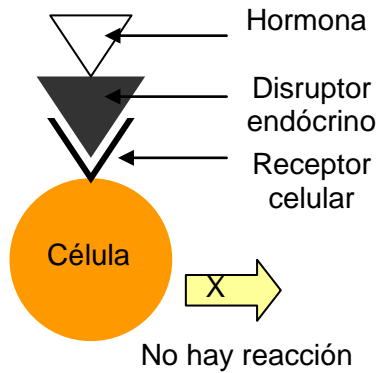
- i- La baja potencia hormonal de los xenoestrógenos. Las hormonas naturales son más potentes que cualquiera de los xenoestrógenos sintéticos (con excepción de fármacos como el dietilstilbestrol y el EE2.
- ii- La variedad en cuanto a su naturaleza, estructura química y concentración dificulta su identificación y fuente de exposición.
- iii- Los efectos combinados pueden ser críticos para ejercer un efecto hormonal. Así dos sustancias débilmente estrogénicas pueden tener un efecto más potente conjuntamente que por sí solas, efecto sinérgico. O también pueden antagonizar entre sí anulando una los efectos estrogénicos de otra.
- iv- La incertidumbre que rodea el efecto de estos compuestos químicos varía (mimetizando, bloqueando o cancelando los efectos estrogénicos) dependiendo de las circunstancias de la exposición e incluso en función de los niveles de estrógenos presentes. La producción de hormonas naturales varía en función del sexo, la edad y los ciclos reproductivos. Así, las mujeres producen más estrógenos que los hombres, las concentraciones de estrógenos son elevados durante el desarrollo fetal y muy bajas tras la menopausia.

REACCIÓN NORMAL



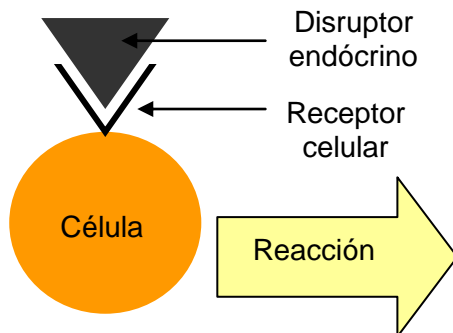
En una reacción normal, la hormona se une al receptor celular que desencadena una reacción específica

REACCIÓN ANTAGÓNICA



El CDE se une con el receptor celular bloqueando la unión de la hormona con el receptor inhibiendo la reacción

REACCIÓN AGONISTA



Al mimetizar a la hormona natural, el CDE puede unirse al receptor e interferir en la reacción generando una reacción más fuerte que la normal

Figura 1.3. Principales mecanismos de acción de los compuestos disruptores endocrinos

1.2. Compuestos disruptores endocrinos en el medio ambiente

Los CDE fueron identificados concretamente por primera vez en el medio ambiente en Inglaterra (Harries *et al.*, 1997; Purdon *et al.*, 1994), pero también han sido identificados en ambientes acuáticos de algunos otros países de Europa, Norte y Sudamérica, y Australia (Kira *et al.*, 2002). Los efectos potenciales de la exposición de los estrógenos Estrona, 17 β -Estradiol, Estriol y 17 α -Etinilestradiol han sido estudiados en varias especies de peces. Los resultados indicaron que la exposición de estos estrógenos con concentraciones en el rango de 4.5 a 8.1 ng.L⁻¹ afectó la capacidad esteroidogénica de los ovarios de los peces (Palace *et al.*, 2006).

1.2.1. Presencia de estrógenos naturales y sintéticos en el ambiente

Los estrógenos excretados por los seres humanos pueden ocurrir en diferentes tipos de matrices ambientales (Tabla 1.4). Las excreciones humanas son descargadas a través de la orina y heces fecales al sistema de alcantarillado y de ahí a las plantas de tratamiento de aguas residuales donde los estrógenos se pueden degradar biológicamente o pueden adsorberse en el lodo. Sin embargo, los estrógenos removidos por adsorción pueden desorberse y/o entrar nuevamente a la fase líquida cuando el lodo es deshidratado, de esta manera contaminando nuevamente las aguas superficiales, subterráneas y suelos.

Tabla 1.4. Concentraciones de los estrógenos en diferentes matrices ambientales

Matriz ambiental	E1 (ng.L⁻¹)	E2 (ng.L⁻¹)	E3 (ng.L⁻¹)	EE2 (ng.L⁻¹)	Referencia
Aguas superficiales	<17	<8.8	<3.1	<5.1	Bachmann <i>et al.</i> (2002) Ying <i>et al.</i> (2002)
Sedimentos	<2	<1.5	N.D.	<0.9	Ternes <i>et al.</i> (2002)
Influyente agua residual	44-102	11-180	< 250	< 120	Busch <i>et al.</i> (2002) Baronti <i>et al.</i> (2000) Solé <i>et al.</i> (2000)
Efluente agua residual	<82	<21	<28	<62	Bachmann <i>et al.</i> (2002)
Lodo residual	<37	<49	N.D.	<17	Ternes <i>et al.</i> (2002)

Los CDE entran en las aguas superficiales y suelos por diferentes caminos o vías tales como los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales y excretas de animales. Las hormonas producidas por las excreciones humanas se incorporan rápidamente a los influentes de las plantas de tratamiento donde son removidas y/o

biodegradadas parcialmente, quedando concentraciones trazas en sus efluentes contaminando así a las aguas superficiales y suelos. Las rutas de estrógenos en el ambiente son diferentes, dependiendo de la fuente respectiva.

En las Figuras 1.4 y 1.5 se muestra diferentes comportamientos que determinan cómo los estrógenos excretados por los seres humanos y animales pueden entrar en el ambiente.

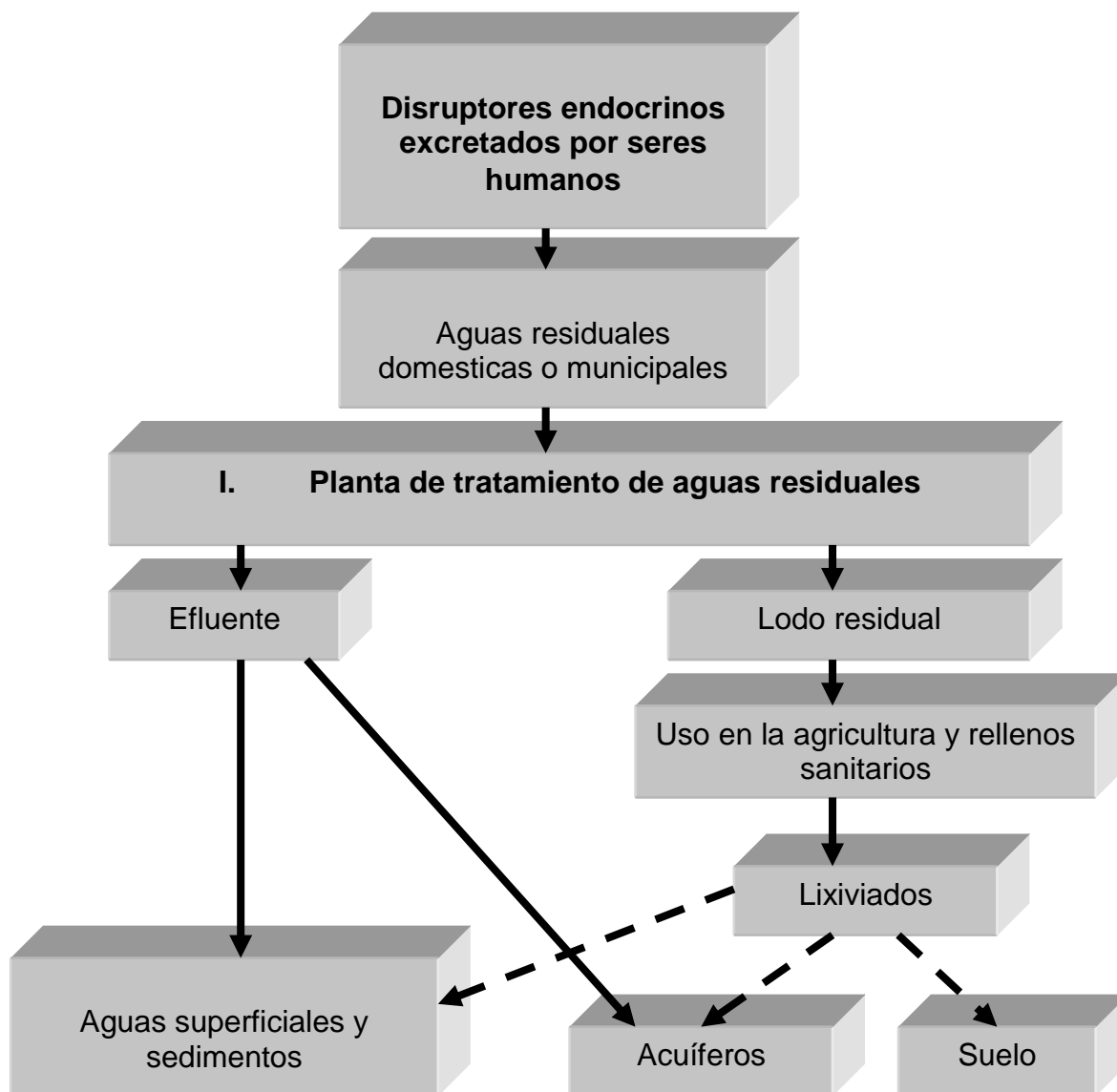


Figura 1.4. Rutas de transporte de los estrógenos excretados por seres humanos (Fuente: modificado de Velagaletti, 1995)

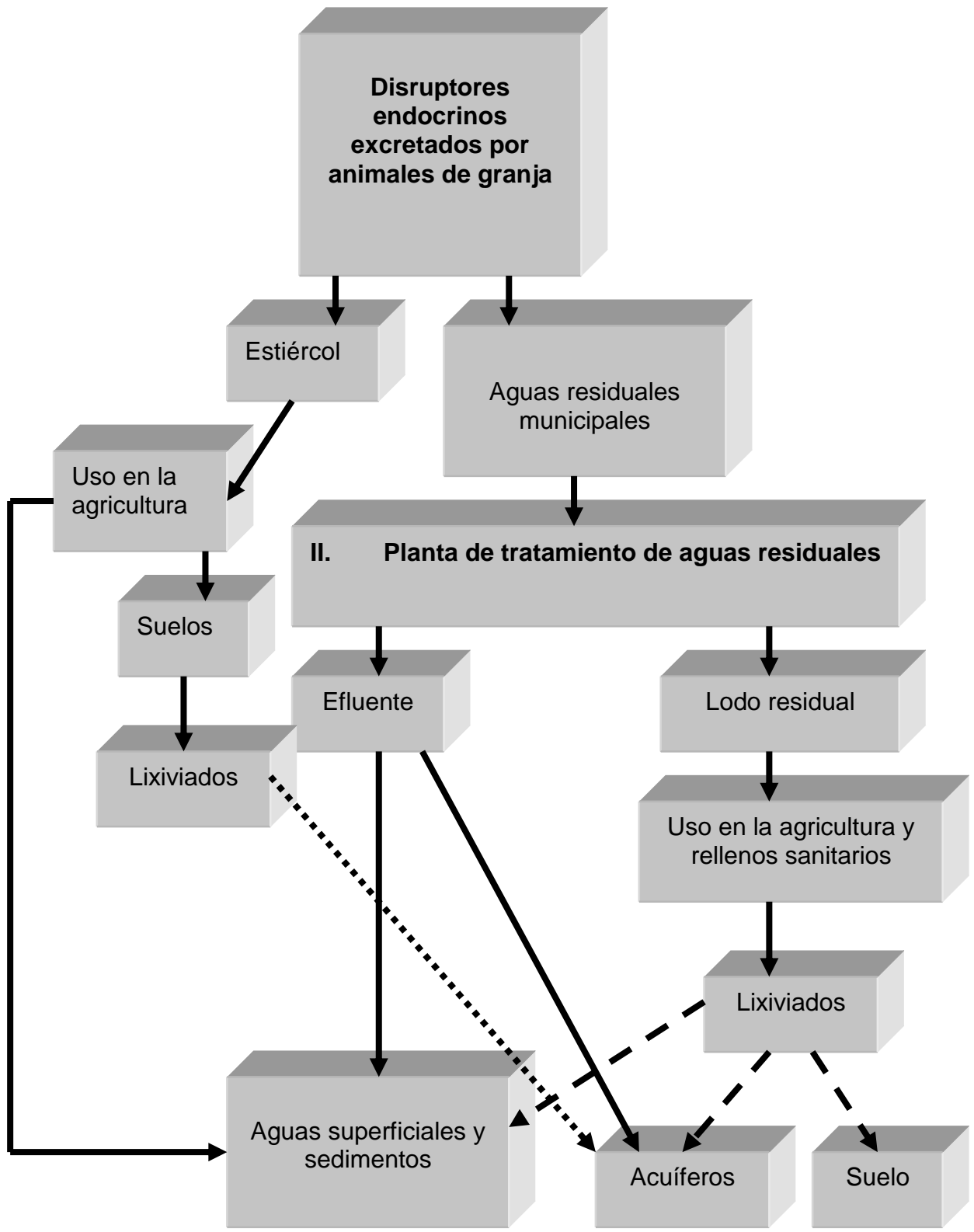


Figura 1.5. Rutas de transporte de los estrógenos excretados por animales de granjas (Fuente: modificado de Velagaletti, 1995)

Las rutas de transporte de los estrógenos sintéticos son similares a las de los naturales. Según Velagaleti (1995) una rama adicional de exposición es el derramamiento durante la producción y el transporte de estos compuestos. En Alemania, el 17α -etinilestradiol ha sido detectado en el agua superficial en concentraciones entre 1 y 4 ng.L^{-1} y de mestranol de 2 y 3 ng.L^{-1} (Stumpf *et al.*, 1996).

En estudios realizados en 53 efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales, se ha encontrado el EE2 en 8 efluentes de estas plantas en concentraciones de 10.3 a 35 ng.L^{-1} . Por otro lado, el mestranol fue encontrado en 2 efluentes con concentraciones entre 10 y 43 ng.L^{-1} . Investigaciones realizadas en el Reino Unido reportaron que los efluentes de las sus plantas de tratamiento de aguas residuales contenían EE2 con concentraciones por arriba de 7 ng.L^{-1} , mientras que en las aguas superficiales se encontraron concentraciones entre 2 y 15 ng.L^{-1} de este compuesto (Lintelmann *et al.*, 2003).

1.2.2. Efecto de las concentraciones de los disruptores endocrinos en el ambiente

Las descargas de los CDE en las aguas residuales comenzaron a finales de los 80's y cerca de los años 90's con reportes de que en el Reino Unido peces machos, encontrados en lagos donde se descargaban los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales, presentaban feminización (Harries *et al.*, 1997; Purdom *et al.*, 1994). La exposición a los CDE en las etapas predominantes del embarazo puede conducir a malformaciones en los órganos sexuales de los niños con coeficientes intelectuales bajos (Mendes, 2002; Guo *et al.*, 1995). Una teoría sobre la exposición a CDE indica que en mujeres los CDE puede generar cáncer de pecho y endometriosis (Mendes, 2002) y en varones, la exposición a tales compuestos puede ser asociada al cáncer de próstata, disminución del esperma, y cáncer testicular (Mendes, 2002; Toppari *et al.*, 1996; Giwercman *et al.*, 1993).

En contraste, los estudios en la fauna son mucho más persuasivos. Se han reportado dos casos bien documentados del impacto en diferentes especies de peces que viven en las aguas superficiales expuestos a las aguas residuales de los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (Solé *et al.*, 2001; Rodgers-Gray *et al.*, 2000), la producción de *vitellogenin* (Thorpe *et al.*, 2003) y la feminización en peces machos (Bachmann *et al.*, 2002). *Vitellogenin* es una proteína que se produce en altas concentraciones en el hígado de los peces hembras para el desarrollo de huevecillos (Sumpter, 1995). Por lo tanto, las altas concentraciones de *vitellogenin* en los peces masculinos indican exposición y respuesta a un CDE. En la Tabla 1.5 se muestra el impacto de algunos CDE en la inducción de la proteína *vitellogenin* en peces.

Se ha demostrado que con concentraciones mayores a 0.1 ng.L^{-1} del 17α -etinilestradiol, la reproducción de los peces fue reducida hasta un 50% (Segner *et al.*, 2001). Asimismo, Aerni *et al.* (2004) reportaron que concentraciones tan bajas como

0.1 ng.L⁻¹ de los estrógenos son necesarias para que se presenten efectos estrogénicos significativos.

Tabla 1.5. Concentración letal media de CDE en la inducción de la proteína *vitellogenin* en la producción de huevecillos en peces

Compuesto disruptor endocrino	EC ₅₀	Referencia
17 α -etinilestradiol	1 ng.L ⁻¹	Palace <i>et al.</i> (2006)
Estrona	60 ng.L ⁻¹	Thorpe <i>et al.</i> (2003)
17 β -Estradiol	25 ng.L ⁻¹	Thorpe <i>et al.</i> (2003)
17 α -etinilestradiol	1.2 ng.L ⁻¹	Thorpe <i>et al.</i> (2003)
4-ter-nonilfenol	8 μ g.L ⁻¹	Harris <i>et al.</i> (2001)
Bisfenol A	50 μ g.L ⁻¹	Sohoni <i>et al.</i> (2001)
Metoxicloro	8 μ g.L ⁻¹	Thorpe <i>et al.</i> (2001)
4-octilfenol	10 μ g.L ⁻¹	Jobling <i>et al.</i> (1996)

Los efectos nocivos de los estrógenos sobre organismos ambientales han sido investigados en varias especies de peces (Bachmann *et al.*, 2002; Brown *et al.*, 2001; Sumpter y Jobling, 1995). En la Tabla 1.6 se presenta concentraciones de los CDE que generan feminización en diferentes especies de peces.

Tabla 1.6. Efecto de los disruptores endocrinos en diferentes especies de peces

Compuesto	Especie de pez	Nivel de efecto observado (ng.L ⁻¹)	Referencia
17 α -etinilestradiol	<i>Margariscus margarita</i>	4.5-8.1	Palace <i>et al.</i> (2006)
Estrona	<i>Oryzias laipes</i>	8.0	Metcalfe <i>et al.</i> (2001)
17 α -etinilestradiol	<i>Oryzias laipes</i>	0.03	Metcalfe <i>et al.</i> (2001)
17 β -estradiol	<i>Pimephales promales</i>	0.5	Miles-Richardson <i>et al.</i> (1999)

Tanaka *et al.* (2001) realizaron estudios para medir la estrogenicidad en términos de potencial estrogénico relativo en aguas residuales tratadas y no tratadas en plantas de tratamiento de aguas residuales en Japon mediante ensayos de extractos de ADN recombinante. Usando este método, detectaron que 43 compuestos incluyendo E1, E2 y

EE2 pueden presentar efectos disruptivos en seres vivos, siendo los estrógenos E1, E2 y EE2 los que presentaron una mayor estrogenicidad en el agua residual con un valor de potencial estrogénico relativo mayor a 0.05. Compuestos como el bisfenol-A y 2,4 diclorofenol y por mencionar otros, presentaron valores de potencial estrogénico menores a 0.00006.

Asimismo, en la Tabla 1.7 se presentan las actividades estrogénicas de los CDE utilizando ensayos *in vitro* mediante el método YES y E-screen. Ambos métodos también son utilizados para medir el potencial estrogénico de diferentes compuestos. Se observa que los compuestos que presentan altos niveles estrogénicos son los estrógenos comparados con el nonilfenol y bisfenol A. Valores altos de este potencial indica un aumento en la estrogenicidad de los compuestos.

Tabla 1.7. Actividades estrogénicas de los CDE

Compuesto	Potencial estrogénico (YES)	Potencial estrogénico (E-screen)	Referencia
E1	0.38-1	0.01-0.1	Lee <i>et al.</i> (2008) Tan (2006) Rutishauser <i>et al.</i> (2004) Nishihara <i>et al.</i> (2000)
E2	1	1	Lee <i>et al.</i> (2008) Tan (2006) Rutishauser <i>et al.</i> (2004) Nishihara <i>et al.</i> (2000)
E3	0.001-0.24	0.3	Tan (2006) Rutishauser <i>et al.</i> (2004) Nishihara <i>et al.</i> (2000)
EE2	1.19-1.5	0.79-1.25	Lee <i>et al.</i> (2008) Tan (2006) Rutishauser <i>et al.</i> (2004) Nishihara <i>et al.</i> (2000)
Nonilfenol	<2e-7	3.44e-7-8e-5	Lee <i>et al.</i> (2008) Tan (2006) Nishihara <i>et al.</i> (2000)
Bisfenol-A	6.7e-4	6.2e-6-3e-5	Lee <i>et al.</i> (2008) Tan (2006) Nishihara <i>et al.</i> (2000)

De acuerdo a los datos reportados en estos estudios, se puede señalar que, los efluentes de los sistemas de tratamiento de aguas residuales para poder descargar a

cuerpos receptores sin causar riegos o efectos estrogénicos es necesario alcanzar concentraciones de los CDE menores a 0.1 ng.L^{-1} .

1.3. Presencia de compuestos disruptores endocrino (estrógenos) en las aguas residuales municipales y su destino en las plantas de tratamiento de aguas residuales

Las fuentes potenciales de los CDE en el ambiente acuático son las descargas de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Las descargas de las plantas de tratamiento que contengan CDE pueden tener un efecto irreversible en la fauna, tal como la producción del *vitellogenin* en los peces machos (Thorpe *et al.*, 2003).

Muchos de los CDE son de origen antropogénico y las descargas de las aguas residuales son la causa principal de su presencia en ríos, arroyos y todo tipo de aguas superficiales. Los estrógenos naturales así como los sintéticos son CDE que son encontrados en diferentes fuentes de agua (aguas superficiales, influentes y efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales). Hasta la fecha, existen muy pocos trabajos del comportamiento, transporte y rutas de degradación de los estrógenos en el las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales.

De acuerdo con los datos medidos por Baronti *et al.* (2000) las concentraciones de E1, E2, E3 y EE2 en algunos influentes de diversas plantas de tratamiento de aguas residuales pueden estar en el rango de $0.4\text{-}132 \text{ ng.L}^{-1}$, aunque existen una gama de valores reportados en otros estudios (Tabla 1.8). Se puede observar que en diferentes trabajos se han reportado concentraciones hasta 140 ng.L^{-1} y menores a 1 ng.L^{-1} .

Se han realizados varios estudios de las concentraciones de E1, E2, E3, y EE2 en los influentes y efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales de varios países con el sistema de lodos activados, abarcando un rango amplio de caudales de agua residual a tratar, densidad de población, clima y condiciones operacionales del proceso (Tabla 1.9). Johnson *et al.* (2000) desarrolló una relación empírica para determinar las concentraciones del E1, de E2 y de EE2 en los influentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales basado en las poblaciones y el caudal de agua a tratar.

En Australia concentraciones hasta 19 ng.L^{-1} de E2 y de hasta 54 ng.L^{-1} de E1 han sido detectados en los efluentes de los sedimentadores secundarios y en procesos terciarios en varias plantas de tratamiento del agua (Tabla 1.10), mientras que el EE2 fue detectado en concentraciones menores a 5 ng.L^{-1} (Leusch *et al.*, 2005a; Andersen *et al.*, 2003).

Tabla 1.8. Concentraciones de estrógenos en aguas residuales obtenidas en algunas investigaciones

E1 (ng.L ⁻¹)	E2 (ng.L ⁻¹)	EE2 (ng.L ⁻¹)	Referencia
36-81	6.3-29	<1	Braga <i>et al.</i> (2005)
54.9-76.6	12.2-19.5	6.2-10.1	Andersen <i>et al.</i> (2003)
39	19	<5	Chapman (2003)
<1-25	11	-	D'Ascenzo <i>et al.</i> (2003)
7.6-8.6	4.9-7.2	2.0-5.2	Mouatassim-Souali <i>et al.</i> (2003)
-	20-94	-	Nasu <i>et al.</i> (2001)
4-25	25-132	0.40-13	Baronti <i>et al.</i> (2000)
9-48	18-140	<0.2-8.8	Johnson <i>et al.</i> (2000)
4-47	13-70	2-28	Lagana <i>et al.</i> (2000)
27-40	15-21	-	Ternes <i>et al.</i> (1999a)

Tabla 1.9. Concentraciones de estrógenos en los influentes y efluentes de plantas de tratamiento de aguas residual en el mundo (proceso lodos activados)

País	E1		E2		E3		EE2		Referencia
	Influente (ng.L ⁻¹)	Efluente (ng.L ⁻¹)	Influente (ng.L ⁻¹)	Efluente (ng.L ⁻¹)	Influente (ng.L ⁻¹)	Efluente (ng.L ⁻¹)	Influente (ng.L ⁻¹)	Efluente (ng.L ⁻¹)	
Estados Unidos	N.D.	N.D.	N.D.	3.8	N.D.	N.D.	N.D.	1.9	Huang y Sedlak (2001)
Estados Unidos	N.D.	N.D.	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	N.D.	0.33	Huang y Sedlak (2001)
Estados Unidos (MF)	N.D.	N.D.	N.D.	1.4	N.D.	N.D.	N.D.	0.14	Huang y Sedlak (2001)
Estados Unidos (OI)	N.D.	N.D.	N.D.	0.24	N.D.	N.D.	N.D.	<0.1	Huang y Sedlak (2001)
Alemania	N.D.	5.1	N.D.	2.9	N.D.	N.D.	N.D.	1.8	Spengler <i>et al.</i> (2001)
Italia	37	14	12	1	79	2.6	2.9	0.48	Baronti <i>et al.</i> (2000)
Italia	71	10.1	16	1.5	84	3.7	3.9	0.65	Baronti <i>et al.</i> (2000)
Italia	67	4.1	9.2	1	71	1.1	3.4	0.68	Baronti <i>et al.</i> (2000)
Italia	51	45	15	2.4	130	1.1	2.5	0.8	Baronti <i>et al.</i> (2000)
Italia	35	30	8.6	1.9	54	8.7	2.9	0.7	Baronti <i>et al.</i> (2000)
Italia	50	7.7	9.3	0.7	66	0.8	2.3	0.4	Baronti <i>et al.</i> (2000)

Los estrógenos constituyen la gran parte de la actividad estrogénica del agua residual tratada (Chapman, 2003; Körner *et al.*, 1999; Desbrow *et al.*, 1998). El E2 y el producto primario de su ruptura, el E1, se presenta con frecuencia en concentraciones bajas, alrededor de 10 ng.L⁻¹; mientras el EE2 se detecta con frecuencia en concentraciones hasta 0.1 ng.L⁻¹ (Ternes *et al.* 1999b; Larsson *et al.*, 1999; Stumpf *et al.*, 1996). El compuesto EE2 es el estrógeno sintético encontrado con mayor frecuencia en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales. Sin embargo, este estrógeno presenta concentraciones bajas comparadas con el E1, E2 y E3.

Tabla 1.10. Concentraciones de estrógenos en plantas de tratamiento de aguas residuales municipales de Australia

Tratamiento	E1 (ng.L ⁻¹)	E2 (ng.L ⁻¹)	EE2 (ng.L ⁻¹)
Influente	78	18	<5
Influente	<5	20	<5
Secundario	<5	19	<5
Secundario	46	<5	<5
Secundario	46	11	<5
Secundario	13	11	<5
Secundario	54	<5	<5
Terciario	<5	<5	<5

Aunque existe un incremento en la cantidad de datos que se tienen acerca de la concentración de estrógenos en ríos y efluentes de las plantas de tratamiento, hay pocos estudios sobre concentraciones de estrógenos en las aguas residuales crudas (antes del tratamiento) debido a las dificultades encontradas cuando se procesa la muestra (una alta carga de materia orgánica, grasas y sólidos suspendidos). Además, son pocos los estudios en donde se presentan las concentraciones de CDE adsorbidas en los lodos (biomasa, lodo residual). Por lo tanto, la detección de estos compuestos en la fase sólida debe considerarse ya que estos compuestos tienden a desorberse pasando de la fase sólida a la fase líquida.

Estudios realizados por Ternes *et al.* (1999a) para detectar estrógenos en los influentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales en Brasil y Alemania, encontraron que las aguas residuales de Brasil contenían E2 y E1 en concentraciones de 21 y 40 ng.L⁻¹ respectivamente. Las concentraciones de estos compuestos determinadas en Alemania fueron entre 15 y 27 ng.L⁻¹ en Alemania. La remoción de E1 y E2 fue más alta en Brasil (83 y 99%) que en Alemania (64 y 68%). Estos investigadores reportaron que esta diferencia de remociones entre los dos países puede ser debida a factores climáticos, tales como la temperatura.

En otros estudios realizados en plantas de tratamiento de aguas residuales y aguas superficiales en los Países Bajos, se observó que en la mayoría de los efluentes de las plantas de tratamiento, el E2 y E1 fueron detectados frecuentemente. Las concentraciones más altas detectadas fueron 47 ng.L⁻¹ para E1, mientras que para E2, las concentraciones que se encontraron fueron entre 1 y 12 ng.L⁻¹ (Desbrow *et al.*, 1998). Las concentraciones de los estrógenos en las aguas superficiales fueron generalmente más bajas. En diferentes muestreos de varias descargas de efluentes de plantas de tratamiento realizados en Alemania, el E2 fue detectado en 20 plantas con concentraciones de hasta 62 ng.L⁻¹ (Stumpf *et al.*, 1996).

Recientes estudios realizados en aguas residuales de México han detectado concentraciones de estrógenos en el rango de 0.01 a 25 ng.L⁻¹ (Gibson *et al.*, 2007).

Estos ejemplos demuestran que algunas fuentes, principalmente los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales contienen a menudo a estos CDE con concentraciones que pueden causar efectos disruptivos en el sistema endocrino de los organismos.

Por otro lado, el transporte y el destino de los estrógenos durante los procesos de tratamiento del agua no han sido estudiados completamente. Se ha determinado que la remoción de los estrógenos naturales y sintéticos se lleva a cabo principalmente por adsorción en el lodo activado u otros factores independientemente de la biodegradación, ya que se ha reportado que los estrógenos presentan una baja biodegradabilidad durante su tratamiento (Routledge *et al.*, 1999; Pentreath, 1997). Sin embargo, Clara *et al.* (2005), Poseidon (2005) y Joss *et al.* (2004) han demostrado lo contrario, lo que indica que se necesitan realizar más estudios para determinar si los estrógenos son removidos por biodegradación con la aplicación de nuevas tecnologías para el tratamiento de las aguas residuales.

Se ha reportado que los sistemas de tratamiento de aguas residuales municipales son capaces de remover parcialmente algunos micro-contaminantes incluyendo farmacéuticos, productos para el cuidado personal y compuestos disruptores endocrinos. La ozonación, radiación UV, procesos con membranas y adsorción con carbón activado son procesos potenciales que pueden aumentar las remociones de los CDE en los sistemas de tratamientos de aguas residuales municipales (Huber *et al.*, 2003; Ternes *et al.*, 2002). Sin embargo, la implementación de estas técnicas pueden incrementar el costo de tratamiento del agua. Alternativamente, entender el destino de estos compuestos dentro de los sistemas de tratamiento puede mejorar los métodos de remoción basados en un mejor manejo, control o menores modificaciones de los procesos existentes en las plantas de tratamiento.

Las eficiencias de las plantas de tratamiento de aguas residuales en cuando a los estudios de los CDE están basados comúnmente en la diferencia entre las concentraciones de los compuestos en la fase líquida en el influente y efluente del proceso u operación unitaria. Sin embargo, para entender el destino de los DCE a lo largo de un planta de tratamiento de aguas residuales, es esencial obtener información en la distribución de estos compuestos entre la fase líquida y sólida con el objetivo de obtener la contribución de cada mecanismo de remoción (sorción, biodegradación y volatilización) en la remoción total del compuesto. Por lo tanto balances de masas a través de los diferentes procesos de tratamiento de agua incluyendo la concentración de los compuestos adsorbidos en la fase sólidas son necesarios y no solo la concentración disuelta.

En algunos casos cuando la sorción no representa un papel significativo en la remoción de los compuestos, los cálculos basados en la concentración disuelta son adecuados. En el caso de los estrógenos, en el cual la sorción de los compuestos en matrices sólidas (de acuerdo a sus propiedades fisicoquímicas) es un factor importante en la remoción de estos compuestos en los procesos biológicos para el tratamiento del agua,

por lo tanto, deberá considerarse para la remoción global, la remoción debida al proceso de sorción.

La investigación sobre el mecanismo de remoción de los estrógenos en el proceso de lodos activados ha sugerido que ocurre por la sorción de los estrógenos sobre las biopartículas y la degradación por microorganismos (Birkett y Lester, 2003; Fujii *et al.*, 2002; Sedlak *et al.*, 2000). Varios reportes indican que la sorción de los estrógenos sobre las biopartículas suspendidas en el licor mezclado es el principal mecanismo de remoción. La degradación biológica contribuye, pero en un menor grado (Shafer y Waite, 2002; Sedlak *et al.*, 2000).

La biodegradación de los estrógenos E1, E2 y EE2 en un reactor biológico puede ser influenciada por el tiempo de retención celular (TRC). Con bajos tiempos de retención celular, la biodegradación de los estrógenos es baja debido a que existe un tiempo corto de contacto entre los compuestos y los microorganismos (Jacobsen *et al.*, 1993). Zhou *et al.* (2009), Clara *et al.* (2005) y Birkett y Lester (2003) determinaron que con altos tiempos de retención celular se puede permitir una mayor biodegradación de los compuestos y lo atribuyeron a una formación de microorganismos degradantes específicos, por ejemplo, los microorganismos nitrificantes.

Andersen *et al.* (2003) realizaron estudios del transporte del E1, E2 y E3 en una planta de tratamiento de aguas residuales municipales con el proceso de lodos activados. En este estudio, las concentraciones de estrógenos fueron reportadas tanto en los influentes, como en los efluentes de cada proceso. Los resultados de esta investigación indicaron un buen funcionamiento de la planta con respecto a las remociones de los compuestos. Estos autores recomiendan un proceso de desnitrificación para tener altas remociones de los compuestos. También sugieren que los procesos de adsorción-desorción de los estrógenos son lentos y que deben ser estudiadas con detalle, además de que no existe un equilibrio entre los niveles de los estrógenos en la fase líquida y sólida.

De acuerdo al proyecto Posiedon (Poseidon, 2005) se sugiere que los mecanismos relevantes en la remoción de los CDE incluyendo a los estrógenos mediante procesos biológicos son la biodegradación y adsorción en el lodo. De acuerdo a este reporte final, se concluyó que la degradación biológica y la adsorción de estos compuestos son los principales mecanismos de remoción durante el tratamiento de aguas residuales municipales. La ozonación es una opción interesante en la remoción de los estrógenos como un tratamiento de pulimento. Además mostraron que los bio-reactores con membranas mejoran la remoción de los estrógenos comparados con el proceso de lodos activados. Asimismo, se concluyó que el incremento del TRC (20-50 d) aumentan las remociones del E1, E2 y EE2 en los procesos biológicos.

Como conclusión, los estudios sobre el transporte y destino de estos compuestos en las plantas de tratamiento de aguas residuales son limitados por el hecho de que las concentraciones de los estrógenos en sus influentes son variadas y la sorción de estos

compuestos en la superficie del lodo confunden las interpretaciones porque existen diferencias de concentraciones entre la fase líquida y sólida.

También se ha reportado que los conjugados del E2 excretado por los seres humanos y animales son transformados nuevamente a E2 antes o durante los procesos de tratamiento de agua residual, sugiriendo que los microorganismos presentes en los procesos biológicos pueden convertir estos conjugados a su forma activa (Panter *et al.*, 1999). Este hecho considera que las capacidades de degradación y las eficiencias de remoción de las plantas de tratamiento necesitan ser mejoradas y optimizadas.

Conforme al reporte emitido por la Comunidad Europea en el 2007 (COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 2007), enlistan 553 compuestos como posibles candidatos de generar disrupción endocrina en los seres vivos los cuales están presentes en las aguas residuales municipales. Dentro de esta lista, 21 compuestos pueden generar un potencial estrogénico mayor, en los cuales se encuentran los estrógenos E1, E2 y EE2.

1.3.1. Remoción de CDE mediante diferentes procesos de tratamiento de agua

El objetivo de los sistemas de tratamiento de aguas residuales es remover materia orgánica fácilmente biodegradable, nitrógeno y fósforo, sin embargo, algunas investigaciones han descubierto que los CDE también pueden ser removidos en los sistemas de tratamiento de aguas residuales. Entre los sistemas de tratamiento de aguas residuales, el proceso de lodos activados es el más aplicado en todo el mundo en comparación con otros procesos físicos, fisicoquímicos y/o procesos biológicos no convencionales.

Los estudios sobre la remoción de estrógenos en el proceso de lodos activados han mostrado que los estrógenos son biodegradados y/o adsorbidos en el lodo (Braga *et al.*, 2005; Andersen *et al.*, 2003; Svenson *et al.*, 2003; Johnson y Sumpter, 2001). El proceso convencional de lodos activados presenta una biodegradación de estrógenos naturales y sintéticos entre 10 y 90%, mientras que el resto es removido por la adsorción de los compuestos en el lodo (90-10%) (Shafer y Waite, 2002; Sedlak *et al.*, 2000). Aunque algunos procesos convencionales y no convencionales, tanto biológicos como fisicoquímicos presentan una remoción significativa de estrógenos (Tabla 1.11), sus efluentes todavía presentan concentraciones relativamente altas.

Tabla 1.11. Remoción de estrógenos mediante diferentes procesos biológicos

Compuesto	Influyente (ng.L ⁻¹)	Efluente (ng.L ⁻¹)	Remoción (%)	Referencia
E1	230-510	N.D.	100	Ito (2008)
	4-33	0-147	-	Fernandez <i>et al.</i> (2007)
	57.8-83.3	6.3-49.1	41-89	Robert <i>et al.</i> (2007)
	N.D.-18.3	N.D.-6.7	64-100	Tan (2006)
	29-670	N.D.-72	0-100%	Clara <i>et al.</i> (2005)
	19-78	1-96	55-98	Servos <i>et al.</i> (2005)
	20-130	< 0.3-11	-	Vethaak <i>et al.</i> (2005)
	44	17	61	D'Ascenzo <i>et al.</i> (2003)
E2	25-132	2.5-82	22-95	Baronti <i>et al.</i> (2000)
	0-11	0-158	-	Fernandez <i>et al.</i> (2007)
	N.D.-161.6	N.D.-5.4	52-99	Robert <i>et al.</i> (2007)
	22	0.95	96	Braga <i>et al.</i> (2005)
	35-125	N.D.-30	44-100	Clara <i>et al.</i> (2005)
	2.4-26	0.2-14.7	18.5-98.8	Servos <i>et al.</i> (2005)
	17-150	< 0.8	-	Vethaak <i>et al.</i> (2005)
	11	1.6	85	D'Ascenzo <i>et al.</i> (2003)
EE2	4-25	0.35-3.5	59-98	Baronti <i>et al.</i> (2000)
	0-2	0-178	-	Fernandez <i>et al.</i> (2007)
	N.D.-1.2	N.D.-0.6	55	Robert <i>et al.</i> (2007)
	3-70	N.D.-5	33.3-100	Clara <i>et al.</i> (2005)
	< 0.7-14.4	< 0.7-4.1	71-93	Drewes <i>et al.</i> (2005)
	< 0.3-5.9	< 0.3-2.6	-	Vethaak <i>et al.</i> (2005)
	4.9-7.1	2.7-4.5	33-45	Cargouet <i>et al.</i> (2004)
0.4-13	N.D.-1.7	52-100	Baronti <i>et al.</i> (2000)	

De la Tabla 1.11 se muestra que los CDE no son removidos completamente en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, presentando fluctuaciones en las concentraciones de los efluentes y las descargas de tales efluentes puede ser la razón principal de la distribución y transporte de los CDE en las aguas superficiales, aguas subterráneas y aún en agua potable. Una cantidad considerable de estos compuestos permanecen solubles en los efluentes de los sistemas de tratamiento, los cuales son una amenaza potencial para los cuerpos receptores (Mastrup *et al.*, 2001). La parcial remoción de los CDE en las plantas de tratamiento de aguas residuales no solo es el resultado de las fluctuaciones en las concentraciones de los CDE en los influentes, si no que también a las condiciones de operación del sistema.

Las remociones reportadas por Ternes *et al.* (1999a) para el E2 y E3 fueron del 64 y 14% respectivamente en estudios realizados en plantas de tratamiento de aguas residuales en Alemania, sugiriendo que las variaciones de la calidad del efluente son

debidas a las condiciones de operación de los sistemas de tratamiento biológico. Layton *et al.* (2000) y Ternes *et al.* (1999b) demostraron que el E2 fue oxidado rápidamente a E1 con un tiempo de reacción de 1 a 3 h y que el EE2 fue recalcitrante a la biodegradación en condiciones anaerobias y aerobias.

Baronti *et al.* (2000) en sus investigaciones reportaron remociones del E1, E2, E3 y EE2 del 96%, 88%, 65% y 79% respectivamente en un sistema de lodos activados. Similarmente, Johnson *et al.* (2000) reportaron remociones del E1, E2, y EE2 del 72%, 87% y 85% respectivamente en un sistema de lodos activados convencional.

Williams *et al.* (2003), Fujii *et al.* (2002) y Baronti *et al.* (2000) han reportado que los sistemas de lodos activados convencionales pueden remover entre un 50 y 95% de estrógenos presentes en las aguas residuales municipales. En otros estudios, se ha observado que las descargas de aguas residuales de las plantas tratamiento de aguas residuales convencionales presentaban concentraciones de estrógenos en sus efluentes de 0.2 hasta 4.1 ng.L⁻¹. El uso de un proceso avanzado como es la osmosis inversa, permitió obtener concentraciones menores a 0.4 ng.L⁻¹ de estos compuestos (Huang y Sedlak, 2001).

Layton *et al.* (2000) estudiaron la remoción de los estrógenos E2 y EE2 en un sistema de lodos activados, observándose una rápida mineralización del E2 y una lenta biodegradación del EE2. Similarmente, la mineralización del E2 por un proceso de lodos activados que trató aguas residuales industriales fue más lenta comparada con la obtenida en lodos activados que trataron aguas residuales municipales. Este comportamiento sugiere que la composición de la población bacteriana es un factor importante en cuanto a las remociones de los estrógenos.

Lee y Liu (2002) observaron que la degradación del E2 y su metabolito principal el E1 en condiciones aerobias fue lenta. El 88% del E2 fue degradado a E1 después de 24 horas y el 95% del E1 fue degradado después de 14 días. EE2 fue degradado después de 25 días. Bajo condiciones anaerobias, el E2 fue degradado hasta un 50% después de 7 días, mientras que E1 y EE2 fueron persistentes bajo estas condiciones.

En el 2003, plantas de tratamiento de aguas residuales fueron monitoreadas para determinar el potencial estrogénico del E1, E2 y EE2 mediante el proceso de lodos activados, filtros percoladores y precipitación química. Los resultados mostraron que el proceso de lodos activados presentó una remoción estrogénica considerable seguido por los filtros percoladores y la precipitación química. Las remociones estrogénicas correspondientes a cada proceso fueron de 81%, 28% y 18% respectivamente (Svenson *et al.*, 2003).

Johnson *et al.* (2007) y Servos *et al.* (2005) investigaron el destino de E1, E2 y EE2 en una planta de tratamiento de aguas residuales. Estos autores observaron que la remoción global de E1 y E2 fue por arriba del 98%, mientras que la remoción de EE2 fue un poco más baja. Cerca del 90% de E1 y E2 fueron degradados en el proceso de lodos activados, mientras el EE2 fue degradado solo en el tanque de nitrificación. Este

comportamiento fue probado por Yi y Harper (2007), en el cual la tasa de biotransformación de EE2 presentaba una relación lineal respecto a la remoción del nitrógeno amoniacal (N-NH_4^+). Clara *et al.* (2005) encontraron que el tiempo de retención celular fue un parámetro de diseño para evaluar la capacidad de la plantas de tratamiento de aguas residuales para remover estrógenos así como otros microcontaminantes, mientras que Servos *et al.* (2005) observaron que el TRC no presentó una relación sustancial con la remoción de estrógenos, los cuales fueron medidos por análisis cromatográficos y bioensayos.

Pruebas de tratabilidad biológica fueron realizadas por Easton *et al.* (2004) para determinar la degradación del E2, progesterona y testosterona bajo diferentes condiciones de operación (F/M y tiempos de retención celular) en sistemas de lodos activados a nivel laboratorio. En este estudio, el parámetro de operación F/M fue variado de 0.05 a 0.5 $\text{kg DQO}\cdot\text{kg SSV}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ en cuatro reactores biológicos con una concentración constante de SSV, obteniéndose tiempos de retención celular entre 3 y 25 días. La remoción de las hormonas obtenidas fue entre un 60 y 93%, observándose que su remoción incrementaba cuando disminuía la F/M.

Otras hormonas como la testosterona y progesterona fueron degradadas rápidamente en experimentos a escala laboratorio, piloto y real mediante en un sistema de lodos activados convencional (Suidan *et al.*, 2005). Estos investigadores reportaron que estas hormonas pertenecientes al grupo del E1, E2 y E3 son degradadas rápidamente debido a que presentan coeficientes de partición y solubilidades bajas comparadas con los estrógenos.

En muchas ocasiones, concentraciones de E1 en el efluente fueron más altas que en el influente (Johnson *et al.*, 2007; Joss *et al.*, 2004; Baronti *et al.*, 2000), el cual puede ser relacionado por la biotransformación de E2 a E1 (Johnson y Sumpter, 2001; Ternes *et al.*, 1999b;).

Las condiciones ambientales tales como el oxígeno disuelto, es un factor importante. Generalmente la remociones de estrógenos en condiciones aerobias fueron mucho más altas que en condiciones anaerobias (Ermawati *et al.*, 2007; Furuichi *et al.*, 2006).

La remoción de CDE en experimentos a nivel laboratorio comparados con los sistemas de tratamiento de aguas residuales escala real presentan algunas ventajas tales como una concentración controlada de los contaminantes en el influente, control viable de cambios en los factores ambientales como la concentración de oxígeno disuelto, tiempo de residencia hidráulica (HRT), tiempo de retención celular (TRC) y otras condiciones de operación. Por lo tanto, para futuras investigaciones en la remoción de los CDE bajo diferentes condiciones de operación y para determinar los mecanismos de remoción de estos compuestos, más experimentos a nivel laboratorio se necesitan (Liu *et al.*, 2008).

Hay muchos experimentos en la degradación de E1, E2, EE2 bajo condiciones aerobias y anaerobias usando agua residual sintética o real. En la Tabla 1.12 se presenta un resumen de algunos estudios en la remoción de estrógenos naturales y sintéticos en

experimentos a escala laboratorio. Se muestra que en condiciones aerobias la remoción de los estrógenos es mayor que en condiciones anaerobias. Cajthaml *et al.* (2009) resumen la remoción de E1, E2, EE2 y otros CDE bajo condiciones anaerobias y aerobias con diferentes biomásas incluyendo el aislamiento de microorganismos.

Tabla 1.12. Remoción de estrógenos en experimentos a escala laboratorio

Compuesto	Condiciones experimentales					Remoción (%)	Referencias
	Concentración inicial	Aerobio o Anaerobio	Inoculación	Tiempo de reacción	Temperatura °C		
E2	100 ug.L ⁻¹	Aerobio	Lodo activado SSLM 220 mg.L ⁻¹	28 d	20	> 90	Ren <i>et al.</i> (2007)
E2	30 mg.L ⁻¹	Aerobio	Bacteria aislada	7 d	30	> 75	Yu y Chu (2007)
E2	5 ng.L ⁻¹	Aerobio	Lodo activado SSLM 500 mg.L ⁻¹	4 h	20	> 80	Suzuki y Maruyama (2006)
EE2	0.03-0.1 ug.L ⁻¹	Aerobio	Lodo activado SSLM 2580 mg.L ⁻¹	72 h	25	96-99	Ogawa <i>et al.</i> (2005)
E2	0.03-0.1 ug.L ⁻¹	Anaerobio	Lodo anaerobio SS 3,500 mg.L ⁻¹	30 d	-	16-38	Ogawa <i>et al.</i> (2005)
E1, E2, EE2	0.4 mg.L ⁻¹	Aerobio	<i>Nitrosomonas Europea</i>	187 h	30	> 95	Shi <i>et al.</i> (2004)
E1, E2, EE2	1 mg.L ⁻¹	Aerobio	Lodo activado SSLM 2,700 mg.L ⁻¹	2 h	30	98	Shi <i>et al.</i> (2004)
E2	333 mg.L ⁻¹	Aerobio	Lodo activado	14 h	25	60	Fuji <i>et al.</i> (2002)
E2	200 ug.L ⁻¹	Aerobio	Lodo activado	24 h	21	88	Lee y Liu (2002)
E2	200 ug.L ⁻¹	Anaerobio	Lodo activado	7 d	30	50	Lee y Liu (2002)
E2, EE2	1 mg.L ⁻¹	Aerobio	Lodo activado	1-3 h	-	> 95	Ternes <i>et al.</i> (1999b)
E2, EE2	1 ug.L ⁻¹	Aerobio	SSLM 2,600 mg.L ⁻¹	1-3 h	-	> 95	Ternes <i>et al.</i> (1999b)

Por otro lado, se ha reportado en varios estudios que la filtración con membranas (nanofiltración (NF), Osmosis Inversa (OI)), procesos de oxidación avanzada (POA) (fenton, fotofenton, H₂O₂-UV, H₂O₂-O₃, O₃) y adsorción con carbón activado son tratamientos potenciales que pueden mejorar las remociones de E1, E2 y EE2 en una planta de tratamiento de aguas residuales (Chen *et al.*, 2009; Wang y Tang, 2009; Liu *et al.*, 2008; Poseidon, 2005; Bringolf y Summerfelt, 2003; Holbrook, 2003; Ternes *et al.*, 2002; Spengler *et al.*, 2001). Sin embargo, la implementación de estas técnicas puede incrementar el costo de tratamiento del agua. Alternativamente, se puede considerar a los procesos biológicos no convencionales como la tecnología de bio-reactores con membranas (BRM) como una opción viable para la remoción de estrógenos naturales y sintéticos presentes en aguas residuales municipales asegurando que el efluente no presente un potencial estrogénico para los seres vivos que viven en los cuerpos receptores que reciben estas descargas. Asimismo, son muy pocos los estudios que se han realizados para determinar los mecanismos de remoción de los CDE en un proceso biológico. También, se debe de estudiar el transporte y destino de los estrógenos en un BRM basados en mediciones de las concentraciones tanto en la fase líquida como en la fase sólida.

Chapman (2003) investigó la remoción de algunos compuestos químicos (pesticidas, herbicidas, metales pesados), así como de los estrógenos E1 y E2 en aguas residuales crudas por medio de filtros de arena, ozonación y tratamiento con UV. Los resultados indicaron que muchos de los compuestos fueron removidos por los tratamientos avanzados obteniendo sólo concentraciones traza en el efluente final.

La remoción de color y sustancias estrogénicas por medio de un bio-reactor equipado con una membrana de ultrafiltración e inoculados con el hongo *Trametes hirsuta* fue investigada por Fujita *et al.* (2002). La cepa pudo remover el ácido húmico en un 70% con un TRH de 2 días y degradó un 81-94% de los disruptores endocrinos, tales como, bisfenol A, nonilfenol, E2, E1 y E3 mientras que el di-(2-etilhexil)ftalato no pudo ser degradado por el hongo.

Clara *et al.* (2005), Poseidon (2005) y Joss *et al.* (2004) demostraron que los BRM mejoran las remociones de E1, E2 y EE2 comparados con el proceso de lodos activados.

Chang *et al.* (2006) utilizaron bio-reactores con membranas con configuración sumergida en condiciones aerobias para remover el E1 y E2. El reactor fue operado durante tres meses con agua residual municipal con presencia del E1 y E2 utilizando membranas de microfiltración de fibra hueca. Estos autores reportaron que el E2 fue removido totalmente y oxidado a E1. El E1 presentó una remoción mas baja que el E2. La remoción del E2 fue evaluada bajo un flux constante. Después de 72 h el E1 y E2 presentaron remociones del 98%. Aproximadamente el 50% fue removido en 20 h y la concentración declinó continuamente sin tener subproductos de la biodegradación, el cual es similar a los resultados reportados por Ternes *et al.* (1999a, 1999b).

Snyder *et al.* (2006) estudiaron la remoción de compuestos disruptores endocrinos (incluyendo estrógenos) utilizando la tecnología de membranas y adsorción con carbón activado. Varios tipos de membranas y aplicaciones fueron evaluadas a nivel escala piloto y real, las cuales incluyeron microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración, ósmosis inversa, electrodiálisis, bio-reactores con membranas y combinaciones de membranas en series. El carbón activado granular fue evaluado a escala laboratorio con pruebas rápidas en columnas empacadas. De los resultados se llegó a la conclusión de que la microfiltración y la ultrafiltración presentan bajos coeficientes de rechazo de los compuestos disruptores endocrinos. La nanofiltración, la ósmosis inversa y la electrodiálisis fueron capaces de remover casi todos los compuestos, aunque estos compuestos fueron detectados en concentraciones trazas en el permeado. En cuanto a los bio-reactores con membranas, se observó que algunos compuestos tales como E1, E2, EE2, nonilfenol y bisfenol A presentaron remociones por arriba del 95%. El carbón activado granular fue altamente eficiente en remover todos los productos químicos. Sin embargo, las curvas de ruptura mostraron que los compuestos con una mayor hidrofiliidad se desorbieron mas rápidamente que los compuestos hidrofóbicos. Los resultados confirman que los procesos con membranas y de carbón activado son capaces de remover compuestos disruptores endocrinos, sin embargo, algunos

farmacéuticos son perceptibles en el permeado de las membranas y en el efluente de la columna de adsorción con carbón activado.

Por otro lado, son pocos los estudios sobre el comportamiento de la adsorción de los estrógenos en la biomasa y el efecto de la concentración de los SSV en los procesos biológicos.

Lai *et al.* (2000) demostraron que la adsorción del E1, E2, E3, y EE2 en suelos y sedimentos no fue lineal, indicando que la adsorción es un proceso crítico en la remoción de las hormonas. Estos mismos autores también observaron una mayor adsorción de los estrógenos en sedimentos con altos niveles de salinidad.

Ying y Kookana (2005) estudiaron la adsorción de siete CDE en 4 suelos con diferentes propiedades fisicoquímicas. Los compuestos fueron: E1, E2, E3, EE2, bisfenol A, 4-teroctilfenol y 4 nonilfenol. Además, estudiaron su degradación en un suelo asociado con el reúso del agua residual. La prueba de adsorción demostró que los alquilfenoles presentan una adsorción más fuerte en los suelos que los estrógenos y el bisfenol-A. Este estudio mostró también que los CDE fueron degradados rápidamente en el lodo residual en 7 días bajo condiciones aerobias. Bajo condiciones anaerobias, los CDE fueron recalcitrantes, excepto el E2, el cual mostró una baja degradación durante los 70 días del estudio. El tiempo de vida, calculado para el E2 bajo condiciones anaerobias en el lodo residual fue de 24 días. Se encontró que el E2 fue biotransformado en E1 bajo condiciones aerobias y anaerobias.

Wu *et al.* (2009) determinaron la cantidad de E1, E2 y EE2 adsorbidos en la biomasa de un BRM a escala real para el tratamiento y reúso de aguas residuales municipales. La concentración de estos compuestos en la biomasa fueron detectados en el rango de 104-760 ng.g⁻¹. Estos resultados indicaron que la adsorción de los estrógenos en la biomasa es uno de los mecanismos de remoción, y por lo tanto puede contribuir significativamente en la eliminación de CDE presentes en las aguas residuales municipales.

1.3.2. Degradación de compuestos disruptores endocrinos mediante microorganismos

Hasta el momento son pocos los estudios que se presentan en la literatura en cuanto a la identificación y aislamiento de microorganismos capaces de degradar estrógenos naturales y sintéticos.

En Japón, se han realizados varios estudios para determinar cuales son los microorganismos responsables de la degradación de E1, E2, E3 y EE2 en los procesos biológicos y de esta manera desarrollar un método eficiente para degradar los estrógenos que se descargan a las plantas de tratamiento de aguas residuales.

Se conoce que el género de las bacterias gram-negativas *Novosphingobium* puede tener varias especies que puedan asimilar compuestos resistentes a la biodegradación. Por ejemplo, *N. subarcticum* puede asimilar el tetraclorofenol (Nohynek *et al.*, 1996). *N. aromaticivorans* ha mostrado que puede degradar varios compuestos aromáticos incluyendo el tolueno y el naftaleno (Frederickson *et al.*, 1991); y *N. stygium* y *N. subterraneum* pueden degradar el fluoreno y los bifenilos policlorados (Frederickson *et al.*, 1995).

Con respecto a los estrógenos naturales, estos son fácilmente transformados vía oxidativa y reductiva por la enzima *17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa* (Itagaki y Iwaya, 1988; Bolt, 1979).

Fujii *et al.* (2002) investigaron la degradación de E2 por bacterias gram-negativas aisladas de una planta de tratamiento de lodos activados, encontrándose una nueva especie del género *Novosphingobium* (ARI-1). Los análisis con CG/MS acoplado a un equipo de resonancia magnética nuclear mostraron que los metabolitos formados por la degradación del E2 por esta nueva especie no son subproductos tóxicos para el lodo activado. Sin embargo, no se conoce la ruta metabólica de los subproductos generados en la biodegradación de este estrógeno por el género *Novosphingobium* (ARI-1)

Yoshimoto *et al.* (2004) usaron un cultivo de lodos activados tomados de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales en los cuales identificaron a 4 cepas de la especie *Rhodococcus* que pueden degradar los estrógenos E1, E2, E3 y EE2 simultáneamente en un tiempo de 24 horas. La cepa Y50158 identificada como *Rhodococcus zopfii* fue la cepa que degradó completamente a los 4 estrógenos con una concentración de 100 mg.L⁻¹. Las cepas Y50155, Y50156, y Y50157 identificadas como *Rhodococcus equi* mostraron degradación semejantes a las determinadas con Y50158 pero en un mayor tiempo de exposición.

Los microorganismos tales como *Rhodococcus erythropolis* y *Mycobacterium fortuitum* aislados de composta de jardines y suelos, pueden degradar el colesterol el cual tiene una estructura similar a la de los estrógenos, además, se ha encontrado que estos microorganismos pueden degradar compuestos aromáticos y la anilina así como contaminantes ambientales tales como el 2,4-dinitrotolueno, bifenilos policlorados y el 2,3,6-triclorofenol, los cuales son de difícil degradación (Takeo *et al.*, 2003; Yoon *et al.*, 2000; Roslev *et al.*, 1998; Maeda *et al.*, 1995; Watanabe *et al.*, 1987). *Novosphingobium tardagens* sp. aislada del lodo activado ha demostrado que puede degradar al E2 (Fujii *et al.*, 2002) y *Fusarium proliferatum* aislada del estiércol de granjas al EE2 (Shi *et al.*, 2002). Shi *et al.* (2002) mostraron que existen metabolitos intermediarios en la degradación del EE2, pero estos compuestos no han sido identificados. Además, microorganismos tales como *Streptomyces* sp., ha mostrado que pueden biotransformar el E2 a E1 (Lai *et al.*, 2002).

Los estrógenos endógenos y exógenos también pueden ser oxidados por el citocromo microsomal hepático P-450 (Martucci y Fishman, 1993). La hidroxilación aromática ya sea en la posición C₂ o C₄ es una ruta importante del metabolismo del estrógeno en

seres humanos y otros mamíferos. El estrógeno es catalizado a 2 o 4-hidroxilación principalmente por la familia de CYP3A con una mayor contribución de la familia de CYP1A. Esta actividad se ha atribuido a un miembro de la familia del P-450 y CYP1B1 (Hayes *et al.*, 1996; Liehr y Ricci, 1996). El estradiol y la estrona contienen grupos *p*-alquilfenoles que son oxidados a quinoles por el citocromo P-450 (Figura 1.6).

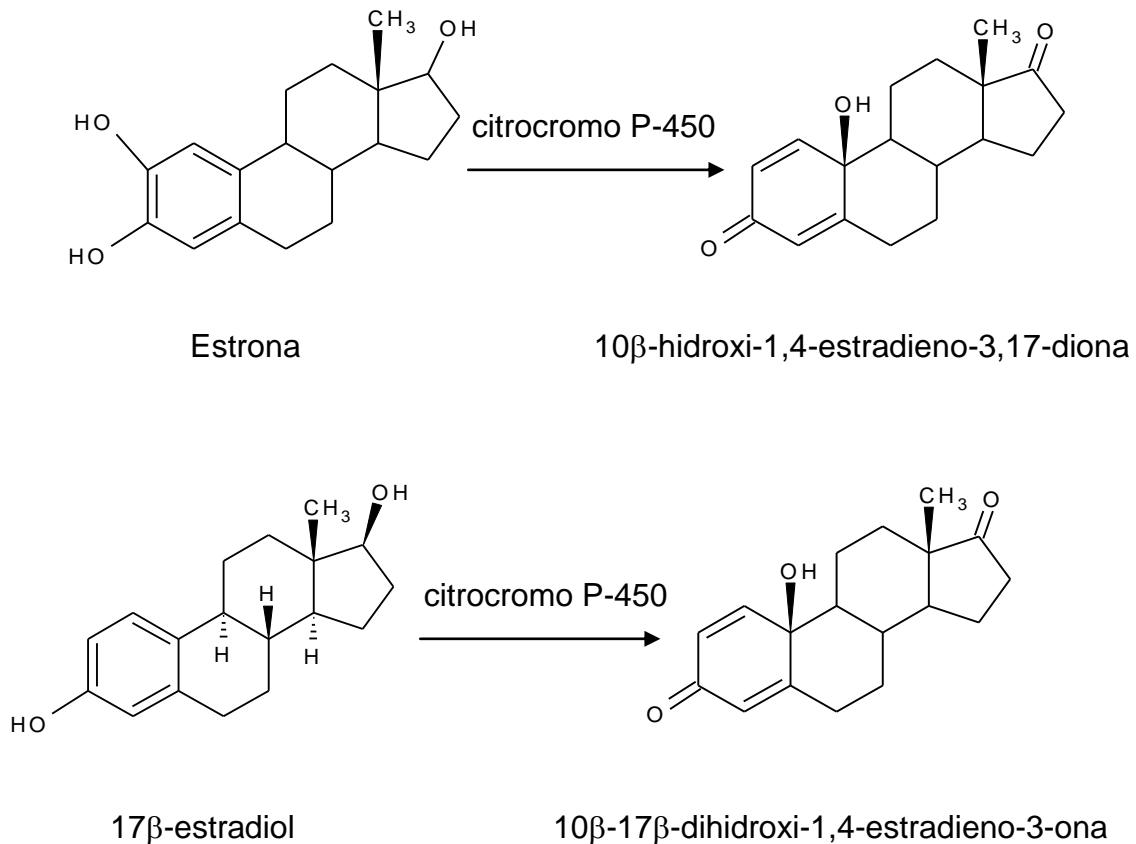


Figura 1.6. Transformación de estrógenos catalizadas por el citocromo P-450

Choudhary *et al.* (2004) estudiaron la biotransformación de EE2 por el hongo *Cunninghamella elegans* en un medio líquido. La autores identificaron varios metabolitos de EE2 por *C. elegans* (Figura 1.7). Las reacciones de transformación incluye varias reacciones de hidroxilación de EE2 y, en uno de los casos se lleva a cabo una reacción de metoxilación en un radical hidroxil.

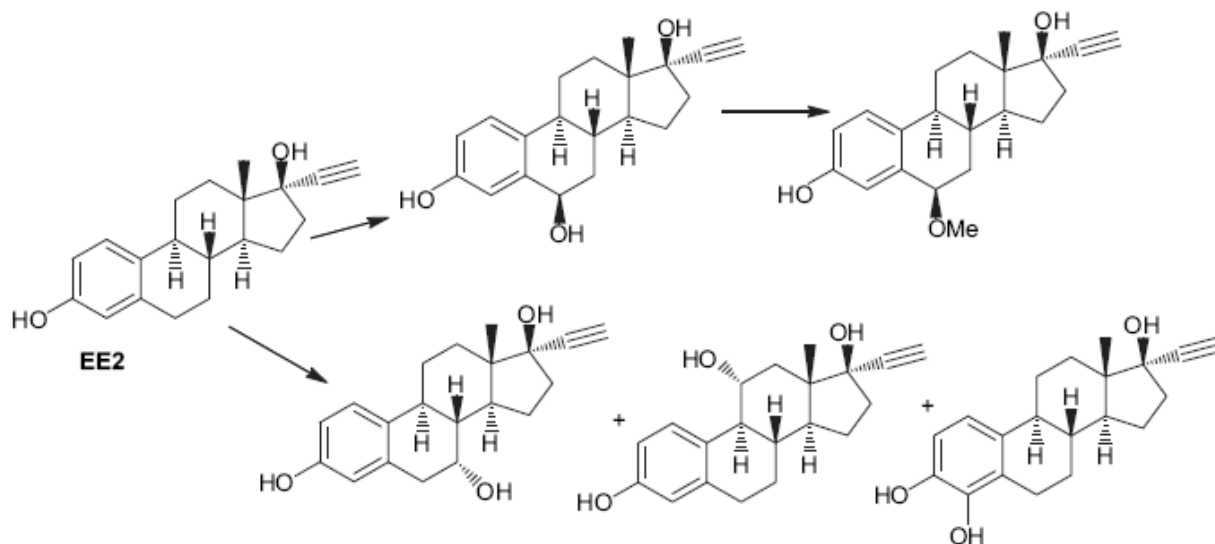


Figura 1.7. Biotransformación de EE2 por *C. elegans*

Jürgens *et al.* (2002) mostraron que microorganismos encontrados en ríos, fueron capaces de transformar el E2 a E1 y que el E1 fue degradado paulatinamente, sin embargo, el EE2 fue más resistente a la biodegradación.

Se ha reportado que con un lodo activado nitrificado el E1, E2, E3 y EE2 pueden ser degradados (Pholchan *et al.*, 2008; Reif *et al.*, 2008; Ren *et al.*, 2007; Yi y Harper, 2007; Joss *et al.*, 2004; Shi *et al.*, 2004; Vader *et al.*, 2000). Shi *et al.* (2004) reportaron que los estrógenos naturales y sintéticos pueden ser biodegradados por bacterias *Nitrosomonas europaea* encontradas en lodos activados nitrificados.

Las algas dan biomasa sustancial en un rango extenso de hábitat y su diversidad juega un rol importante en el destino de compuestos orgánicos en los ecosistemas acuáticos (Pflugmacher *et al.*, 1999). Las algas pueden degradar diversos contaminantes presentes en las aguas residuales, por eso actúan como un medio para la biotransformación y bioconcentración de contaminantes específicos (Pflugmacher *et al.*, 1999; Axelman *et al.*, 1997). La biosorción de metales pesados y contaminantes orgánicos por algas han sido reportadas frecuentemente (Axelman *et al.*, 1997; Mason *et al.*, 1996) y, se ha demostrado que algunas microalgas tienen las mismas enzimas detoxificantes como las encontradas en el hígado de mamíferos (Pflugmacher *et al.*, 1999). Se ha demostrado, que *Ochromonas danica* puede biotransformar compuestos fenólicos a piruvato y dióxido de carbono.

Lai *et al.* (2002) estudiaron la biotransformación y bioconcentración de estrógenos naturales y sintéticos con la alga de agua fresca *Chlorella vulgaris*. En sus resultados, demostraron que el E2 y el E1 fueron biotransformados tanto en condiciones de luz

como en la oscuridad, sin embargo, esta biotransformación mostró una interferencia por el E1. En la luz, 50% del E1 fue metabolizado a un subproducto desconocido. Además de la biotransformación, el E1 así como el hidroxiestireno, E3 y EE2 fueron relativamente estables en el cultivo algal, mientras que el E2 fue hidrolizado a estradiol y después a E1 en un periodo de incubación de 3 h.

Della Greca *et al.* (2008) estudiaron la biotransformación de EE2 utilizando 11 microalgas. Los autores observaron que *Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus quadricauda*, *Scenedesmus vacuolatus* y *Ankistrodesmus braunii* son capaces de formar metabolitos intermediarios en la degradación del EE2 (Figura 1.8). *Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus quadricauda*, *Scenedesmus vacuolatus* tienen la habilidad de biotrasformar al EE2 mediante reacciones de hidroxilación. Mientras que *Ankistrodesmus braunii* presenta otra estrategia durante la bioconversión del EE2.

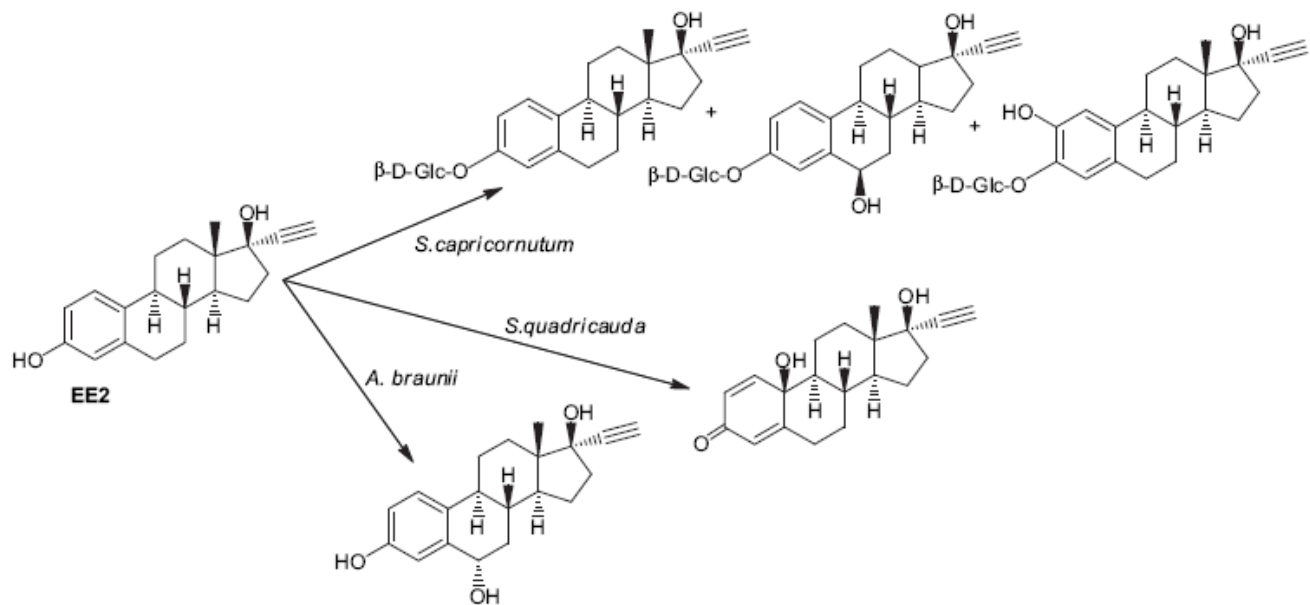


Figura 1.8. Biotransformación de EE2 por diferentes microalgas

1.3.3. Métodos analíticos para la cuantificación y detección de estrógenos en las aguas residuales municipales y lodos

Varios métodos analíticos han sido desarrollados para la detección y cuantificación de estrógenos en muestras ambientales. Mediante métodos basados en bio-ensayos (YES y E-screen,) los cuales utilizan una variedad de organismos son capaces de generar

una respuesta estrogénica de diferentes compuestos. Los bio-ensayos pueden proveer información directa de la actividad estrogénica (potencial estrogénico) de los CDE en muestras ambientales indirectamente de que compuesto genera esta actividad. A pesar de que son métodos efectivos para medir la respuesta estrogénica, estos métodos no son capaces de cuantificar concentraciones en muestras ambientales. Comparado con estos métodos, la espectrometría de masas en combinación con cromatografía de gases (CG) y cromatografía de líquidos (CL y HPLC) son técnicas altamente selectivas, las cuales mejoran la sensibilidad en la detección de contaminantes en matrices ambientales

Existen dos métodos para cuantificar y detectar la presencia de estrógenos en las aguas residuales y el lodo. El primero es mediante instrumentos analíticos como la cromatografía de gases acoplado a un espectrofotómetro de masas (CG/MS, CG/MS/MS) (Ternes *et al.*, 2002; Huang y Sedlak, 2001; Desbrow *et al.*, 1998), cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC, por sus siglas en inglés), cromatografía de líquidos de alto rendimiento acoplado a un espectrofotómetro de masas (HPLC/MS/MS) (Penalver *et al.*, 2002; Ferguson *et al.*, 2001; Baronti *et al.*, 2000; Fujitsuka, 1999), HPLC acoplado con un detector con arreglo de diodos UV-VIS (Peñalver *et al.*, 2002), cromatografía de líquidos acoplado a un espectrofotómetro de masas (CL-MS) y CL-UV-VIS (Johnson *et al.*, 2000). Estos métodos utilizan una extracción en fase sólida seguida por una limpieza y una derivatización (CG) de los analitos antes de ser analizados con los métodos mencionados.

El segundo método cuantifica la actividad estrogénica y/o el potencial estrogénico de compuestos sobre una matriz ambiental, midiendo la respuesta positiva de pruebas en bioensayos sin identificar a los compuestos contaminantes estrogénicos. Las dos pruebas biológicas más comunes son la prueba YES (por sus siglas en inglés Yeast Estrogenic Screen) y ensayos en células cancerosas de pecho MCF-7 (E-Screen) (Lee *et al.*, 2008; Jörg *et al.*, 2005; Rutishauser *et al.*, 2004; Aerni *et al.*, 2004; Murk *et al.*, 2002; Korner *et al.*, 2001; Tanaka *et al.*, 2001; Matsui *et al.*, 2000; Soto *et al.*, 1995). El método YES, es la prueba biológica comúnmente usada para observar la actividad estrogénica de las aguas residuales (Matsui *et al.*, 2000; Desbrow *et al.*, 1998). Otro método alternativo es mediante ensayos inmunoabsorbente de enlace enzimático (ELISA, por sus siglas en inglés) (Hirobe *et al.*, 2006, Suzuki y Maruyama, 2006), sin embargo, este método solo puede detectar concentraciones del estrógeno E2.

A pesar de que existen muchos métodos analíticos por CG y HPLC para la determinación de estrógenos en diferentes tipos de aguas (Labadie y Hill, 2007; Gibson *et al.*, 2007; Ternes *et al.*, 2002; Huang y Sedlak, 2001), son pocos los métodos desarrollados para la detección de estrógenos en la biomasa de los procesos biológicos de los sistemas de tratamiento de aguas residuales. Por lo tanto, uno de los objetivos de esta investigación fue desarrollar e implementar un método analítico mediante cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas/masas con trampa iónica para la detección y cuantificación de estrona, 17 β -estradiol, 17 α -etinilestradiol en aguas residuales municipales crudas, tratadas y lodo activado (biomasa) en el rango de nanogramos.

1.4. Bio-reactores con membranas (BRM)

Los BRM para el tratamiento de aguas residuales han sido usados exitosamente para el reúso del agua residual (Stephenson *et al.*, 2000) y han sido propuestos para la remoción de contaminantes específicos, tales como los compuestos disruptores endocrinos (Cicek, 2003).

Un bio-reactor con membranas se define como una combinación de dos procesos: un reactor biológico responsable de la biodegradación de compuestos contaminantes y un módulo de membranas para la separación física sólido-líquido del licor mezclado.

1.4.1. Configuraciones de los BRM

Los BRM se pueden clasificar en dos categorías: BRM sumergidos y BRM externos.

1.4.1.1. BRM sumergidos

El primer grupo, conocido como BRM integrados o sumergidos involucra módulos de membranas principalmente de fibra hueca que están sumergidas dentro del reactor biológico (Cornel y Krause, 2006; Cicek, 2003) (Figura 1.9). La fuerza transversal o fuerza impulsora de las membranas es alcanzada ya sea por presurización del tanque biológico o creando una presión negativa (succión) en el lado del permeado. La limpieza de la membrana se alcanza a través de frecuentes ciclos de lavado con el permeado, aeración y un lavado químico.

Un difusor es colocado debajo del módulo de membranas para facilitar la fricción con la superficie de la membrana y de esta manera controlar el ensuciamiento de la superficie de las membranas. El desarrollo de las membranas sumergidas apareció por primera vez a principios de los 90's, por lo que los BRM sumergidos se convirtieron en una alternativa real para flujos altos con aplicaciones a gran escala en el tratamiento de aguas residuales municipales.

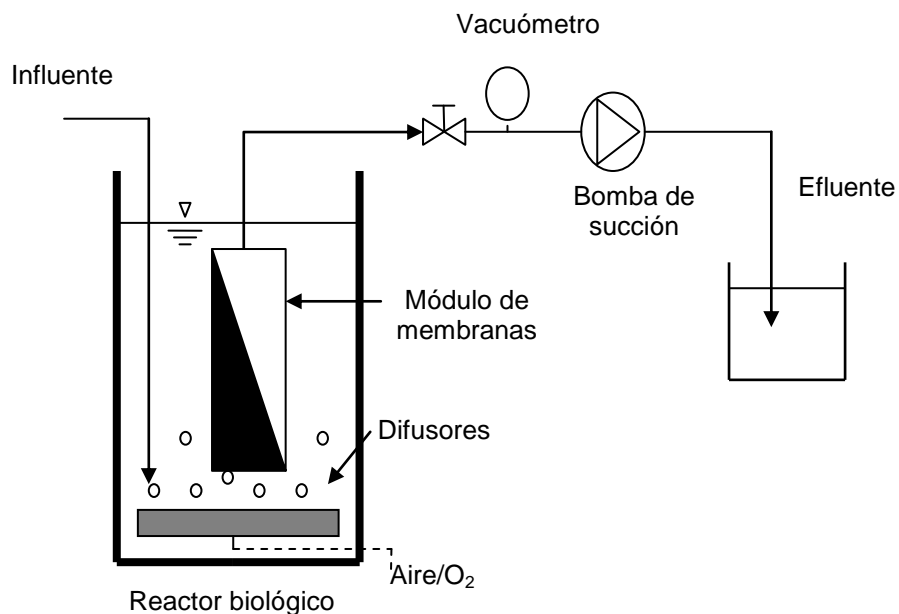


Figura 1.9. Diagrama esquemático de un BRM integrado (sumergido)

1.4.1.2. BRM externos

La segunda configuración son los BRM con configuración externa o recirculado, el cual involucra una recirculación del licor mezclado a través del módulo de membranas, en el que se utilizan principalmente membranas tubulares que están fuera del reactor (Cornel y Krause, 2006; Cicek, 2003). La fuerza impulsora es la presión creada por una alta velocidad de flujo cruzado a lo largo de la superficie de las membranas. El control del ensuciamiento de la membrana se realiza mediante una alta velocidad del permeado a través de los canales de filtración y una limpieza química. Este tipo de BRM es el más antiguo. El esquema del BRM se presenta en la Figura 1.10.

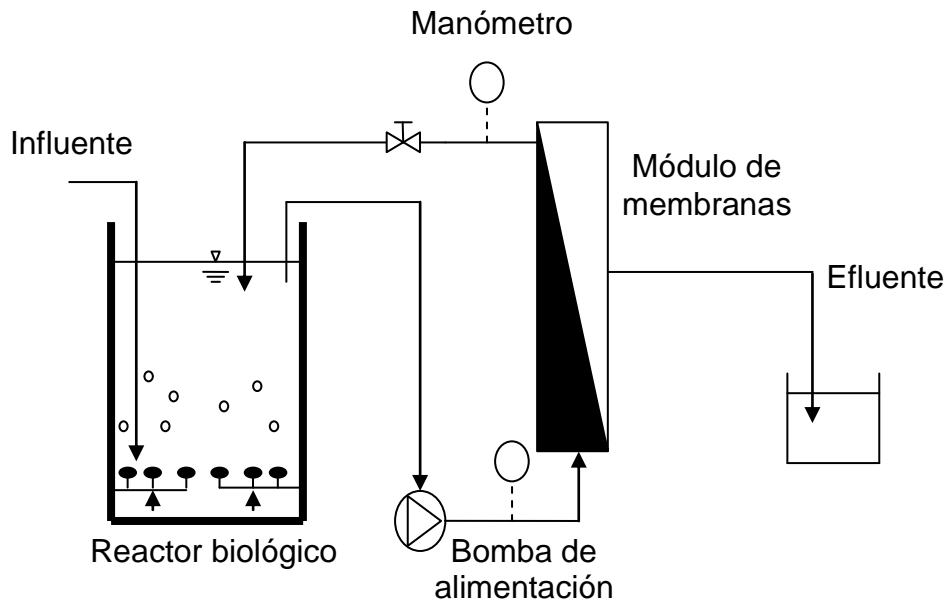


Figura 1.10. Diagrama esquemático de un BRM con configuración externa

1.4.1.3. Diferencias entre los tipos de configuración de los BRM

En la Tabla 1.13 se muestran las diferencias de los dos tipos de configuraciones de los bio-reactores con membranas (Stephenson *et al.*, 2000).

La aereación dentro del reactor proporciona el oxígeno necesario tanto para la actividad de los microorganismos como para mantener al reactor completamente mezclado. En los BRM sumergidos, se utiliza generalmente un difusor de burbuja gruesa. Este sistema no ofrece una eficiente transferencia de oxígeno (Gander *et al.*, 2000), pero sí crea un flujo cruzado turbulento (con una velocidad de aereación aproximadamente de $1 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) sobre la superficie de las membranas, esto ayuda a mantener un flujo constante a través de las membranas, reduciendo la acumulación de sólidos en su superficie, incrementando así el ciclo de operación del sistema.

En la configuración externa, la aereación se realiza a través de un difusor de burbuja fina, el cual ofrece una mejor transferencia de oxígeno (Gander *et al.*, 2000). El flujo cruzado generado por la recirculación del licor mezclado es mayor (entre 2 y $4 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) comparado con los BRM sumergidos.

Tabla 1.13. Comparación entre los BRM sumergidos y los BRM con membranas externas

CON MEMBRANA SUMERGIDA	CON MEMBRANA EXTERNA
Costos de aireación altos	Costos de aireación bajos
Costos de bombeo muy bajos	Costos de bombeo altos
Flux de operación (10-60 L.m ⁻² .h ⁻¹)	Flux de operación (10-120 L.m ⁻² .h ⁻¹)
Frecuencia de limpieza baja	Requiere mayor frecuencia de limpieza
Costos de operación bajos	Costos de operación altos
Inversión inicial fuerte	Inversión inicial menor
Presiones transmembrana bajas (0.05-0.5 bar)	Presiones transmembrana mayores (0.5-5 bar)

Los BRM con configuración externa, debido a la recirculación de la biomasa presentan un mayor consumo de energía, lo que provoca que estos sistemas tengan mayores costos de operación, además de que trabajan con presiones transmembrana mayores a 0.5 bares, generando un flux más alto de hasta 120 L.m⁻².h⁻¹. Por otro lado, los BRM sumergidos trabajan con presiones transmembrana menores a 0.5 bares, lo que implica un flux bajo (10-60 L.m⁻².h⁻¹), provocando así una mayor inversión inicial de capital.

1.4.1.4. Problemática asociada a la operación de los BRM

La colmatación o taponamiento de las membranas representa el problema principal en la operación de los BRM. La colmatación es un término relacionado con la disminución de la capacidad de filtración de las membranas la cual esta directamente influenciada por la deposición de partículas sobre la superficie de las membranas y la obstrucción de estas en los poros de las mismas. En la práctica donde el flux es constante, la colmatación da como resultado un incremento en la presión transmembrana y por consiguiente una disminución del flux (Chang *et al.*, 2002). Este fenómeno puede ser atribuido principalmente a partículas orgánicas (sustancias poliméricas extracelulares (SPE)) y a partículas inorgánicas. La colmatación por compuestos inorgánicos ocurre debido a la precipitación de compuestos tales como el Fe^{3+} , Ca^{2+} y Mg^{2+} y a un gradiente de concentración (fenómeno de la polarización), lo cual es muy común en membranas de ósmosis inversa y nanofiltración. Los productos microbianos solubles (PMS) es considerado el mayor constituyente de la colmatación de las membranas en los BRM (Taniguchi *et al.*, 2003; Hong y Elimelech, 1997).

La colmatación de las membranas en los BRM se atribuye a las interacciones fisicoquímicas entre el licor mezclado (biofluido) y las membranas (Herrera *et al.*, 2006). Desde que la superficie de las membranas entra en contacto con el lodo biológico se lleva a cabo la deposición de sólidos sobre estas, permitiendo obtener un fluido más limpio. A partir de que esto, se forma una capa superficial de lodos sobre la superficie de las membranas lo que se denomina colmatación reversible que se remueve con un lavado físico. La colmatación interna de las membranas causada por la adsorción de material disuelto dentro de los poros es considerada como una colmatación irreversible, que generalmente es removido por medio de lavados químicos.

La bio-colmatación esta específicamente relacionada con la interacción de los bio-sólidos con las membranas, lo que puede consistir en la formación de biopelículas o la acumulación de material orgánico natural (incluyendo SPE) en la superficie de las membranas (Herrera *et al.*, 2006). Las SPE son una mezcla compleja de proteínas, carbohidratos, polisacáridos, ADN, lípidos y sustancias húmicas que rodean a las células y forman las películas y flocs microbianos (Liss, 2002; Liao *et al.*, 2001; Liss *et al.*, 1996). La bio-colmatación es un fenómeno causado por la concentración de la biomasa dentro del reactor. La colmatación biológica es el resultado de interacciones entre la superficie de las membranas y los componentes de la biomasa o el lodo, que consisten de células microbianas o sus agregados, productos de la secreción microbiana, constituyentes de las células provenientes de la lisis celular. Mann (2001), Wisniewski (2001), Roorda y van dar Graaf (2000), Choo y Lee (1996), Tardieu *et al.* (1998,1996) determinaron que la bio-colmatación puede ser caracterizado en base a tres diferentes mecanismos: adsorción de las SPE en la superficie de las membranas, obstrucción de los poros por las células y a la formación de biopelículas, como una consecuencia de un proceso de Mineralización Biológicamente Inducida (MBI) (Figura 1.11). De acuerdo a esto, ciertos compuestos tales como carbonatos, hidróxidos, fosfatos, Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} y Fe^{3+} presentes en las biopelículas, son depositados sobre la matriz de las SPE mediante precipitación, lo cual aumenta las

interacciones entre varios procesos metabólicos y el medio ambiente circundante. La presencia de SPE solubles y suspendidas permiten la acumulación de este material en la superficie de las membranas y dentro de los poros (Nagaoka *et al.*, 2000, 1998, 1996; Mukai *et al.*, 1999; Chang y Lee, 1998).

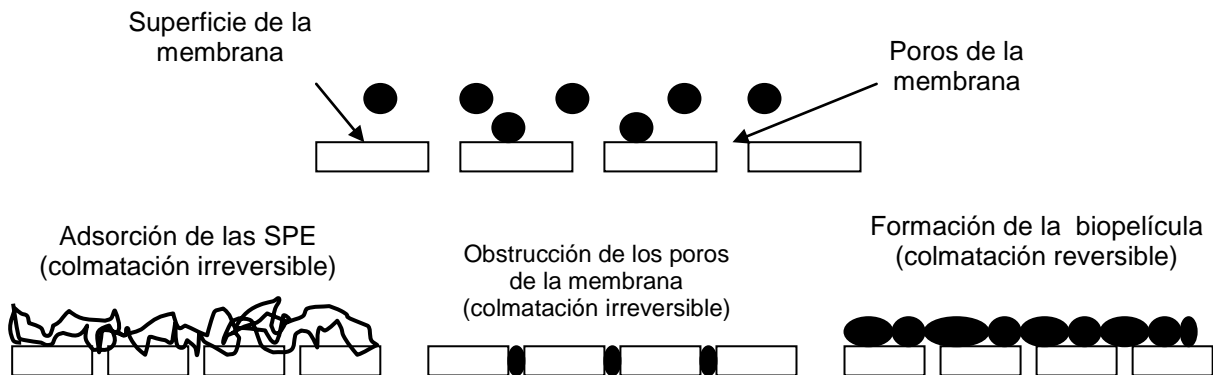


Figura 1.11. Mecanismos de la colmatación en los bio-reactores con membranas

La adsorción física y química de las SPE puede ocurrir durante el flux. La adsorción física involucra interacciones débiles (fuerza de van Der Waals), las cuales pueden ser solo una simple deposición entre las SPE y la superficie de las membranas. La adsorción química, involucra una fuerza de adhesión más grande (puentes de hidrógeno), por lo tanto, la energía entre las SPE y la superficie de la membrana es mayor. Consecuentemente, se deben utilizar agentes químicos para remover las SPE adheridas en la superficie de las membranas (Flemming *et al.*, 1996). También puede ocurrir una colmatación irreversible dependiendo de la naturaleza de las interacciones.

Un número de factores pueden afectar la colmatación de las membranas en los BRM. Estos factores incluyen las condiciones hidrodinámicas en el BRM (flujo crítico y sub-crítico), diseño del módulo de membranas, las condiciones de operación del proceso biológico y las membranas, los materiales de construcción de la membrana y las propiedades fisicoquímicas del lodo activado (Lesjean *et al.*, 2004) (Figura 1.12). Las propiedades fisicoquímicas del lodo están directamente influenciadas por las condiciones de operación del proceso biológico, resultando en efectos subsecuentes en el taponamiento de las membranas (Liao *et al.*, 2001). La viabilidad económica de los BRM esta directamente relacionada por el flux, la frecuencia de retrolavados, limpieza química y el tiempo de vida de los módulos de membranas.

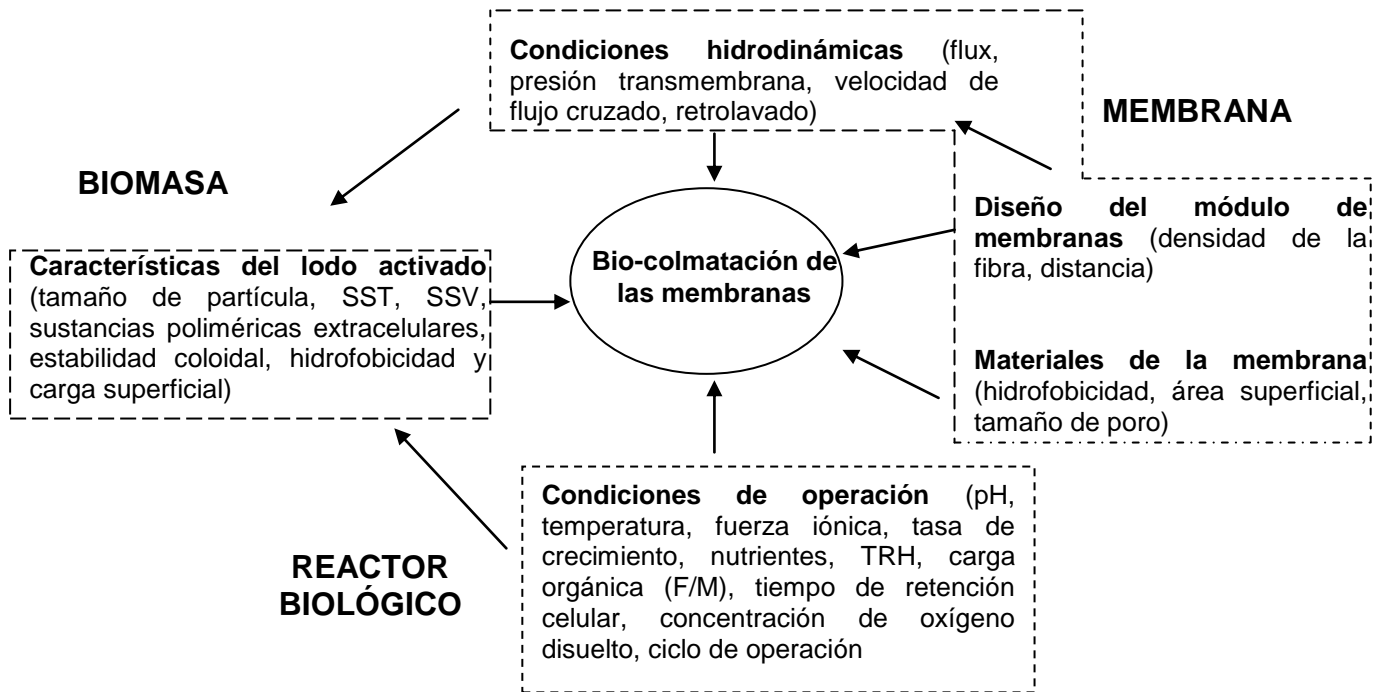


Figura 1.12. Factores que afectan el ensuciamiento en los BRM

El desarrollo de materiales y configuraciones de los módulos de membrana para su aplicación en esta tecnología se ha elevado por la necesidad de eliminar o reducir su colmatación y los problemas asociados a él. La naturaleza y la dimensión de la colmatación dependen tanto de las características del agua residual, como de las condiciones de hidrodinámicas del módulo de membranas.

1.4.1.5. Reducción de la colmatación de las membranas

La colmatación de las membranas puede reducirse de tres formas:

- a. La eliminación de las partículas causantes del taponamiento por medio de un pretratamiento o tratamiento *in situ*.
- b. Provocando una turbulencia en las membranas.
- c. Reducir el flujo de alimentación (condiciones sub-críticas).

Todas estas operaciones generan costos adicionales al proceso, la operación *b* genera un costo de operación y las operaciones *a* y *c* un costo de inversión. La generación de turbulencia mediante el sistema de aereación es la forma más adecuada para la reducir

la colmatación en los BRM, sin embargo, llega un momento en el cual se tiene que realizar un lavado químico de las membranas.

Por otro lado, la reducción de la colmatación de las membranas (condiciones sub-críticas), es la técnica más utilizada por los BRM sumergidos, ya que si trabaja con condiciones sub-críticas del flux de permeado, los BRM operan con presiones transmembrana (PTM) bajas, lo que provoca una menor colmatación de las membranas.

1.4.1.6. Limpieza de las membranas

Para prevenir la continua acumulación de sólidos sobre la superficie de las membranas, es necesario llevar a cabo una limpieza física y química de las membranas.

1.4.1.6.1. Limpieza física

Retrolavado. Una parte del efluente tratado o permeado es recirculado para la limpieza de las membranas. El permeado fluye a través del sistema más rápidamente que durante las del proceso. Debido a la alta recirculación del flujo, se genera una turbulencia sobre la superficie de las membranas, removiendo de esta manera, las partículas depositadas sobre la superficie de las membranas.

Inyección de aire + retrolavado. Una mezcla de agua (retrolavado) y aire se utiliza para la limpieza de las membranas, provocando de esta manera una turbulencia alta en la superficie de las membranas, desprendiendo así, las partículas retenidas en la superficie de las membranas.

En los BRM sumergidos, la aereación con burbujas gruesas procedente de la parte inferior del módulo de membranas, permite eliminar las partículas acumuladas en ella. Aún así, y en el caso de los BRM externo, para restaurar el flux es necesario llevar a cabo una limpieza física y química de las membranas.

La frecuencia de limpieza de las membranas depende de las condiciones de operación (tiempo de operación, características del agua de alimentación, flux, entre otros). Por lo tanto, el retrolavado es un proceso completamente automatizado, siendo iniciado en la mayoría por relojes programables o temporizadores. El retrolavado puede iniciar cuando la PTM se incrementa (hasta una cierta presión) y el flux se reduce hasta un cierto porcentaje respecto al flux inicial. La secuencia de los retrolavados puede ser iniciado mediante un algoritmo matemático (Vargas *et al.*, 2008). También, la secuencia de retrolavados puede ser iniciada después de un período programado de operación, sin tener en cuenta la presión transmembrana. Finalmente, el retrolavado puede programarse para comenzar después de que un volumen de permeado predeterminado se haya producido (Buckley y Jacangelo, 1998). En la mayoría de los casos, el retrolavado tiene lugar cada 30 hasta 60 minutos de operación y se hace durar un

tiempo entre 5 y 60 s (Vargas *et al.*, 2008; Buckley y Jacangelo, 1998;) y sucede de forma continua cuando el sistema se encuentra trabajando.

1.4.1.6.2. Limpieza química

La limpieza química de las membranas se requiere cada vez que el flux permeado disminuye un 20% respecto al flux original (ACA, 2003). En la mayoría de los casos, la limpieza química se lleva a cabo entre 3 y 6 meses (Till y Mallia, 2001). Para la limpieza química de las membranas, se utiliza comúnmente hipoclorito de sodio (NaOCl), aunque también se utilizan otros agentes alcalinos para la eliminación de los colmatantes orgánicos, mientras que la limpieza ácida es requerida para asegurar la eliminación de los precipitados inorgánicos.

Es importante decir que una vez que se detecte que las membranas están sucias, éstas deben ser limpiadas inmediatamente ya que si una membrana sucia continua trabajando su deterioro puede ser irreversible haciendo entonces, el reemplazo de las mismas.

1.4.2. BRM en el mundo

Actualmente más de 1,000 BRM están en operación alrededor de todo el mundo con aproximadamente el 66% en Japón y el restante a lo largo de Asia (China y Korea) Europa y Norte América. De estas instalaciones, alrededor del 55% utiliza membranas sumergidas, mientras que el resto tienen módulos externos (Cicek, 2003). Más del 98% de los sistemas complementan el proceso de separación de membrana con un proceso biológico aerobio. Actualmente, las principales empresas que comercializan bio-reactores con membranas son: Kubota (Japón), Mitsubishi (Japón), X-Flow (Países Bajos) y Zenon (Canadá).

Además de las compañías citadas, existen otras compañías que fabrican membranas y comercializan BRM como son: U.S. Filter (Australia), Rhodia Pleiade (Francia), Millenniumpore (Reino Unido), Degremont (Francia), Koch Membrane System (Reino Unido), Millipore (USA), SINAP (China), Litree (China), Microza (China), Hitachi (Japón) y Canpure (Canadá). En México aun no existe la aplicación de esta tecnología a nivel escala real, sin embargo, diferentes universidades e institutos de investigación están trabajando con sistemas BRM a nivel laboratorio y piloto. En la siguiente Tabla 1.14, se presentan las características principales de los BRM que se comercializan en todo el mundo (Stephenson *et al.*, 2000).

Tabla 1.14. Características de los BRM comerciales

Características	Kubota	Mitsubishi	X-Flow	Zenon
Caudal máximo	7.8 m ³ .h ⁻¹	6.4 m ³ .h ⁻¹	1.8 m ³ .h ⁻¹	7.6 m ³ .h ⁻¹
Volumen del bio-reactor	30.8 m ³	34.2 m ³	5.7 m ³	23.6 m ³
Membranas	Placa plana	Capilares	Tubulares	Fibra hueca
Tamaño de poro	0.4 µm	0.4 µm	0.03 µm	0.04 µm
Superficie de la membrana	240 m ²	315 m ²	30 m ²	60-184 m ²

1.4.3. Ventajas de los BRM

Los BRM presentan 3 ventajas principales con respecto al sistema de lodos activados:

1. *Tamaño compacto.* La combinación de varios procesos unitarios dentro de uno y la habilidad de operar altas concentraciones de biomasa, significativamente reduce el tamaño de los BRM (Trusell *et al.*, 2005), comparados con los sistemas de tratamiento de aguas residuales convencionales.
2. *Barrera para la retención de sólidos y microorganismos.* Usando membranas para la separación de los sólidos, se obtienen efluentes de mayor calidad debido a la retención de la materia orgánica suspendida, completa retención de microorganismos patógenos, eliminación de moléculas solubles de alto peso molecular (Trusell *et al.*, 2005; Adham *et al.*, 2001).
3. *Remoción de compuestos orgánicos tóxicos y recalcitrantes.* Los BRM son capaces de trabajar con condiciones de operación muy amplias como el TRH y el TRC. Junto con estas propiedades y con la capacidad de las membranas para la retención de contaminantes y de microorganismos en su superficie, es posible aislar microorganismos con exoenzimas específicas capaces de biotransformar o mineralizar contaminantes orgánicos. Además, la ausencia de un sedimentador secundario permite, el crecimiento de microorganismos específicos como las bacteria nitrificantes y bacterias capaces de degradar compuestos de difícil degradación, los cuales que se desarrollan y persisten en el sistema aun bajo tiempos de retención celular cortos. (Cicek *et al.*, 2001).

Existen otras ventajas de esta tecnología comparado con el sistema de lodos activados los cuales son: altas concentraciones de biomasa (4-15 g.L⁻¹ en BRM sumergidos y hasta 50 g.L⁻¹ en BRM con configuración externa (Cornel y Krause, 2006; Scholz y Fuchs, 2002;), operación de bajos TRH, altos TRC y por consiguiente relaciones de F/M y producción de lodos bajos (Huang *et al.*, 2001).

2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1. Objetivo general

Evaluar los mecanismos de remoción de tres compuestos disruptores endocrinos estrona (E1), 17β -estradiol (E2) y 17α -etinilestradiol (EE2), utilizando bio-reactores aerobios con membranas con configuración sumergida.

2.2. Objetivos específicos

- Implementar y validar un método cromatográfico mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas/masas (CG/MS/MS) para la detección y cuantificación del E1, E2 y EE2 en aguas residuales y en la biomasa.
- Establecer una estrategia para la limpieza física de las membranas.
- Investigar los mecanismos de remoción del E1, E2 y EE2 en un agua residual sintética dentro del BRM.
 - Determinar la remoción general de los compuestos en un BRM.
 - Determinar la capacidad adsorción de los compuestos en la biomasa activa e inactiva.
 - Determinar la retención de los compuestos en las membranas.
 - Determinar las cinéticas de remoción en la fase líquida y sólida.
- Investigar la influencia de los parámetros operacionales sobre la remoción del E1, E2 y EE2 y determinar las mejores condiciones de operación del proceso.
- Determinar las concentraciones del E1, E2 y EE2 en aguas residuales crudas.
- Determinar la remoción del E1, E2 y EE2 en aguas residuales reales mediante un bio-reactor con membranas a nivel piloto.

2.3. Hipótesis

El principal mecanismo de remoción de E1, E2 y EE2 en aguas residuales mediante bio-reactores con membranas es la biodegradación.

3. METODOLOGÍA

A continuación se presenta el planteamiento metodológico en el que se sustenta esta investigación (Figura 3.1).

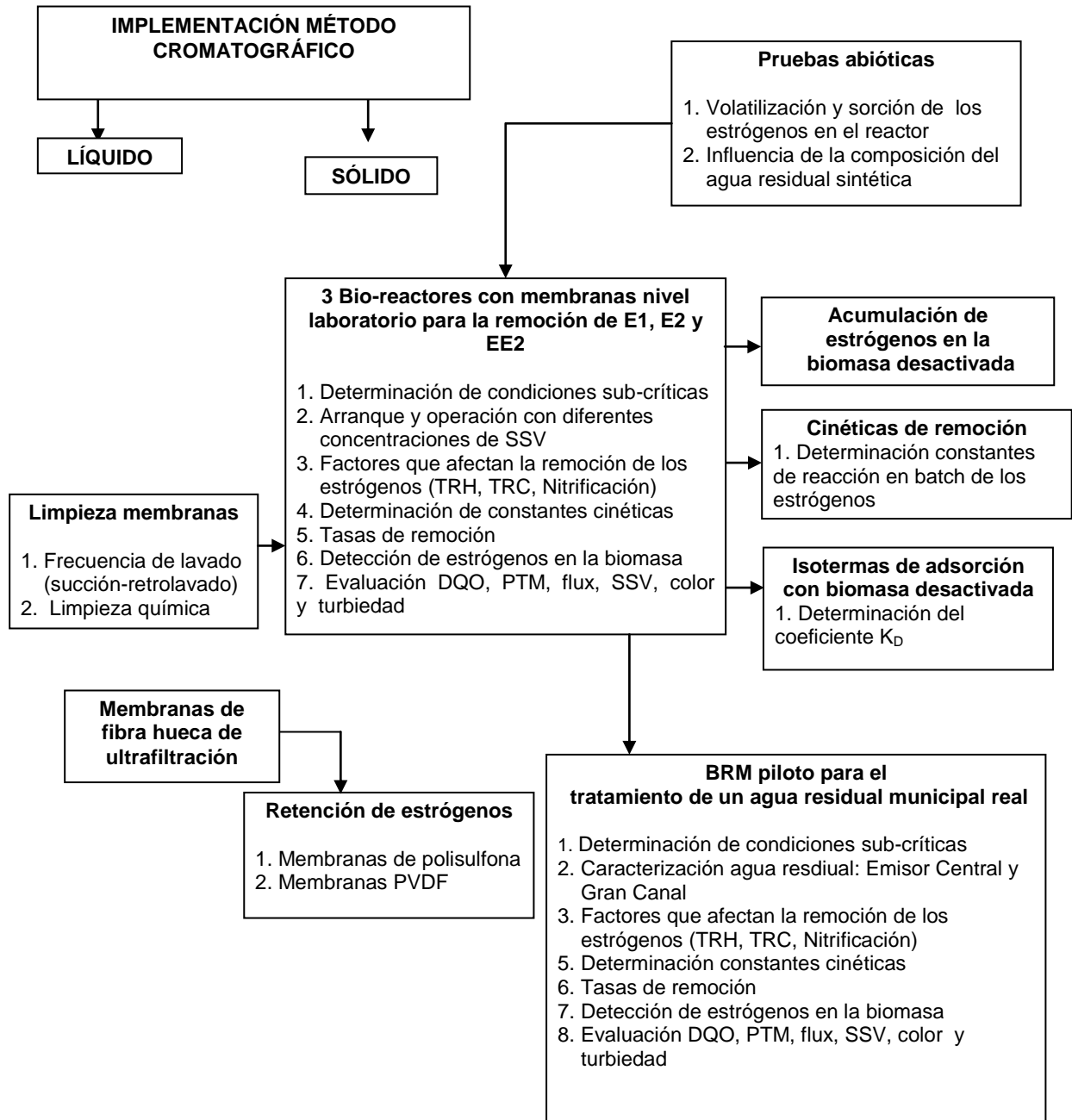


Figura 3.1. Diagrama de flujo del estudio sobre el transporte y distribución de los estrógenos por medio de BRM

3.1. Metodología del método analítico

3.1.1. Reactivos

E1 (99%), E2 (99%), EE2 (98% grado HPLC) y 17 β -estradiol-17 β -acetato (99%) (estándar interno) fueron obtenidos de Sigma (Steinheim, Germany). Los solventes utilizados fueron grado pesticida y HPLC. La acetona y metanol fueron obtenidos de Tecsiquim (Toluca, Mexico), tolueno de J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA) y hexano de OmniSolv (USA). Los agentes derivatizantes n-metil trimetilsilil trifluoroacetamida (MSTFA, Sigma-Aldrich), 1-trimetilsilil imidazola (TMSI, Fluka) y el catalizador 1,4-ditioeritriol (DTE, Sigma-Aldrich) fueron de un grado de pureza > 97%.

3.1.2. Cromatógrafo de gases (CG)

Se utilizó un cromatógrafo de gases VARIAN CP-3800 equipado con una columna capilar de sílice fundida de 30 m de longitud, 0.25 de diámetro y 0.25 μ m de grosor y conectado a un espectrómetro de masas/masas modelo VARIAN SATURN 2200 (Figura 3.2). 3 μ L de muestra fue inyectada al cromatógrafo de gases mediante una inyección en modo Splitless (sin división) por 3 segundos. El gas acarreador fue helio con un flujo constante de 1.0 mL min⁻¹.

Se realizaron varias pruebas modificando la rampa de temperatura, con el objeto de determinar las mejores condiciones del cromatógrafo de gases en cuanto a la respuesta en la señal y separación de los picos de los compuestos, partiendo de lo reportado por Ternes *et al.* (2002) y Huang y Sedlak (2001). De acuerdo a esto, el mejor programa de temperaturas fue el siguiente: 160°C durante por 1 min, 25°C.min⁻¹ hasta 260°C, 2°C.min⁻¹ hasta 270°C, 280°C durante 8 min.

Para poder observar una mayor retención, señal y resolución en los picos de los compuestos en el equipo, se utilizaron 2 columnas de diferente fase con la misma longitud, diámetro y grosor. La primera columna que se utilizó fue VF-17ms (50% fenil + 50% dimetilpolisiloxano) y la segunda fue VF-5ms (5% fenil + 95% dimetilpolisiloxano).

3.1.3. Espectrometro 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 amplitud de excitación, voltaje del multiplicador y corriente de emisión, con el objetivo de determinar las condiciones óptimas de operación del espectrómetro de masa/masas para la detección y cuantificación de los estrógenos en concentraciones en el rango de nanogramos (ng). Para detectar los analitos, primero se realizó en modo SCAN (todos los iones) en un rango de escaneo de 50-500 m/z y una vez identificados los analitos en modo SIM

(monitoreo selectivo de iones). La temperatura de la fuente de impacto de electrones fue de 230 °C. La energía de ionización fue fijada en 70 eV con una ventana para MS/MS de 3 m/z.



Figura 3.2. Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas/masas

3.1.4. Estrategia para la detección de los estrógenos

Para la detección y cuantificación de los compuestos mediante CG/MS/MS, se realizó un análisis cualitativo con soluciones sintéticas, con el objetivo de identificar los tiempos de retención y los iones característicos de los compuestos en estudio. A continuación, se muestra la estrategia para la detección de los estrógenos en el rango de nanogramos.

- 1) Detección de los compuestos individuales en altas concentraciones (determinación del tiempo de retención y ion precursor).
- 2) Detección de los compuestos mezclados en concentraciones altas.
- 3) Variación de las condiciones de operación del cromatógrafo de gases y del espectrómetro de MS/MS.
- 4) Selección de la columna
- 5) Optimización de la derivatización: tiempo de derivatización y cantidad de derivatizante.
- 6) Detección de los compuestos mezclados en concentraciones de ng.

Una vez que fue seleccionada la columna y que se obtuvieron las condiciones óptimas del cromatógrafo y del espectrómetro de MS/MS se realizó la validación del método, el

cual consistió en la determinación de los límites de detección (LDD) y cuantificación (LDC) de los compuestos en fase líquida y biomasa, porcentajes de recuperación y linealidad del método.

3.1.5. Tratamiento de la muestra

A continuación se presenta la metodología del tratamiento de la muestra para cuantificar los compuestos en la fase líquida y en la biomasa. La metodología fue basada en Ternes *et al.* (2002), la cual fue modificada. La limpieza de la muestra tuvo como objetivo eliminar los efectos de la matriz y la reducción de interferencias y hacer al analito compatible con la técnica.

3.1.5.1. Tratamiento de la muestra en fase líquida (agua residual)

Los estrógenos naturales y sintéticos fueron determinados en la fase líquida usando muestras de 1 L (influyente y efluente). El tratamiento de las muestras consistió en: filtración como primer paso, seguida de una extracción en fase sólida (EFS) con cartuchos C₁₈ (Varian), limpieza con silica gel y por último una derivatización de los analitos.

3.1.5.1.1. Filtración

La muestra de agua residual fue ajustada a pH de 3 con ácido sulfúrico (98%) y fue filtrada a través de filtros de fibra de vidrio (Whatman) de 120 mm x 1.0 μm (solo influyente). Después del prefiltrado, las muestras fueron fortificadas con los analitos de interés y el estándar interno (17 β -estradiol-17 β -acetato). Cabe señalar que la muestra del efluente de los reactores no fue filtrada debido a que ésta ya se encontraba filtrada mediante el módulo de membranas inmersa dentro de los bio-reactores.

3.1.5.1.2. Extracción en fase sólida (EFS)

La extracción en fase sólida se realizó utilizando cartuchos C₁₈ (octadecil trifuncional) con una capacidad de la resina de 500 mg, los cuales fueron acondicionados previamente con 5 mL de metanol, seguido por 10 mL de agua desionizada a pH de 3 (Figura 3.3). Una vez acondicionados los cartuchos, la muestra filtrada fue extraída con vacío en un manifold (Varian) con un flujo entre 10-20 mL.min⁻¹ a una presión de -0.5 bares. Una vez filtrada la muestra por los cartuchos, estos fueron secados durante 30 min a vacío, con el objeto de eliminar cualquier humedad dentro de los cartuchos. Los analitos retenidos en la resina fueron eluidos con 5 mL de metanol. El extracto de metanol fue reducido hasta 200 μL mediante una corriente suave de N₂.



Figura 3.3. Sistema de extracción en fase sólida

3.1.5.1.3. Limpieza con silica gel

Una cantidad de 3 g de silica gel (silica gel grado 60, 70-230, de Aldrich) se calentó durante 24 h a 150°C y fue desactivada con 1.5% de agua desionizada (m/m). La silica gel desactivada fue transferida a una columna de plástico (Varian) de 20 mL, a la cual se le adicionó 5 mL de una mezcla de hexano/acetona (65:35, v/v) y fue agitada durante 10 min. Antes de usarse, la columna fue limpiada con 5 mL de hexano/acetona. El extracto de metanol de la fase de extracción, fue transferido a la columna de silica gel (Figura 3.4). Finalmente los analitos fueron eluidos con 10 mL de la solución de hexano/acetona aplicando vacío con el manifold a una presión de -0.5 bares. El extracto de hexano/acetona fue evaporada completamente mediante una corriente suave de N₂.



Figura 3.4. Sistema de limpieza en cartucho con silica gel

3.1.5.1.4. Derivatización

La muestra extraída y evaporada de la columna de silica gel fue derivatizada adicionando una mezcla de 2 agentes derivatizantes y un catalizador (MSTFA/TMSI/DTE) con una proporción de 1,000/2/2: v/v/m. Se probaron diferentes tiempos de reacción (0, 15, 30, 45, 60 min) y cantidades de la mezcla de derivatizantes (50 y 100 μL) a una temperatura de 80°C, con el objeto de seleccionar las mejores condiciones para llevar a cabo una completa derivatización de los analitos. De acuerdo a los resultados obtenidos la cantidad de la mezcla de derivatizantes fue de 50 μL con un tiempo de reacción de 15 min a 80°C. Después de la reacción de derivatización, la muestra se dejó enfriar a temperatura ambiente y fue aforada a 1 mL con tolueno. Finalmente la muestra fue analizada por CG/MS/MS.

3.1.5.2. Tratamiento de la muestra en fase sólida (biomasa)

Se tomó 1 g en peso seco de la biomasa dentro del reactor, la cual fue conservada a una temperatura de -20°C. El procedimiento analítico consistió de una extracción sólido-líquido, seguido de una sonicación y centrifugación, filtración, limpieza con silica gel, extracción en fase sólida (C_{18}), y por último una derivatización.

Para determinar el mejor procedimiento del tratamiento de la muestra en fase sólida se realizaron diferentes pruebas, las cuales fueron:

- Extracción, sonicación y centrifugación, silica gel.
- Extracción, sonicación, centrifugación, filtración, silica gel.

- Extracción, sonicación, centrifugación, filtración, extracción en fase sólida.
- Extracción, sonicación, centrifugación, filtración, silica gel, extracción en fase sólida.
- Extracción, sonicación, centrifugación, filtración, extracción en fase sólida, silica gel.
- Extracción, sonicación, centrifugación, filtración, silica gel, extracción en fase sólida, silica gel.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el último punto fue el que generó una mejor limpieza de la muestra sólida.

3.1.5.2.1. Extracción sólido-líquido

A la muestra seca, se realizó una extracción con 4 y 3 mL de metanol y 2 veces con 3 mL de acetona para tener un total de 4 extracciones de la muestra. Para cada paso de extracción, la muestra fue sonicada a 100 V con una frecuencia de 50 Hz durante 10 min (Ultrasonicador modelo AS5150B Auto Science) y centrifugada a 3,000 r.p.m. por 5 min (Centrifugador clínico IEC).

Después de cada centrifugación, se tomaron los sobrenadantes y las 4 fracciones de los cuatro solventes fueron combinadas y filtradas a través de filtros de nylon (PALL, Alemania) de 25 mm x 0.45 μ m y reducidas aproximadamente hasta 200 μ L con una corriente suave de N₂. El 17 β -estradiol-17 β -acetato fue adicionado dentro de la biomasa en la primera fracción extraída con 4 mL de metanol.

3.1.5.2.2. Limpieza con silica gel

Una cantidad de 3 g de silica gel se calentó durante 8 h a 150°C y fue desactivada con 1.5% de agua desionizada (m/m). La silica gel desactivada fue transferida en la columna de plástico de 20 mL, a la cual se le adicionó 5 mL de una mezcla de hexano/acetona (65:35, v/v) y fue agitada durante 10 min. Antes de usarse, la columna fue limpiada con 5 mL de hexano/acetona. El extracto de metanol/acetona de la fase de extracción sólido-líquido fue transferido a la columna de silica gel. Finalmente los analitos fueron eluidos con 10 mL de la solución de hexano/acetona aplicando vacío con el manifold, a una presión de -0.5 bares. El extracto de hexano/acetona fue reducida hasta 200 μ L mediante una corriente suave de N₂.

3.1.5.2.3. Extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida se realizó utilizando cartuchos C₁₈, los cuales fueron acondicionados con 5 mL metanol, seguido por 10 mL de agua desionizada a pH de 3.

Una vez acondicionados los cartuchos, la muestra de 200 μL del extracto de hexano/acetona fue reconstituida con 10 mL de agua desionizada y la muestra fue ajustada a un pH de 3. Subsecuentemente, la muestra fue filtrada a través de los cartuchos C_{18} a una presión de -0.5 bares. Los cartuchos fueron secados durante 30 min con vacío. Los analitos fueron eluidos con 5 mL de metanol. El extracto de metanol fue reducido hasta 200 μL mediante una corriente suave de N_2 . El extracto de metanol se pasó nuevamente a una columna de silica gel siguiendo el procedimiento antes descrito, seguido de una completa evaporación de los solventes. Finalmente los analitos fueron derivatizados con el procedimiento de derivatización previamente explicado

3.1.6. Validación del método

El método fue probado para evaluar las recuperaciones (derivatización, extracción en fase sólida y cartuchos silica gel), su sensibilidad, la precisión y límites de detección y cuantificación. De acuerdo a la Comisión Europea (European Commission, 2007), se requieren un mínimo de cinco réplicas para verificar la precisión y los límites de detección y cuantificación para comprobar la sensibilidad del método. La validación del método analítico deberá demostrar que es capaz de dar valores de recuperaciones entre un 70 y 120% con un coeficiente de variación menor al 20% para todos los compuestos en estudio.

3.1.6.1. Recuperaciones

Para la evaluación de las recuperaciones se utilizaron estándares de los compuestos de interés en tres concentraciones, 0.1, 10 y 100 ng.L^{-1} las cuales fueron adicionadas a las muestras de agua residual con el objetivo de determinar los porcentajes de recuperación. La recuperación o recobro indica el porcentaje del analito obtenido luego del proceso de extracción. La concentración más baja trató de simular aquella a la que se desearía encontrar en el efluente del bio-reactor.

3.1.6.2. Límites de detección (LDD) y límites de cuantificación (LDC)

Para el cálculo del LDD en el agua residual se probaron 4 diferentes concentraciones de los analitos, las cuales fueron de 0.00001, 0.0001, 0.001 y 0.01 ng.L^{-1} . Las muestras fueron fortificadas con estas concentraciones de los analitos después del pre-filtrado, realizándose una extracción en fase sólida, limpieza silica gel, derivatización y su inyección al instrumento analítico.

Para la biomasa, una vez que se seleccionó el mejor método para la limpieza de la muestra, se calcularon los LDD y LDC en la biomasa mediante el siguiente procedimiento: se pesó 1 g de biomasa en peso seco pulverizado y se disolvió en 1 mL de metanol. A esta solución se le adicionaron una solución estándar de los compuestos

en estudio, para obtener una concentración de 0.01, 0.1, 1 y 100 ng.g⁻¹. Cada matraz se mantuvo a 200 rev/min en un multiagitador (Mistral) durante 24 h en un cuarto oscuro a temperatura ambiente con el objetivo de que el E1, E2 y EE2 alcanzaran el equilibrio entre la solución y el lodo. Después, se siguieron los diferentes pasos de extracción descritos en el apartado 3.1.5.2.1 y 3.1.5.2.3. De esta manera se determinaron los LDD y LDC en la biomasa.

El cálculo del límite de detección en el agua residual y la biomasa se hizo considerando el ruido base, el cual fue definido como tres veces el ruido base. Asimismo, el cálculo del LDD de baso adicionalmente en dos puntos: el tiempo de retención y en las proporciones de los iones carateristicos, los cuales deberían de ser preciso y coincidir en los estándares.

Para el cálculo del límite de cuantificación se determinó multiplicando el LDD por 3.18.

3.2. Metodología experimental (bio-reactores con membranas)

En este apartado se presentan la descripción de la metodología experimental.

3.2.1. Pruebas abióticas

La finalidad de las pruebas abióticas fue determinar las pérdidas por volatilización de los compuestos, la sorción de los compuestos en las tuberías y las paredes de los reactores y su adsorción sobre la composición del agua residual sintética. Se estudio el efecto de las membranas (sin biomasa) en la retención de los estrógenos. De esta manera se determinó las pérdidas de E1, E2 y EE2 sin la acción de los microorganismos.

3.2.1.1. Volatilización de los estrógenos

Se realizaron pruebas de volatilización con el objetivo de determinar las pérdidas por volatilización de los compuestos al ambiente. Las pérdidas por volatilización fueron determinadas en un frasco de ambar de 2 L. El frasco se llenó con agua desionizada a pH de 7 con concentraciones de E1, E2 y EE2 de 100 ng.L^{-1} . El agua fue aerada durante 24 h con un flujo de aire de 3 L.min^{-1} . Se tomó una muestra al inicio y al final de la prueba. Tres réplicas fueron realizadas. De esta manera se determinaron las pérdidas de los compuestos por volatilización.

3.2.1.2. Sorción de los estrógenos en las tuberías y paredes de los reactores

Se efectuaron pruebas de sorción para determinar si los compuestos modelos presentan una sorción sobre el material de construcción de los reactores. La prueba se efectuó en un reactor a nivel laboratorio (Figura 3.5) sin aereación con una caudal de alimentación de 3 L.d^{-1} durante 24 h. La alimentación estuvo constituida de agua desionizada a pH de 7 con concentraciones de E1, E2 y EE2 de 100 ng.L^{-1} . Se tomó una muestra al inicio y al final de la prueba. Tres réplicas fueron realizadas. De esta manera se determinaron las pérdidas por sorción de los compuestos en las tuberías y paredes del reactor.

3.2.1.3. Influencia de la composición del agua residual sintética en la remoción de los estrógenos

Al igual que la prueba anterior, se evaluó la influencia de la composición del agua residual sintética (nutrientes y oligo-elementos) sobre la remoción de los compuestos.

La prueba se efectuó en un reactor a nivel laboratorio sin aereación con una caudal de alimentación de 3 L.d⁻¹ durante 24 h. La alimentación estuvo constituida de agua desionizada a pH de 7 con concentraciones de E1, E2 y EE2 de 100 ng.L⁻¹ y con la adición de nutrientes y olio-elementos. Se tomó una muestra al inicio y al final de la prueba. Tres réplicas fueron realizadas. De esta manera se determinaron las pérdidas por adsorción de los compuestos sobre la composición del agua residual sintética.

3.2.1.4. Retención de los estrógenos en las membranas

El objetivo de esta prueba fue evaluar la capacidad de retención o adsorción de las membranas de polisulfona y de polifluoruro de vinilideno (PVDF) sobre los estrógenos. Los experimentos para las membranas de polisulfona fue llevado a cabo un reactor experimental a nivel laboratorio de 6 L y, para las membranas de PVDF, la prueba fue realizada en un tanque de 178 L. Los módulos de membranas fueron inmersas en sus respectivos tanques llenados con agua desionizada previamente acondicionada con los compuestos en estudio. Las pruebas tuvieron una duración de 24 h. Los módulos de membranas fueron operados bajo una filtración continua. Los módulos de membranas fueron alimentados solo con agua desionizada fortificada con los compuestos a pH de 7. La concentración de los compuestos en la alimentación fueron de 182, 113 y 119 ng L⁻¹ para el E1, E2 y EE2 respectivamente. La solución fue filtrada con un flux constante. Muestras de 1 L fueron tomadas del permeado de las membranas durante los siguiente intervalos de tiempo: 0, 60, 240, 420, 1,260 and 1,500 min. Inmediatamente despues, las muestras fueron analizadas por CG.

Asumiendo que la cantidad del E1, E2 y EE2 retenidos en las membranas es equivalente a la cantidad del E1, E2 y EE2 adsorbidos en las membranas, la retención de los compuestos en las membranas fue calculada mediante la siguiente ecuación 3.1.

$$R = 100 * \left(1 - \frac{C_p}{C_a}\right) \quad (3.1)$$

donde

R = retención en las membranas (%)

C_a = concentración en la alimentación (ng.L⁻¹)

C_p = concentración en el permeado (ng.L⁻¹)

3.2.2. Bio-reactores con membranas para la remoción de E1, E2 y EE2

3.2.2.1. Sistema experimental (BRM a nivel laboratorio)

Se utilizaron 3 reactores cilíndricos semi-automatizados a escala laboratorio (Figura 3.5a y 3.5b). Los reactores fueron construidos de vidrio. Cada reactor contó con una chaqueta de calentamiento para mantener una temperatura constante dentro del reactor de $25 \pm 3^\circ\text{C}$. Un módulo de membranas (Figura 3.6) 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 fue inmerso en cada reactor.

En la Tabla 3.1 se muestran las características de las membranas utilizadas en los BRM escala laboratorio. Cada reactor contaba con sus respectivas bombas para la transferencia del agua y con un arreglo de válvulas solenoides con sus respectivos temporizadores (reloj programable) para llevar a cabo ciclos de succión/retrolavado.

Una bomba peristáltica tipo Masterflex de control variable alimentó a los tres reactores aerobios en forma continua. La aeración se realizó por medio de 5 difusores de piedra porosa, el cual permitió un mezclado completo de la biomasa. Los difusores estaban colocados por debajo del módulo de membranas para realizar un flujo paralelo entre las burbujas de aire y la superficie de las membranas reduciendo el efecto de taponamiento de las membranas. El flujo de aeración fue de $5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ el cual fué controlado por medio de rotámetros (GILMONT[®]), asegurando concentraciones de oxígeno disuelto mayores a $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

La succión del permeado se realizó mediante una bomba peristáltica tipo Masterflex de control variable generando una presión negativa en el lado del permeado del módulo de membranas. Cada reactor utilizó 2 válvulas solenoides normalmente cerradas de $\frac{1}{4}$ de pulgada que estaban conectadas a un temporizador para controlar el paro y arranque de la bomba de succión y de la bomba de retrolavado.

Para el seguimiento de la colmatación de las membranas se medieron la presión transmembrana (PTM) y el flux como variables de repuesta. La medición de la PTM se realizó mediante un vacuómetro llenado con glicerina (Cole-Parmer). La medición del flux fue manual, mediante el aforo del permeado en una probeta graduada. Para disminuir el fenómeno de colmatación, un porcentaje del permeado se utilizó para el retrolavado del módulo. Durante el retrolavado se para la bomba de succión y se cierra la válvula 1 (V1), se enciende automáticamente la bomba de retrolavado y se abre la válvula 2 (V2). La bomba de retrolavado fue una bomba peristáltica tipo Masterflex de control variable. Durante toda la experimentación se trabajó en condiciones sub-críticas.

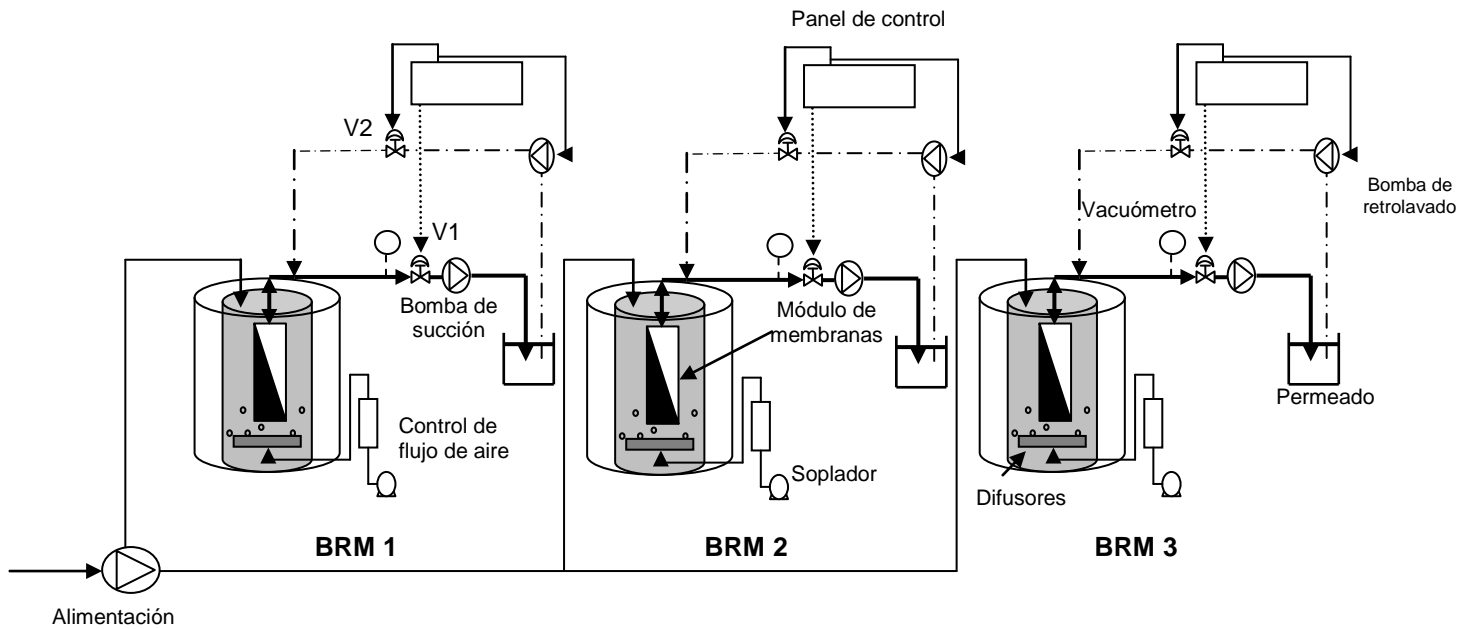


Figura 3.5. Sistemas experimentales: a) diagrama de los sistemas para la operación de los BRM; b) fotografía de los tres reactores



Figura 3.6. Módulo de membranas de fibra hueca de ultrafiltración (General Electric)

Tabla 3.1. Características del módulo de membranas de polisulfona

Características	Valor
Tamaño de corte molecular (kDa)	100
Área superficial (m ²)	0.042
Presión máxima de alimentación (kPa)	517
PTM máxima (kPa)	344
Rango de temperatura (°C)	0-80
Rango de pH	2-13
Lumen (mm)	1.0
Largo nominal (cm)	30
Material de construcción	Polisulfona

3.2.2.2. Flujo crítico y sub-crítico

El flujo crítico es un parámetro de operación importante para definir las condiciones hidrodinámicas óptimas. Las condiciones sub-críticas pueden definirse como las condiciones hidrodinámicas del flux, en las cuales la deposición de las partículas en la superficie de las membranas es menor y en el los cuales la PTM y el flux permanecen constantes a través del tiempo.

Existen muchas técnicas para la determinación del flujo crítico, sin embargo, el método escalonado o flux por pasos es el más utilizado (Defrance y Jaffrin, 1999). La medición del flujo crítico y sub-crítico se realizó en cada reactor escala laboratorio con un incremento del flux constante cada 30 minutos. Las pruebas se realizaron con agua desionizada (un solo reactor) y con agua a diferentes concentraciones de biomasa (4,000, 6,000 y 8,000 mg SSV.L⁻¹ para el BRM 1, BRM 2 y BRM 3 respectivamente). En todas las pruebas fueron evaluadas la evolución de la PTM, flux, resistencia total de filtración (R_T), permeabilidad (K) y la tasa de colmatación (dPTM/dt).

En general, para obtener los valores de flujo crítico y sub-crítico en los BRM, el flux fue incrementado de 4 hasta 44.3 L.m⁻².h⁻¹, con intervalos de 4-8 L.m⁻².h⁻¹ cada 30 minutos con filtración continua. Este incremento fue realizado controlando la velocidad de la bomba de succión para cada reactor. Al final de cada flux, se llevó a cabo una limpieza física de las membranas mediante un retrolavado intenso con agua desionizada durante 30 min, comenzando con el siguiente flux. La determinación de las zonas críticas y sub-críticas fueron determinadas cuando la PTM comenzó a incrementarse rápidamente a través tiempo y no permanecía constante a lo largo de los 30 min.

Para determinar la concentración de biomasa con las cuales operó cada reactor para la remoción de los estrógenos, se probaron las tres concentraciones de SSV seleccionadas anteriormente. El criterio fue obtener un flux alto con presiones relativamente bajas para cada concentración de SSV coadyuvando los problemas relacionados con la colmatación de las membranas. El intervalo de concentraciones del inóculo fue seleccionado considerando recomendaciones reportadas en la literatura, según las cuales, la concentración de la biomasa se sugiere entre 4,000 y 15,000 mg SSV.L⁻¹ (Cornel y Krause, 2006; Scholz y Fuchs, 2002). Se ha observado, que trabajando con concentraciones de biomasa mayores de 15,000 mg.L⁻¹ se presentan dificultades en la operación de los bio-reactores debido al aumento de la viscosidad del licor mezclado. Las zonas críticas y sub-críticas fueron determinadas para cada concentración de biomasa.

La resistencia total de filtración, la permabilidad y la tasa de colmatación de las membranas fueron calculadas utilizando las ecuaciones 3.2, 3.3 y 3.4 a partir de las mediciones del flux y PTMs.

$$R_T = \frac{PTM \text{ (kPa)}}{J \cdot \mu_{20^\circ C}} \quad (3.2)$$

$$\mu_{20^\circ C} = \mu_{T^\circ C} \theta^{(20-T)}$$

$$\theta = 1.033 \text{ para } 4^\circ C < T < 20^\circ C; \theta = 1.025 \text{ para } T \geq 20^\circ C$$

$$K = \frac{J}{PTM \text{ (bar)}} \quad (3.3)$$

$$\frac{dP}{dt} = \frac{PTM^n_{final} - PTM^n_{inicial}}{t^n_{final} - t^n_{inicial}} \quad (3.4)$$

3.2.2.3. Limpieza de las membranas

Los 3 BRM escala laboratorio fueron operados durante todo el periodo experimental en condiciones sub-críticas en un régimen continuo. Con la finalidad de disminuir aún más la colmatación de las membranas y poder prolongar el tiempo de operación de los BRM y la limpieza química de las membranas, se implementó una limpieza física periódica de las membranas en condiciones sub-críticas basadas en secuencias de

succión/retrolavado. Para lograr este objetivo, se seleccionaron 3 escenarios de succión y retrolavado (Tabla 3.2). Las mejores condiciones de succión/retrolavado implementadas en todo el periodo experimental para cada concentración de biomasa fueron seleccionadas de acuerdo a la respuesta de los siguientes parámetros: dPTM/dt, R, K, flux y PTM. El retrolavado se realizó con el 1% del permeado.

Tabla 3.2. Frecuencia de succión/retrolavado

Tiempo de succión (min)	Tiempo de retrolavado (s)
4	15
7	30
10	45

Una vez que se presentó una colmatación irreversible de las membranas (la cual fué inevitable durante el periodo experimental), el módulo de membranas fué extraído de los reactores. El módulo de membranas fué inmerso y expuesto durante 5 h en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) con una concentración de 100 mg.L⁻¹. Después del lavado alcalino, las membranas fueron inmersas en una solución ácida 1 M de ácido nítrico (HNO₃) por 5 h para terminar con un enjuague con agua desionizada. Realizado este procedimiento, las membranas fueron inmersas en el reactor biológico.

3.2.2.4. Arranque y operación de los BRM

El sistema experimental de BRM a nivel laboratorio trabajó en régimen continuo durante toda la experimentación. Se dejó que la biomasa se adaptara al agua residual sintética. Una vez aclimatada la biomasa a los estrógenos se procedió a operar a los BRM incrementando el tiempo de retención celular y probando diferentes tiempos de residencia hidráulica (TRH). Para observar y establecer un criterio sobre que parámetros y condiciones influyen sobre la remoción de los estrógenos fueron probados dos TRH y tres concentraciones de biomasa obteniéndose valores de tiempos de retención celular de 35, 45, 60, 76, y 95 d. Los TRH fueron de 7 y 12 horas. Durante el periodo experimental, la concentración de la biomasa en todos los reactores fue monitoreada. La biomasa fue purgada constantemente y los TRC fueron calculados. Una vez que los reactores alcanzaron 2 veces el TRC se obtenían las eficiencias de remoción de E1, E2 y EE2 para cada TRC.

En la Tabla 3.3 se muestran las condiciones de operación de los tres reactores para cada TRH. Las 3 concentraciones de biomasa fueron seleccionadas de acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas del flujo crítico y sub-crítico.

Tabla 3.3. Condiciones de operación de los BRM

Parámetro	BRM 1	BRM 2	BRM 3	BRM 1	BRM 2	BRM 3
TRH (h)	12	12	12	7	7	7
TRC (d)	35,75	45, 60	95	35	60	95
SSV (mg.L ⁻¹)	4,000	5,000	6,000	4,000	5,000	6,000

3.2.2.5. Agua residual sintética

El agua residual sintética se preparó con metanol (grado HPLC) como única fuente de carbono fácilmente biodegradable, nutrientes (nitrógeno y fósforo) y nutrientes traza (K, Fe, Mo, Ca, Mg, Zn, Mn), adicionada de E1, E2 y EE2 como compuestos disruptores endocrinos modelos. La adición de los nutrientes traza esta basado según Madigan *et al.* (2000). La composición del agua residual sintética se muestra en la Tabla 3.4. Las concentraciones de los estrógenos que se estudiaron fueron entre 20 y 456, eligiéndose estas concentraciones en función de las concentraciones detectadas en estudios previos en aguas residuales municipales.

Los efectos de inhibición y toxicidad del metanol en la vida acuática incluyendo a los microorganismos, se manifiestan a partir de concentraciones mayores a 11,850 mg.L⁻¹ (> 1%) (Anónimo, 2006). En este estudio, las concentraciones de metanol que se manejaron fueron entre 333 y 680 mg.L⁻¹ correspondiente a una concentración porcentual de 0.04% y 0.09% respectivamente. Por lo tanto, las concentraciones del metanol adicionadas en este estudio fueron mucho menores que el límite reportado que provoca toxicidad o inhibición en los microorganismos. Asimismo, durante el periodo experimental nunca se observó un efecto de inhibición en la biomasa (SSV) de los reactores.

Tabla 3.4. Composición del agua residual sintética

Compuesto	Concentración (mg.L ⁻¹)
Estrona	25-456 (ng.L ⁻¹)
17β-estradiol	20-406 (ng.L ⁻¹)
17α-etinilestradiol	30-384 (ng.L ⁻¹)
Metanol	333-680
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	0.132
MnSO ₄ .H ₂ O	0.04
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.03
EDTA	0.023
DQO	500-1000

Los criterios para la selección de los compuestos disruptores endocrinos fueron: mayor presencia en las aguas residuales municipales, persistencia en el medio ambiente y mayor disrupción endocrina en seres humanos y animales. Con base a estos criterios, se seleccionaron 2 hormonas naturales (E1 y E2) y una hormona sintética (EE2). Las concentraciones de E1, E2 y EE2 fueron seleccionadas de acuerdo a lo encontrado en los influentes de los sistemas de tratamiento de aguas residuales.

3.2.2.6. Inóculo

Los 3 reactores fueron inoculados con lodos activados provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA). Para la caracterización de los lodos activados que se utilizaron como inóculos se determinaron los sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV) e índice volumétrico de lodos (IVL) (APHA, 1999).

3.2.3. Determinación del coeficiente de adsorción (K_D) en el lodo activado

La determinación de los valores de los coeficiente de adsorción K_D de E1, E2 y EE2 fueron llevados a cabo mediante isotermas de adsorción (prueba de jarras) de acuerdo

a Xu *et al.* (2008) y Ternes *et al.* (2004). Los experimentos fueron realizados con cantidades de 200 mL de biomasa (licor mezclado) obtenida de los BRM escala laboratorio. Para prevenir la biodegradación de los compuestos, la biomasa fue desactivada adicionado 500 mg.L⁻¹ de Azida de Sodio (NaN₃) con un tiempo de exposición de 24 h antes de las pruebas. Después de éste tiempo, la biomasa fue lavada varias veces con agua fresca con el objetivo de eliminar el compuesto tóxico. Con el objeto de evaluar la actividad de la biomasa desactivada, se realizó la determinación de la tasa de respiración. Para la determinación de K_D, la biomasa desactivada fué aforada a 2 L con agua desionizada y los compuestos fueron adicionados en el siguiente rango de concentraciones: 16, 28, 68, 106, 147 y 226 ng.L⁻¹ para el E1, 21, 45, 68, 93, 115 y 165 ng.L⁻¹ para el E2 y para el EE2 de 11, 28, 57, 80, 112 y 204 ng.L⁻¹. La concentración de SST y SSV determinadas en las jarras fueron de 1,200 mg.L⁻¹ y < 10 mg.L⁻¹. Las jarras fueron agitadas a 120 r.p.m. Las muestras fueron tomadas en los siguientes intervalos de tiempo: 0, 15, 30, 60, 180, 300 y 420 min. Una vez terminado cada tiempo, las muestras se dejaron sedimentar durante 30 min. El sobrenadante fue tomado y filtrado a través de filtros de fibra de vidrio y analizadas por CG. Para prevenir la fotocatalisis, las pruebas de las isotermas de adsorción fueron llevadas a cabo en un cuarto oscuro a 28°C. Dos réplicas (prueba de jarras) fueron corridas en paralelo. La cantidad de soluto adsorbido por unidad de lodo en el estado de equilibrio fue calculado por la ecuación 3.5.

$$\frac{x}{m} = \frac{S_o - S_{eq}}{m} V \quad (3.5)$$

Donde V (L) es el volumen de la solución, S_o (ng.L⁻¹) es la concentración inicial, S_{eq} (ng.L⁻¹) la concentración en el equilibrio, m (g) es el peso del lodo. El modelo lineal de la ecuación 3.6 fue utilizado para determinar el coeficiente de adsorción.

$$\frac{x}{m} = K_D S_{eq} \quad (3.6)$$

3.2.4. Contribución de la biodegradación, adsorción y volatilización en la remoción de E1, E2 y EE2

3.2.4.1. Experimentos en batch: cinéticas de remoción de los estrógenos

El objetivo de esta prueba fue determinar los mecanismos de remoción de los estrógenos mediante cinéticas de remoción en batch.

Los experimentos en batch fueron conducidos con biomasa nitrificante la cual fue tomada de los BRM escala laboratorio una vez terminado el periodo experimental en continuo. El TRC del licor mezclado fue de 60 d. La biomasa fue tomada de los BRM 5 horas antes de los experimentos en batch incluyendo 1 hora de incubación dentro de los reactores. 8 reactores de acrílico de 2.5 L fueron utilizados para este estudio. Los reactores fueron inoculados con $1,500 \text{ mg SST.L}^{-1}$. En la Figura 3.7, se muestra el esquema de los reactores utilizados (sin membranas). Un flujo de aire de 550 mL.min^{-1} fue suministrado en cada reactor asegurando concentraciones de oxígeno disuelto más grande que 2 mg.L^{-1} . El pH dentro de los reactores fue de 7-7.3. Con el objetivo de prevenir la fotocatalis y la fotobiodegradación, los experimentos fueron llevados a cabo en un cuarto oscuro a 28°C . Las muestras fueron tomadas en los siguiente intervalos de tiempo: 0, 15 (R1), 30 (R2), 60 (R3), 180 (R4), 360 (R5), 720 (R6), 980 (R7) y 1,440 (R8) min. Cada muestra correspondiente a cada intervalo de tiempo fue sedimentada y 1 L de sobrenadante fue tomada. Muestras líquidas y sólidas fueron tomadas simultáneamente. Como control de los experimentos, se realizaron pruebas abióticas con el objeto de determinar las pérdidas por volatilización de los compuestos. Las muestras fueron tomadas en los siguientes tiempos: 0, 15, 30, 60, 180, 360, 720, 980 y 1,440 min. Todas las muestras fueron colectadas en frascos de ambar e inmediatamente después fueron ajustadas a pH de 3 y subsecuentemente fueron filtradas a través de filtros de fibra de vidrio de $120 \text{ mm} \times 1 \mu\text{m}$. Las muestras de lodos inmediatamente después del muestreo fueron sujetas a un calentamiento a 110°C durante 24 h. Las muestras fueron analizadas por CG mediante el procedimiento anteriormente descrito. Seis replicas se realizaron para este experimento.



Figura 3.7. Esquema experimental utilizados en las cinéticas de remoción

Para describir las cinéticas de remoción de los estrógenos y determinar el orden de la reacción se utilizaron los modelos de orden cero (ecuación 3.7), de primer orden (ecuación 3.8), pseudo primer orden (ecuación 3.9), Monod (ecuación 3.10) y pseudo primer orden considerando el coeficiente de adsorción K_D (ecuación 3.13).

$$\frac{dS}{dt} = k \quad (3.7)$$

$$\frac{dS}{dt} = kS \quad (3.8)$$

$$\frac{dC}{dt} = k * SST * S \quad (3.9)$$

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S} \quad (3.10)$$

Donde S es la concentración soluble del compuesto (ng.L^{-1}), t es el tiempo (d), k la constante de reacción, SST es la concentración de sólidos suspendidos totales (g.L^{-1}), μ la tasa de crecimiento específico de la biomasa (d^{-1}), μ_{max} la tasa máxima de crecimiento específico de la biomasa (d^{-1}) y K_s la constante de saturación (ng.L^{-1}).

3.2.4.1.1. Pseudo cinética de primer orden a partir del coeficiente K_D

Para determinar la ecuación de pseudo cinética de primer orden a partir del coeficiente K_D , la ecuación 3.9 fue ajustada considerando el coeficiente de adsorción K_D . El propósito de este ajuste fue determinar como influye K_D en la remoción de los estrógenos. Si menos del 10% del compuesto es adsorbido en el lodo, el término $K_D S S T = X/C \leq 0.1$ de la ecuación 3.11 no se toma en cuenta, ya que el compuesto es considerado como hidrofílico. De acuerdo con los resultados de las isotermas de adsorción la K_D de E1, E2 y EE2 fueron mayores a 0.2 L.g^{-1} , por lo tanto, el término $K_D S S T$ fue considerado (ecuación 3.11).

$$C = S + X = S(1 + K_D S S T) \quad (3.11)$$

Donde C ($C= S+X$) es la concentración total del compuesto (ng.L^{-1}) y X la concentración del compuesto adsorbido expresado por unidad del volumen de reactor (ng.L^{-1}).

Para evitar mediciones laboriosas y para determinar las concentraciones adsorbidas en el lodo se puede utilizar la ecuación 3.12 usando solo la concentración soluble de los compuestos.

$$X = K_D * SST * S \quad (3.12)$$

Se asume que la adsorción de los estrógenos en la biomasa es rápida comparado con la degradación biológica (Wang y Grady, 1995). Sustituyendo la ecuación 3.12 y 3.11 en la ecuación 3.9, la disminución en la concentración del compuesto en la solución se puede expresar mediante la ecuación 3.13. La determinación de k , se realizó mediante la linearización por Lineweaver-Burk (Flogler, 2001) representada matemáticamente mediante la ecuación 3.14.

$$\frac{dS}{dt} = \frac{-k}{1 + K_D * SST} SST * S \quad (3.13)$$

$$\frac{1}{-dS/dt} = \frac{1 + K_D * SST}{-k * SST * S} = \frac{1}{-k SST * S} + \frac{K_D}{-k} \frac{1}{S} = \frac{1}{S} \left(\frac{1}{-kSST} + \frac{K_D}{-k} \right) \quad (3.14)$$

$$\text{La pendiente} = \frac{1}{-k} \left(\frac{1}{SST} + K_D \right)$$

De la pendiente (m) se obtiene k referente a los SST.

3.2.5. Agua sintética

Los reactores en la pruebas batch, fueron alimentados con agua residual sintética conteniendo metanol como fuente de carbon y energía. Estrógenos, nutrientes (nitrógeno y fósforo) y oligo-elementos fueron adicionados a la alimentación. La composición del agua residual sintética se muestra en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5. Composición del agua residual sintética para experimentos en batch

Compuesto	Concentración (mg.L⁻¹)
E1	170 (ng.L ⁻¹)
E2	126 (ng.L ⁻¹)
EE2	129 (ng.L ⁻¹)
DQO (Metanol)	1034
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	0.132
MnSO ₄ .H ₂ O	0.04
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.03
EDTA	0.023

3.2.6. Bio-reactor con membranas a nivel piloto para el tratamiento de un agua residual municipal

Como parte de la investigación se realizaron pruebas a nivel piloto mediante un bio-reactor con membranas sumergidas, el cual fué conformado por un tanque de aeración con un volumen de trabajo de 178 L, un panel de control del proceso con su respectivo temporizador para controlar los tiempos de succión/retrolavado, soplador, vacuómetro, bomba de succión/retrolavado. La microbomba tiene la capacidad de realizar la succión y el retrolavado. El módulo de membranas fue una unidad de fibra hueca de ultrafiltración de material polimérico PVDF (polifluoruro de vinilideno), el cual tiene un tamaño de poro de 0.04 µm con un área superficial de 0.93 m² y un tamaño de corte molecular de 100 kDa. En la siguiente Figura 3.8 se muestra el esquema del BRM.

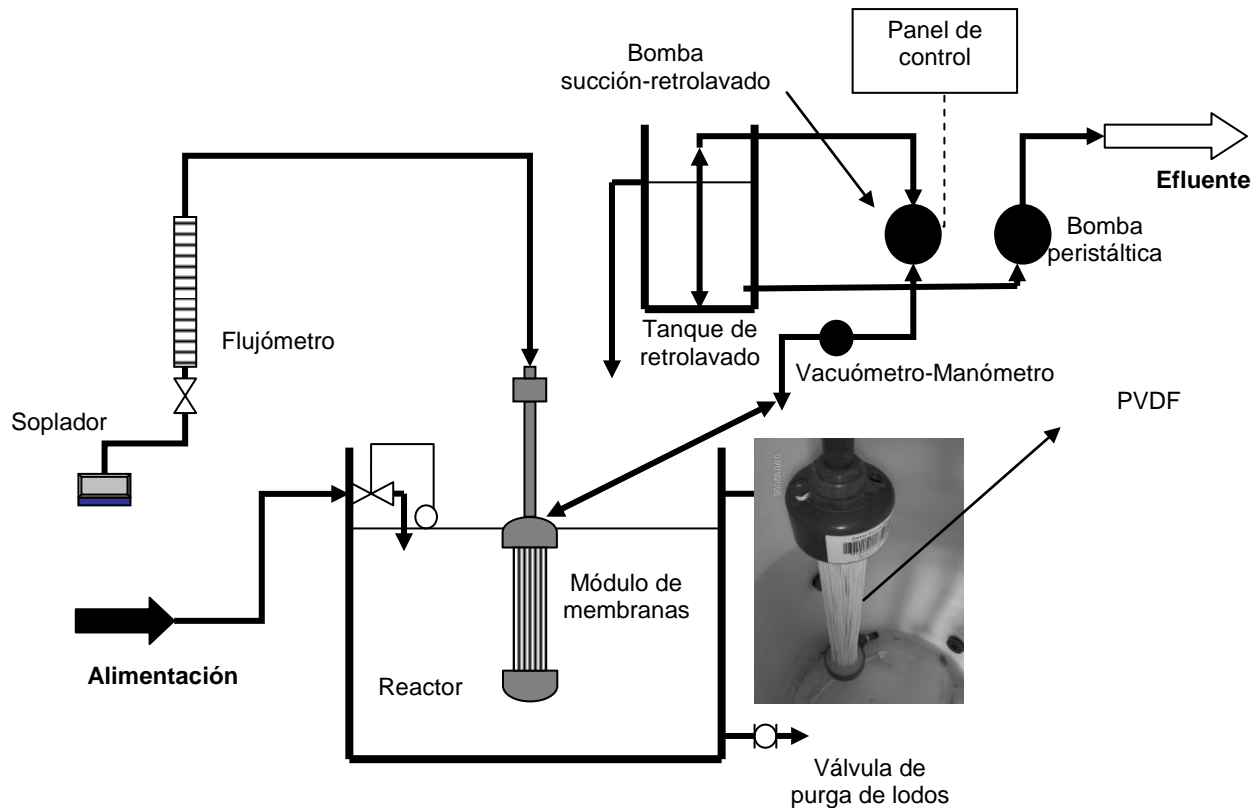


Figura 3.8. Bio-reactor con membranas a nivel piloto

Para evaluar el proceso y establecer que parámetros influyen sobre la remoción de los estrógenos con un agua real, fueron probados diferentes TRH y TRC.

Antes del arranque y operación del BRM piloto se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente para determinar el flujo crítico y sub-crítico con una concentración de biomasa de $7,260 \text{ mg SSV.L}^{-1}$. Para obtener los valores de flujo crítico y sub-crítico, el flux fue incrementado de 10 hasta $80 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ con intervalos de $6\text{-}10 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ cada 30 min.

La condición para la limpieza física de las membranas mediante la estrategia de succión/retrolavado fue fijada de acuerdo a las especificaciones del fabricante (20 min filtrado/20 s retrolavado). La limpieza química se realizó sumergiendo las membranas en un baño de $200 \text{ mg NaClO.L}^{-1}$ y con ácido clorhídrico a pH de 2. La duración de cada baño fue de 5 h.

3.2.6.1. Inóculo

El bio-reactor con membranas fue inoculado con licor mezclado proveniente de un sistema convencional de lodos activados que trata aguas residuales municipales (IMTA).

3.2.6.2. Agua residual municipal

El BRM piloto fue alimentado con un agua residual municipal real proveniente del Emisor Central y del Gran Canal del Desagüe de la zona metropolitana de la Ciudad de México (Distrito Federal). El agua residual fue caracterizada previamente con el objeto de detectar la presencia de E1, E2 y EE2.

3.2.7. Balances de masas

Para entender el transporte y distribución de los estrógenos en un BRM es esencial obtener información entre la fase líquida y la fase sólida, y de esta manera establecer los mecanismos de remoción (proceso de biodegradación y adsorción) que intervienen en la remoción de los compuestos. Por lo tanto, un balance de masas fue aplicado a los sistemas considerando las concentraciones en la fase disuelta y sólida.

Para determinar el porcentaje de estrógenos removidos por biodegradación y por adsorción se realizó un balance de masas de acuerdo a la Figura 3.9 considerando la concentración de los estrógenos adsorbidos en la biomasa y el coeficiente K_D .

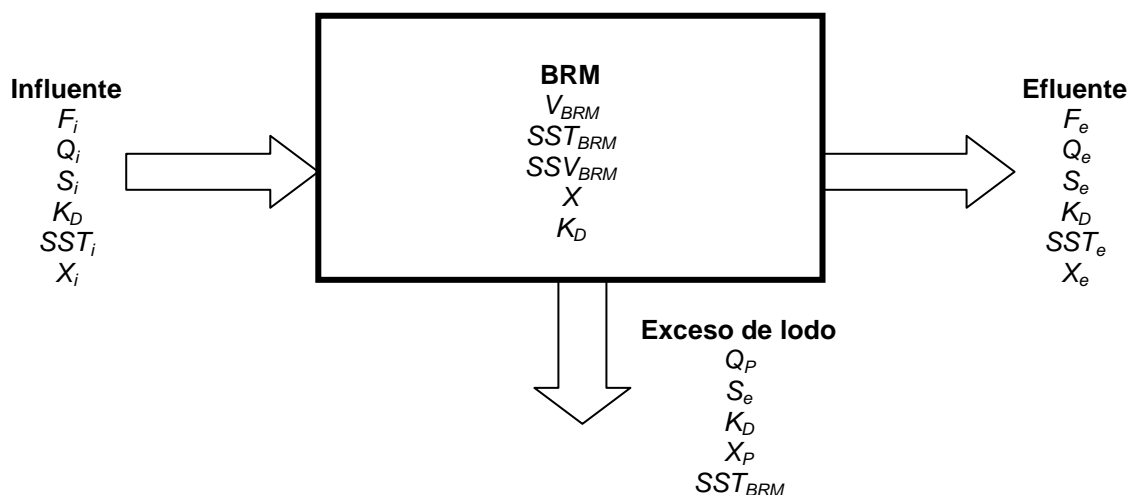


Figura 3.9. Esquema del BRM para el balance de masas

donde

F_i = flujo másico de estrógenos en el influente ($\text{ng}\cdot\text{d}^{-1}$)

F_e = flujo másico de estrógenos en el efluente ($\text{ng}\cdot\text{d}^{-1}$)

F_p = flujo másico de estrógenos en la purga de lodos ($\text{ng}\cdot\text{d}^{-1}$)

Q_i = caudal influente ($\text{m}^3\cdot\text{d}^{-1}$ o $\text{L}\cdot\text{d}^{-1}$)

Q_e = caudal efluente ($\text{m}^3\cdot\text{d}^{-1}$ o $\text{L}\cdot\text{d}^{-1}$)

Q_p = caudal de purga en el BRM ($\text{m}^3\cdot\text{d}^{-1}$ o $\text{L}\cdot\text{d}^{-1}$)

S_i = concentración del estrógeno en el influente ($\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$ o $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)

S_e = concentración del estrógeno en el efluente ($\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$ o $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)

SST_i = concentración de sólidos suspendidos totales en el influente ($\text{kg}\cdot\text{L}^{-1}$ o $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

SST_e = concentración de sólidos suspendidos totales en el efluente ($\text{kg}\cdot\text{L}^{-1}$ o $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

SST_{BRM} = concentración de sólidos suspendidos totales en el BRM ($\text{kg}\cdot\text{L}^{-1}$ o $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

SSV_{BRM} = concentración de sólidos suspendidos volátiles en el BRM ($\text{kg}\cdot\text{L}^{-1}$ o $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

$X = X_p$ concentración de estrógenos en la biomasa o en la purga de lodos ($\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$)

X_i = concentración de estrógenos en los sólidos del influente ($\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$)

X_e = concentración de estrógenos en los sólidos del efluente ($\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$)

K_D = coeficiente de adsorción ($\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$)

V_{BRM} = Volumen de trabajo del BRM (L)

3.2.7.1. Balance de masas considerando la concentración del compuesto en la fase líquida y sólida (Método 1)

El balance de masas mediante el método 1 esta basado en las concentraciones de los estrógenos en el agua y en los sólidos. El flujo másico de los compuestos en influente, efluente y purga de lodos fue determinado de acuerdo a la Figura 3.9 y se representan en las siguientes ecuaciones 3.15, 3.16 y 3.17.

$$F_i = Q_i (S_i + SST_i X_i) \quad (3.15)$$

$$F_e = Q_e (S_e + SST_e X_e) \quad (3.16)$$

$$SST_e = 0 \quad X_e = 0$$

$$F_p = Q_p (S_e + SST_{BRM} X_p) \quad (3.17)$$

3.2.7.2. Balance de masas considerando la concentración en la fase líquida y el coeficiente K_D (Método 2)

Para el cálculo del balance de masas mediante el método 2 se realizó solo tomando los datos de la concentración de los estrógenos la fase líquida y los valores de los coeficientes de adsorción K_D de cada compuesto.

Partiendo de la definición de $K_D = X/S$ y sustituyendo esta expresión en las ecuaciones 3.15, 3.16 y 3.17 se obtuvieron las ecuaciones 3.18, 3.19 y 3.20 correspondiente al flujo

másico del compuesto en el influente, efluente y purga de lodos del BRM respectivamente.

$$F_i = Q_i S_i (1 + SST_i K_D) \quad (3.18)$$

$$F_e = Q_e S_e (1 + SST_e K_D) \quad (3.19)$$

$$SST_e = 0$$

$$F_p = Q_p S_e (1 + SST_{BRM} K_D) \quad (3.20)$$

Las ecuaciones desarrolladas anteriormente identifican las remociones de E1, E2 y EE2 mediante un BRM: la fracción removida por biodegradación y adsorción. De acuerdo a las características fisicoquímicas de los estrógenos y a los resultados obtenidos en las pruebas abióticas y cinéticas, la contribución por volatilización en la remoción global de los estrógenos no fue tomada. La eficiencia de remoción global de los estrógenos fue calculada mediante la diferencia entre el flujo másico del influente y el flujo másico del efluente dividido entre el flujo másico total en la entrada del BRM.

La remoción de los estrógenos por biodegradación fué calculada utilizando la ecuación 3.21 y la remoción por adsorción se calculó usando la ecuación 3.22.

$$R_{bio} = \frac{F_i - F_e - F_p}{F_i} \quad (3.21)$$

$$R_{ads} = \frac{F_p}{F_i} \quad (3.22)$$

La ecuaciones 3.21 y 3.22 determinaron el transporte y distribución de E1, E2 y EE2 en un BRM. La suma de las dos fracciones más la fracción remanente en el efluente es igual a 1 ($R_{bio} + R_{ad} + R_{ef} = 1$).

3.2.8. Mediciones y análisis físicoquímicos

El comportamiento y la efectividad de los sistemas fueron evaluados con base en diferentes parámetros determinados periódicamente en diferentes puntos de muestreo. Los parámetros y el programa de muestreo se muestran en la Tabla 3.6.

Tabla 3.6. Programa de muestreo de los sistemas experimentales

Parámetro	Punto de muestreo	Frecuencia
pH	Influente, reactor, permeado	Diario
Temperatura	Influente, reactor, permeado	Diario
Conductividad	Influente, reactor, permeado	Diario
OD	Influente, reactor, permeado	Diario
Flux	Permeado	Diario
Presión transmembrana	-	Diario
Tasa de respiración	En el reactor	1/semana
Índice volumétrico de lodos (IVL)	En el reactor	1/semana
DQO _T	Influente, permeado	2 /semana
N-NH ₄ ⁺ , N-NO ₂ ⁻ , N-NO ₃ ⁻ , N _T	Influente, permeado	2/semana
Turbiedad y color	Influente, permeado	2/semana
SST, SSV	Influente, reactor, permeado, concentrado	1/semana
Estrógenos	Influente, permeado	2/semana
Estrógenos	Lodo activado	1/15 días

3.2.9. Métodos de análisis (Métodos APHA)

La medición del pH, temperatura, conductividad, oxígeno disuelto (OD), DQO, nitrógeno amoniacal (N-NH₄⁺), nitrógeno de nitritos (N-NO₂⁻), nitrógeno de nitratos (N-NO₃⁻), turbiedad, color, SST y SSV fueron determinados de acuerdo a los métodos recomendados por Standard Methods For Examination of Water and Wastewater (APHA, 1999). En la Tabla 3.7 se enlistan los parámetros, métodos y equipos usados en las determinaciones.

Tabla 3.7. Técnicas utilizadas para el control del sistema

Parámetro	Técnica
pH	Potenciométrico
Temperatura	Electrodo
Conductividad	Electrodo
OD	Electrodo
DQO	Espectrofotométrico (HACH)
N-NH ₄ ⁺ , N-NO ₂ ⁻ , N-NO ₃ ⁻	Espectrofotométrico (HACH)
Turbiedad y color	Espectrofotométrico (HACH)
SST, SSV	Gravimétrico

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Método cromatográfico

4.1.1. Identificación de los estrógenos mediante cromatografía de gases

Como primera etapa de la estrategia de detección de los compuestos seleccionados para este estudio se probaron las condiciones del cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas/masas reportados previamente en la literatura (Ternes *et al.*, 2002; Huang y Sedlak, 2001). En la Tablas 4.1 y 4.2 se muestran las condiciones del cromatógrafo y del espectrómetro para la detección de los compuestos de forma individual en altas concentraciones (10 mg.L^{-1}) en el modo SCAN. La columna utilizada para estas pruebas fue una columna VF-17ms de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro y 0.25 μm de grosor con una fase 50% fenil + 50% dimetilpolisiloxano.

Tabla 4.1. Condiciones del cromatógrafo

Temperatura del inyector	250 °C
Flujo de división	20 mL.min^{-1}
Inyección	2 μL
Flujo de la columna	1 mL.min^{-1}
Gas acarreador	Helio, presión 13.9 psi
Rampa de temperatura	50°C (3.5 min); 20°C. min^{-1} hasta 240°C; 2°C. min^{-1} hasta 290°C; 290°C (10 min)

Tabla 4.2. Condiciones de operación del espectrómetro de MS/MS

Tiempo de escaneo	0.5 s/escaneo
Voltaje del multiplicador	200 volts
Corriente de emisión	90 microamperes
Modo de ionización	Electroionización con 70 eV
Temperatura de la fuente impacto de electrones	250 °C
Ventana para MS/MS	3 m/z

Se prepararon soluciones individuales de los analitos los cuales fueron disueltos en metanol a una concentración de 10 mg.L^{-1} de cada compuesto. La solución fue evaporada completamente con una corriente suave de N_2 . La muestra fue derivatizada adicionando un volumen de 50 μL de la mezcla de derivatizantes. La muestra fue

calentada a 80°C por 1 h de acuerdo a lo reportado por Ternes *et al.* (2002). El objetivo de esta prueba fue identificar el espectro de masas de cada compuesto.

En la Figura 4.1 se muestran los espectros y cromatogramas de los estrógenos, los cuales fueron inyectados a una concentración de 10 mg.L⁻¹. Los resultados obtenidos mostraron que el equipo con la columna utilizada fue capaz de detectar a los compuestos en estudio. La relación masa/carga (m/z) correspondiente a 73 pertenece al grupo –Si(CH₃)₃ (fragmento TMS(trimelsilil)) que es la característica principal del estrógeno derivatizado. La relación m/z o el ion precursor de cada compuesto corresponde a 342, 416, 425 y 386 para el E1, E2, EE2 y E2-acetato respectivamente.

En la Tabla 4.3 se presentan los tiempos de retención de cada compuesto así como su ion precursor con el método probado.

Tabla 4.3. Tiempos de retención e iones precursores de los estrógenos

Compuestos	Tiempo de retención (min)	Ion precursor y iones característicos (m/z)
E1	31.250	<u>342</u> ; 218, 257
E2	28.395	<u>416</u> ; 285
EE2	31.523	<u>425</u> ; 285, 440
E2-acetato	33.078	<u>386</u> ; 244

4.1.2. Identificación de estrógenos mezclados

Con los resultados obtenidos de las soluciones individuales se preparó una solución compuesta por los tres estrógenos seleccionados a una concentración de 2 µg.L⁻¹, los cuales fueron inyectados al sistema acoplado CG-MS/MS con las mismas condiciones del apartado 4.1.1. En este caso, solamente se modificó la rampa de temperatura la cual fue de 80°C (5 min); 25°C.min⁻¹ hasta 240°C; 10°C.min⁻¹ hasta 290°C; 290°C (10 min). El objetivo de modificar el gradiente de temperatura fue acortar el tiempo de retención de los compuestos. Con estas condiciones el tiempo de la corrida fue de 26.4 min para cada compuesto individual.

Como podemos observar en la Figura 4.2 el cromatógrafo detectó a los 3 compuestos mezclados en una concentración de 2 µ.L⁻¹ detectándose con tiempos de retención por debajo de los 23 min, los cuales fueron más cortos comparados con los compuestos de forma individual. Este comportamiento fue debido a que se modificó la trampa de temperatura. Como se observa en el cromatograma solo se pudieron separar 3 picos, en uno de ellos coluyeron el E1 y EE2.

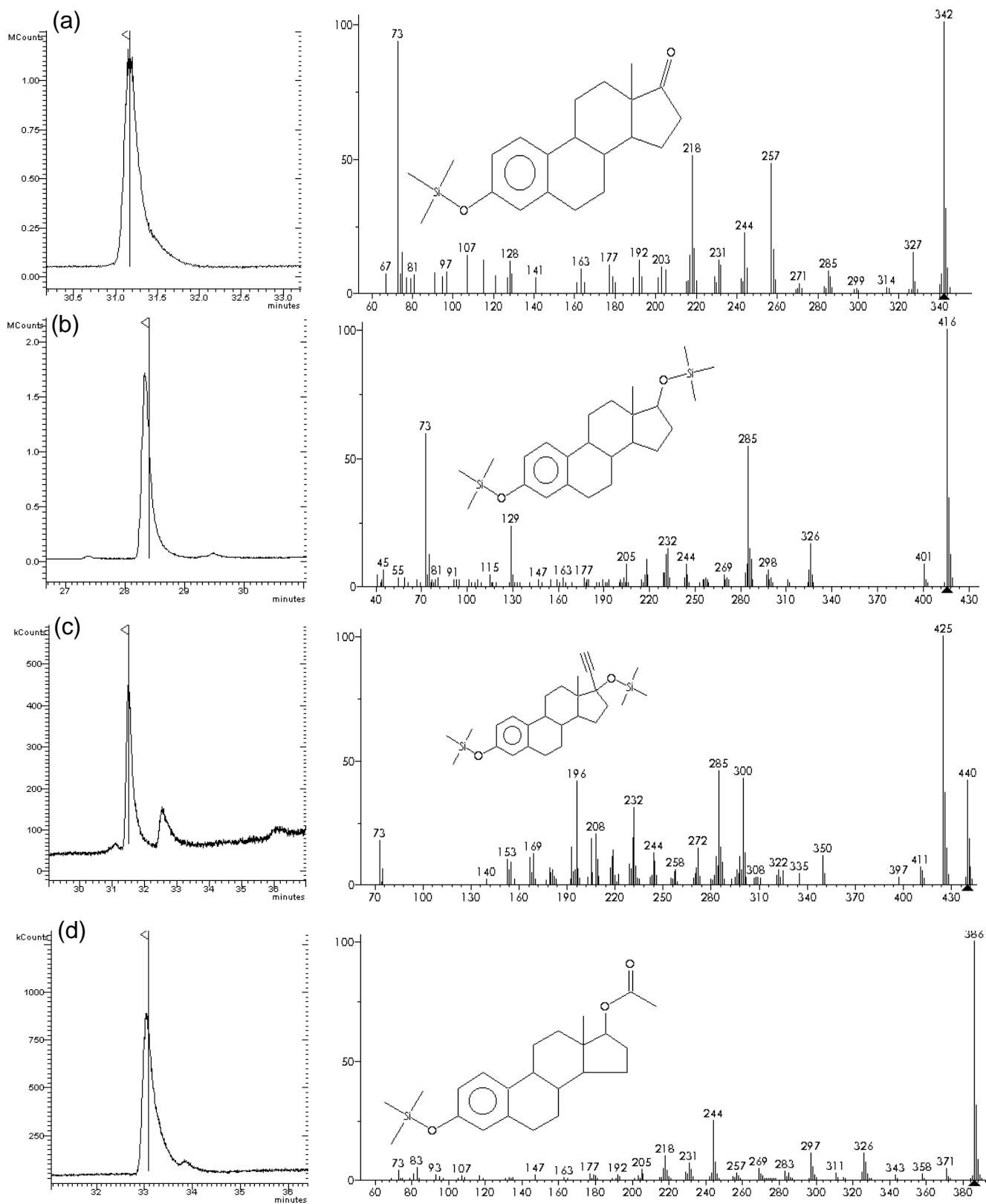


Figura 4.1. Cromatogramas y espectros de los estrógenos; a) E1, b) E2, c) EE2 y d) E2- acetato (surrogado)

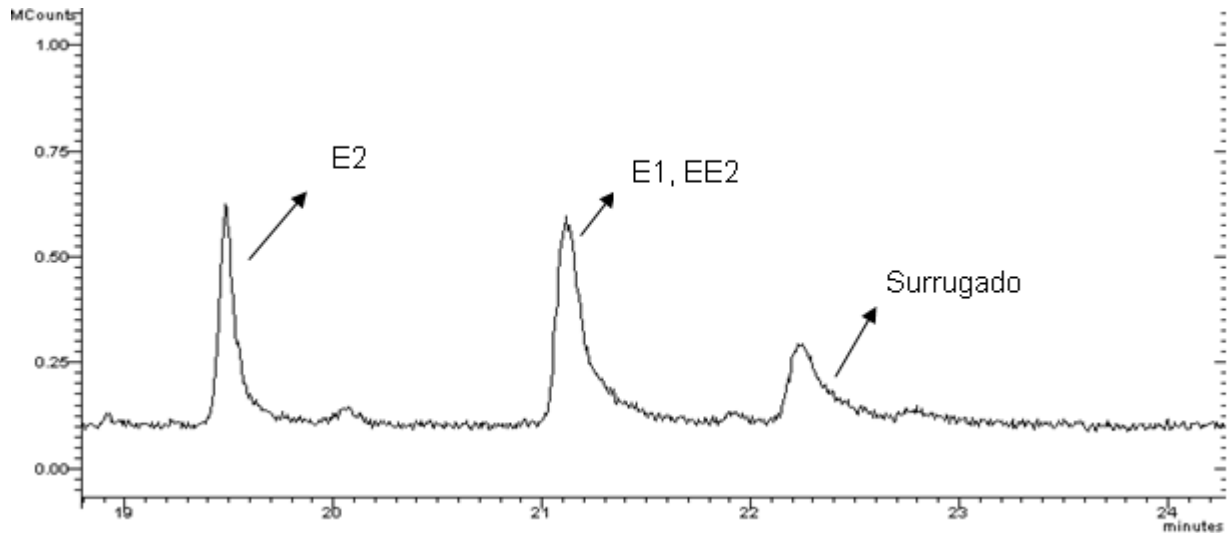


Figura 4.2. Cromatograma de los estrógenos a una concentración de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$

Debido a que no se observaron los 4 compuestos, se propuso otro método el cual consistió en modificar nuevamente la rampa de temperatura con el objeto de separar los picos que coluyeron y disminuir los tiempos de retención. La rampa de temperatura que se propuso en esta prueba fue el siguiente: 150°C (5 min); $25^{\circ}\text{C.min}^{-1}$ hasta 240°C ; $10^{\circ}\text{C.min}^{-1}$ hasta 290°C ; 290°C (10 min). Como podemos observar en la Figura 4.3 con este método, los tiempos de retención de los compuestos disminuyeron, sin embargo, los dos compuestos coluidos no fueron separados.

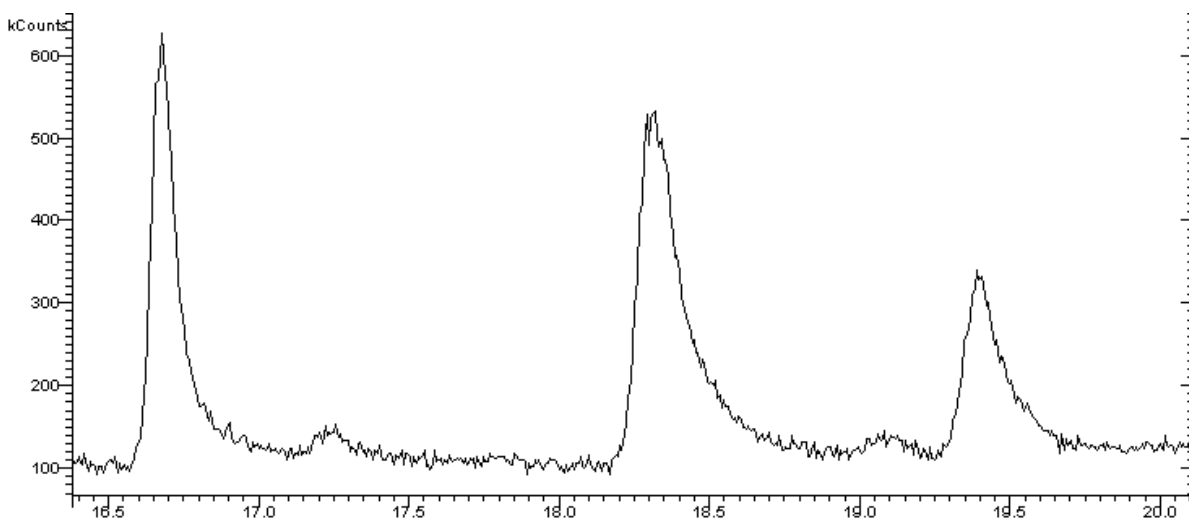


Figura 4.3. Cromatograma de los estrógenos a una concentración de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ con tiempos de retención por debajo de 20 min

Cabe mencionar que hasta aquí, el espectrómetro de MS/MS trabajó en el modo SCAN. A partir de las pruebas siguientes y en todo el periodo experimental, los compuestos fueron detectados en el modo SIM.

De acuerdo a esto, se propuso otro método para poder separar el E1 y el EE2, el cual nuevamente consistió en modificar solamente la rampa de temperatura operando en el modo SIM. La rampa de temperatura propuesto en esta prueba fue el siguiente: 160°C (3.5 min); 25°C.min⁻¹ hasta 260°C; 2°C.min⁻¹ hasta 280°C; 280°C (5 min); 20°C.min⁻¹ hasta 300°C; 300°C (1 min). Con este método propuesto se puede observa en la Figura 4.4 la separación del E1 y EE2.

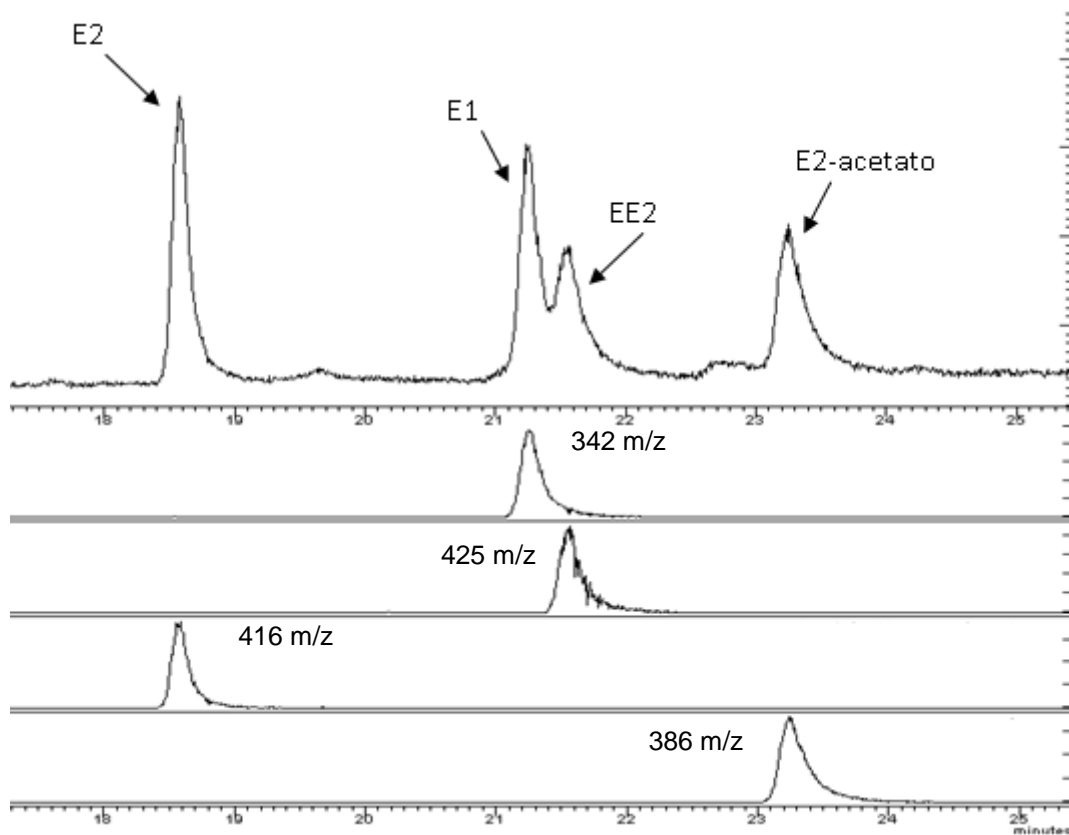


Figura 4.4. Cromatograma de E1, E2 y EE2 mediante el modo SIM a una concentración de 2 µg.L⁻¹

No obstante, aunque se separaron ligeramente los dos compuestos que estaban coluyendo fue necesario implementar otro método con el objetivo de separar aun más la distancia entre los picos del E1 y el EE2. Este método consistió en una inyección de los compuestos hecha con pulsos de presión, esto ayuda a que los compuestos se enfoquen y por lo tanto se presentan señales más intensas y picos más definidos. El

pulso de presión aplicado fue de 30 psi con una duración de 0.5 min. La rampa de temperatura que se utilizó fue la misma que el método anterior. Se puede observar en la Figura 4.5 que la separación de los picos no mejoró y se aumentaron los tiempos de retención, sin embargo, con esta ligera separación de los picos y con las condiciones de operación de los equipos seleccionadas hasta este momento se realizó la prueba de la optimización de la derivatización de los compuestos.

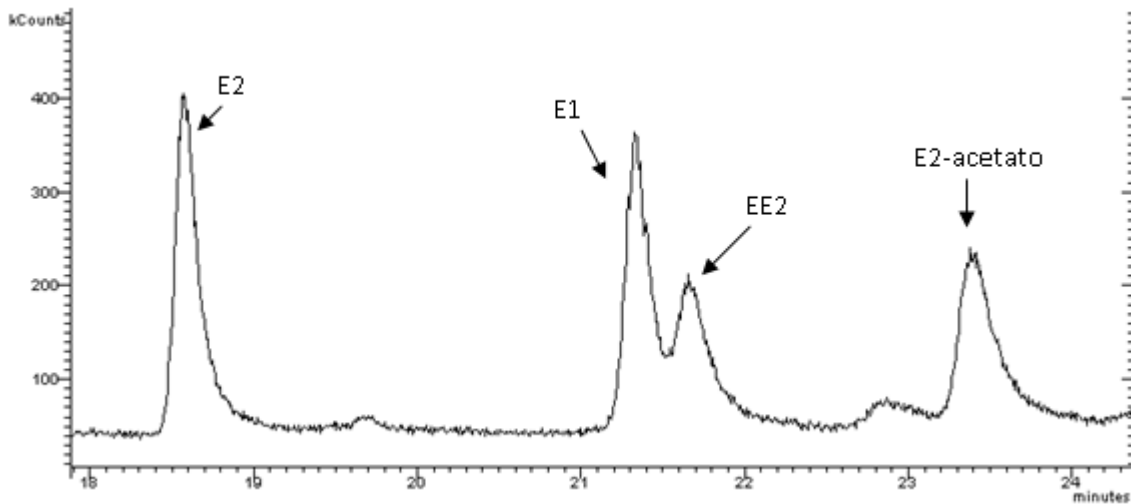


Figura 4.5. Cromatograma de los estrógenos para la separación del E1 y el EE2 mediante pulsos de presión a una concentración de $2 \mu\text{L}^{-1}$

4.1.3. Optimización de la derivatización

El objetivo de esta prueba fue el de establecer las mejores condiciones para llevar a cabo una derivatización más completa de los analitos en un menor tiempo y con menor cantidad de derivatizante. Se probaron 2 cantidades de la mezcla de derivatizantes, los cuales fueron de 50 y 100 μL y tiempos de reacción (t) de 0, 15, 30, 45 y 60 min. La temperatura a la cual fue llevada a cabo la derivatización fue de 80°C en todas las determinaciones. La concentración de los estrógenos para esta prueba fue de $2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Para cada volumen de la mezcla de derivatizantes y para cada tiempo de reacción se realizaron 5 replicas. Se observó que aplicando un volumen de 50 μL de la mezcla de derivatizante fue suficiente para que se llevara una derivatización de los analitos (Figura 4.6). Los coeficientes de variación para ambos volúmenes fueron menores a 7%. Para un $t = 0$ min, el coeficiente de variación para el E1, E2 y EE2 fueron del 30%, lo que indica que la reacción no es del 100%. Se determinó que el mejor tiempo para llevar a cabo la reacción del derivatizante sobre los analitos fue para un tiempo de 15 min (Figura 4.7), obteniéndose coeficientes de variación para los tres compuestos menores a 7.4%. Los resultados experimentales mostraron que la reacción de

silanización comienza al momento de adicionar la mezcla de derivatizantes con los compuestos seleccionados ($t = 0$ min) a temperatura ambiente y con 15 min a 80°C fue suficiente para llevar a cabo una completa derivatización de los analitos.

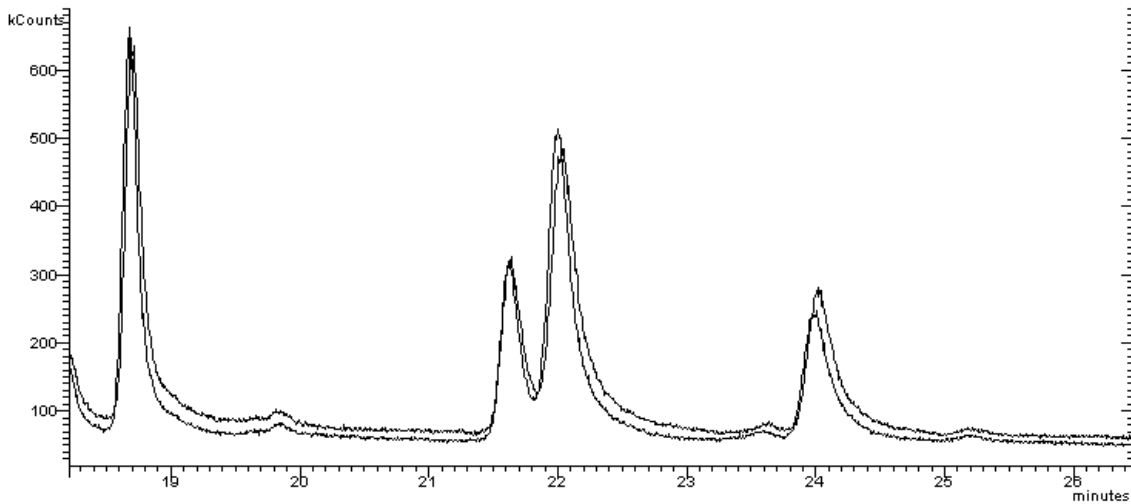


Figura 4.6. Cromatógrama sobre la influencia del volumen de la mezcla de derivatizantes a una concentración de los analitos de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$

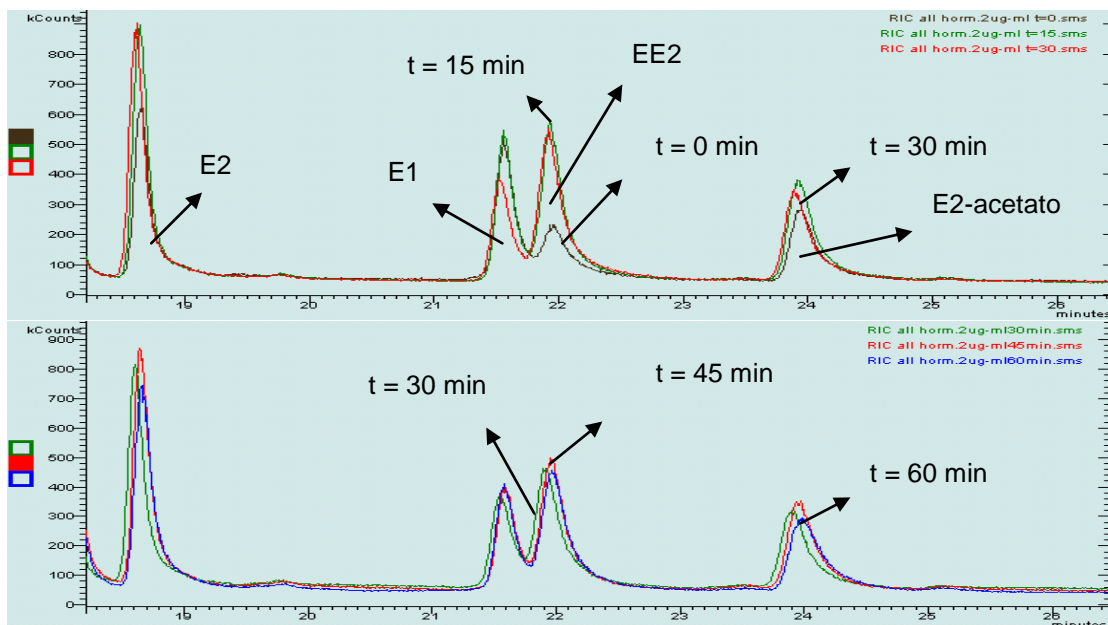


Figura 4.7. Cromatógrama de los compuestos con diferentes tiempos de reacción para llevar a cabo la derivatización de los analitos a una concentración $2 \mu\text{g.L}^{-1}$

Por otro lado, se realizó una prueba en cual se comparó el efecto de la evaporación del derivatizante con una corriente suave de N₂ y sin la evaporación del derivatizante después del tiempo de reacción. Se observó que con la eliminación del derivatizante después de la reacción, una parte de los analitos también son evaporados ó volatilizados por lo que no se recomienda eliminar el agente derivatizante después de su reacción.

4.1.4. Pruebas con columnas VF-17ms y VF-5ms

Con el objeto de seleccionar las mejores condiciones para la detección de los estrógenos en el cromatógrafo fué probada otra columna de diferente fase (5% fenil) de 30 m de longitud, 0.25 de diámetro y 0.25 µm de grosor. Como se puede observar en la Figura 4.8 existe una gran diferencia tanto en la resolución y separación de los picos, su forma gaussiana y en los tiempos de retención con la columna VF-5ms respecto a la columna VF-17ms. Para la columna VF-5ms, el primer compuesto que eluye es el E1 seguido del E2, surrogado y por último el EE2. Para la columna VF.17ms el compuesto que eluye primero es el E2 seguido del E1, EE2 y el surrogado. El cromatograma de la Figura 4.8a corresponde a una concentración de los compuestos de 2 µg.L⁻¹. El cromatograma de la Figura 4.8b corresponde a una concentración de los compuestos de 100 ng.L⁻¹. Se observa que la fase 5% fenil presenta una mayor afinidad con el E1, E2 y EE2 aun en bajas concentraciones comparado con la fase de 50% fenil. Por lo tanto, la columna que se ocupo para la detección de los estrógenos seleccionados durante toda la fase experimental fue la columna capilar de sílice fundida VF-5ms %5 fenil (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm).

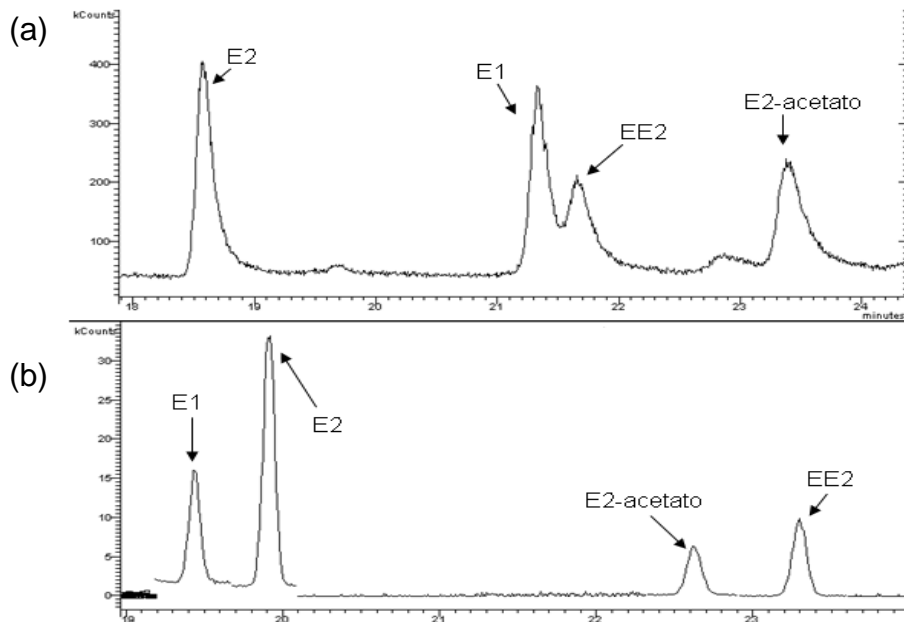


Figura 4.8. Cromatógramas; a) columna VF-17ms y b) columna VF-5ms

En la Tabla 4.4 se presentan los tiempos de retención para cada compuesto con las columnas utilizadas.

Tabla 4.4. Tiempos de retención con diferentes columnas

Compuestos	Columna VF-17ms	Columna VF-5ms
	Tiempo de retención (min)	Tiempo de retención (min)
E1	21.45	19.45
E2	18.6	19.93
EE2	21.7	23.3
E2-acetato	23.45	22.62

Finalmente se probaron dos métodos para afinar las condiciones del espectrómetro de MS/MS, el cual consistió en la variación del voltaje del multiplicador y la corriente de emisión. Se realizó un aumento del voltaje de 200 volts (pruebas anteriores) a 250 volts y de 250 volts a 300 volts. Con la prueba en donde el voltaje del multiplicador fue de 300 volts se aumentó la corriente de emisión de 90 μ amperes (pruebas anteriores) a 100 μ amperes.

En la Figura 4.9 se muestra el cromatógrama en los cuales fueron modificados los valores del voltaje del multiplicador y de la corriente de emisión. Las señales que representan los picos más bajos representan al voltaje del multiplicador de 250 volts con una corriente de emisión de 90 microamperes. Las señales que presentan a los picos más altos representan el valor del voltaje de 300 volts con una corriente de emisión de 100 μ amperes. Se puede observar claramente que aumentando los valores del voltaje del multiplicador y de la corriente de emisión, el área de los picos aumenta. Las concentraciones de E1, E2 y EE2 en esta prueba fueron de 10 ng.L^{-1} .

La última prueba consistió en modificar únicamente la rampa de temperatura con las mejores condiciones determinadas en las pruebas anteriores. La rampa de temperatura que se probó fue el siguiente: 160°C (1 min), 25°C min^{-1} hasta 260°C, 2°C min^{-1} hasta 280°C; 280°C (2 min). En la Figura 4.10 se muestra que para concentración de 1 ng.L^{-1} de los compuestos, la señal de los picos generó un alto grado de resolución con picos bien definidos y con una abundancia (área de los picos) fácilmente cuantificables. Asimismo, con el programa de temperaturas probado se redujo aún más los tiempos de retención de los compuestos en el cromatógrafo de gases (Tabla 4.5).

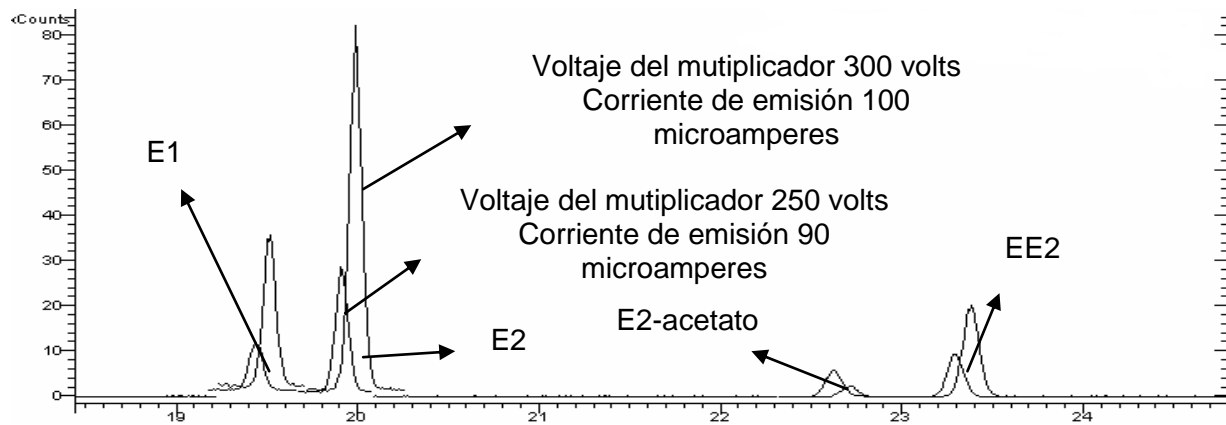


Figura 4.9. Cromatógrama de los estrógenos aumentando el voltaje del multiplicador y la corriente de emisión para una concentración de 10 ng.L^{-1}

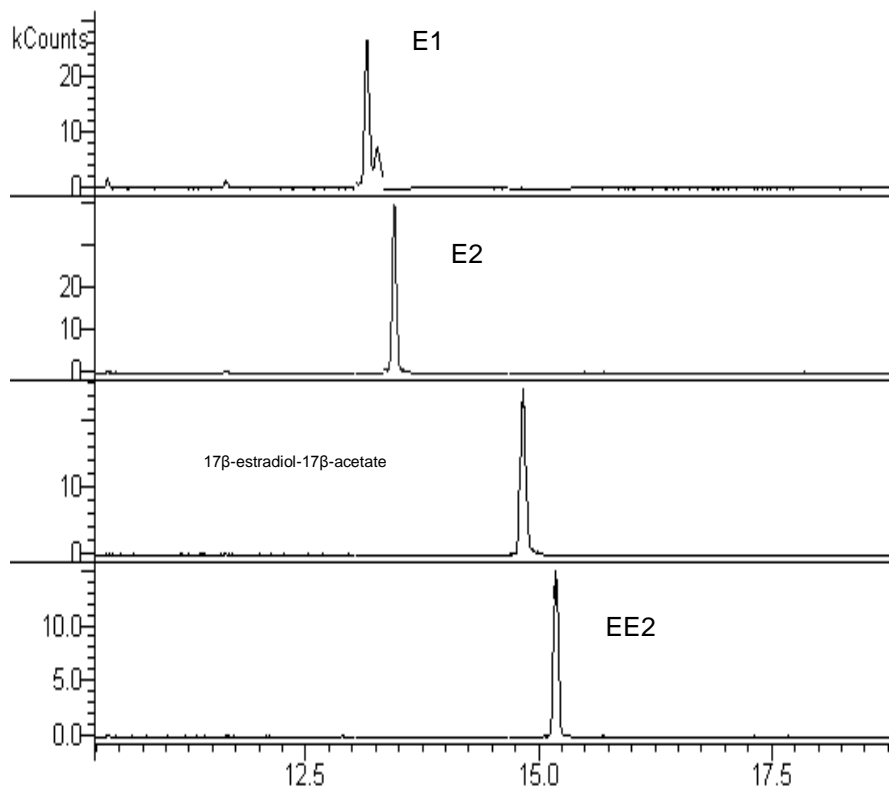


Figura 4.10. Cromatógrama de los estrógenos a una concentración de 1 ng.L^{-1} con un rampa de temperatura de 160°C (1 min), $25^\circ\text{C min}^{-1}$ hasta 260°C , 2°C min^{-1} hasta 280°C ; 280°C (2 min)

Tabla 4.5. Tiempos de retención de E1, E2 y EE2

Compuesto	Tiempo de retención (min)
E1	13.188
E2	13.473
EE2	15.234
E2-acetato	14.883

4.1.5. Resumen de las condiciones de operación del cromatógrafo de gases y espectrómetro de masas/masas seleccionadas para la detección de E1, E2 y EE2 en aguas y lodos residuales

En la Tabla 4.6 y 4.7 se muestran las mejores condiciones de operación de los equipos obtenidas durante las diferentes pruebas realizadas para la detección de los compuestos en el rango de ng.L^{-1} . Durante toda la fase experimental que corresponde en el arranque y operación de los BRM, pruebas abióticas y cinéticas de remoción se trabajaron con las condiciones de operación que se muestran en la Tabla 4.6 y 4.7.

Tabla 4.6. Condiciones seleccionadas para el cromatógrafo de gases

Temperatura del inyector	250 °C
Inyección	3 μL (Splitless (3 s))
Flujo de la columna	1 mL.min^{-1}
Gas acarreador	Helio, presión 13.9 psi
Gradiente de temperatura	160°C (1 min), 25°C min^{-1} hasta 260°C, 2°C min^{-1} hasta 280°C; 280°C (2 min).

Tabla 4.7. Condiciones de operación en el espectrómetro de MS/MS

m/z	Monitoreo selectivo de iones (SIM) (342+416+425+386)
Voltaje del multiplicador	300 volts
Modo de ionización	Electroionización con 70 eV
Temperatura de la fuente impacto de electrones	230 °C
Amplitud de excitación	0.2 volts
Corriente de emisión	100 microamperes
Ventana para MS/MS	3 m/z

4.1.6. Validación del método

El objetivo de la validación del método fue evaluar el proceso para determinar la aptitud del sistema de medición y proporcionar datos confiables.

4.1.6.1. Tratamiento de las muestras en aguas residuales y biomasa

En la Figura 4.11 se muestra el procedimiento del tratamiento de la muestra en el agua residual líquida.

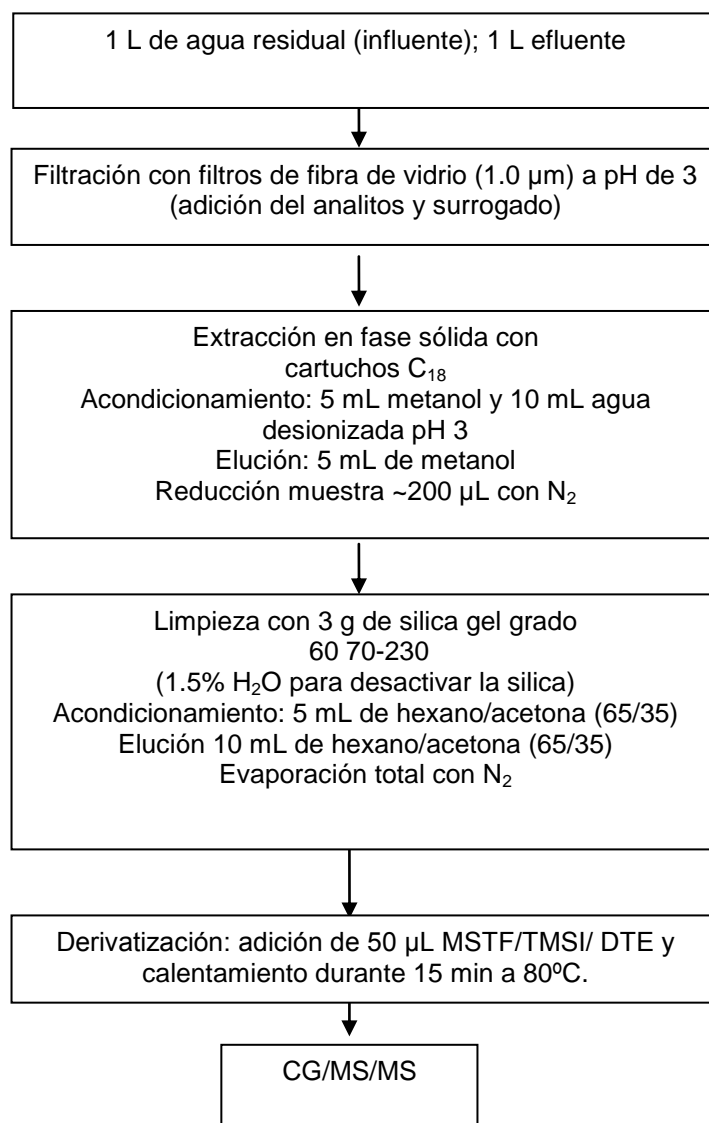


Figura 4.11. Tratamiento de la muestra para el agua residual

En la Figura 4.12 se presenta el procedimiento seleccionado para la extracción de los compuestos en estudio adsorbidos en la biomasa.

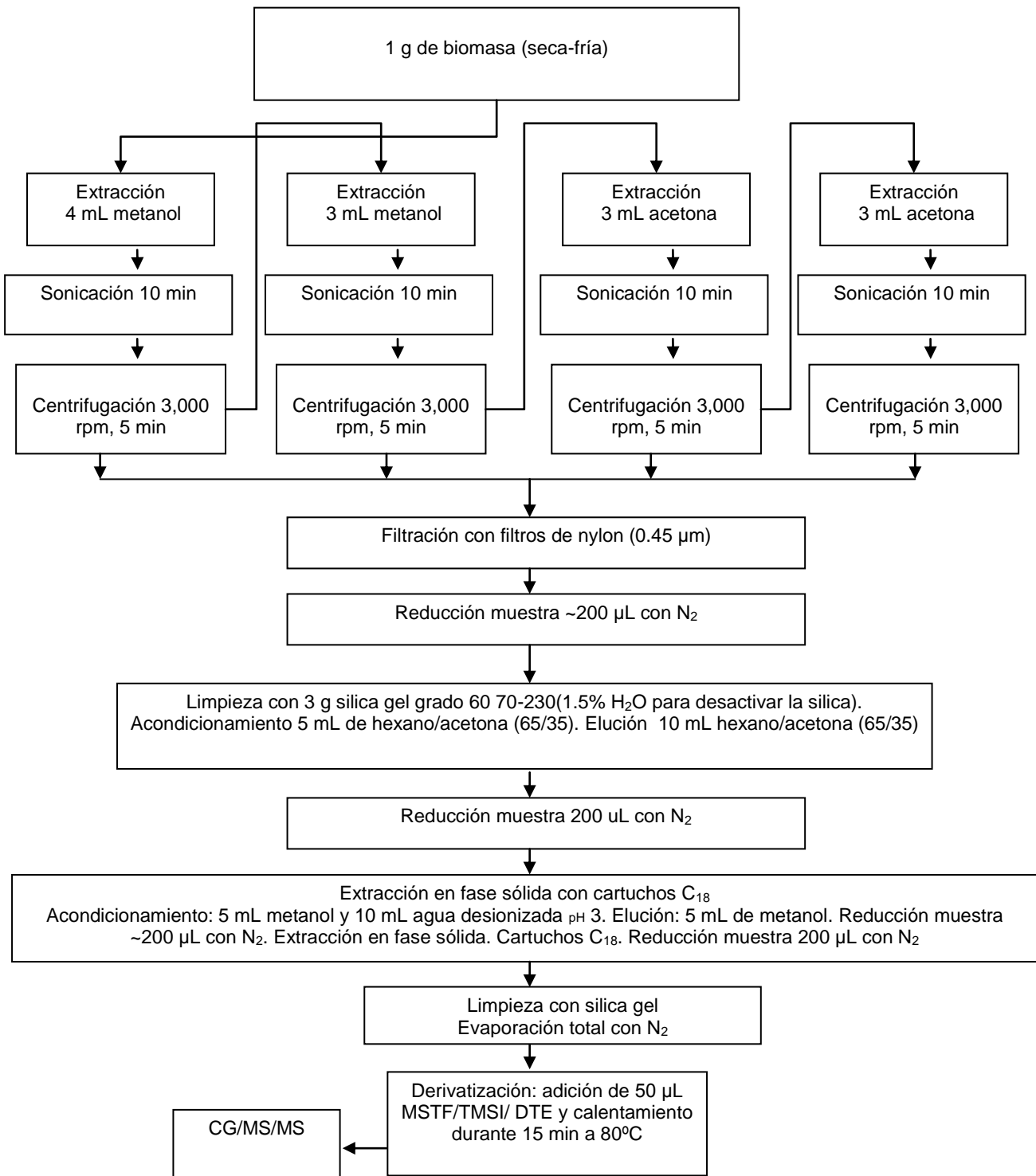


Figura 4.12. Tratamiento de la muestra para la biomasa

4.1.6.2. Límites de detección y cuantificación

Los límites de detección y cuantificación para el instrumento, agua residual y biomasa se muestran en la Tabla 4.8. Los valores obtenidos del LDD en el agua residual y en la biomasa para los 3 compuestos fueron obtenidos de acuerdo a la señal y al ruido base de 4 diferentes concentraciones. El Figura 4.13 se muestra el LDD de los tres compuestos en el agua residual. El mismo procedimiento fue seguido para el cálculo del LDD en la biomasa. El LDD fué definido como la concentración del elemento que producirá un cociente de la señal/ruido (S/R) de 3. Así, el límite de detección considera la amplitud de la señal y el ruido de la línea base, además la concentración más baja que se puede distinguir claramente a partir del cero. Para el cálculo del límite de detección para el instrumento se realizó mediante soluciones sintéticas, mientras que para el agua residual y la biomasa se siguieron los pasos de la Figura 4.11 y 4.12.

El cálculo del LDC se determinó con la siguiente ecuación 4.1.

$$\text{LDC} = 3.18 * \text{LDD} \quad (4.1)$$

Tabla 4.8. Determinación del LDD y LDC de los estrógenos en el agua residual y la biomasa

Compuesto	Instrumento	Agua residual		Biomasa	
	LDD (ng.L ⁻¹)	LDD (ng.L ⁻¹)	LDC (ng.L ⁻¹)	LDD (ng.g ⁻¹)	LDC (ng.g ⁻¹)
E1	0.0006	0.001	0.03	1.5	4.8
E2	0.0007	0.005	0.016	0.7	2.1
EE2	0.004	0.05	0.16	2	6.4

Se muestra que para una concentración de 0.00001 y 0.0001 ng.L⁻¹ (en agua residual), los compuestos no pueden ser detectados ya que para estas concentraciones la señal del ruido es más grande que la señal de los compuestos. Sin embargo, para una concentración de 0.001 y 0.01 ng.L⁻¹, los compuestos si pueden ser detectados fácilmente obteniéndose una relación S/R (señal/ruido) de 3.

Los límites de detección para el agua residual fueron establecidos por la alta sensibilidad analítica del instrumento y el volumen de la muestra más que por los componentes de la matriz. Para la biomasa, la muestra fue menos limpia y los límites fueron establecidos en parte por la respuesta de la matriz en las muestras.

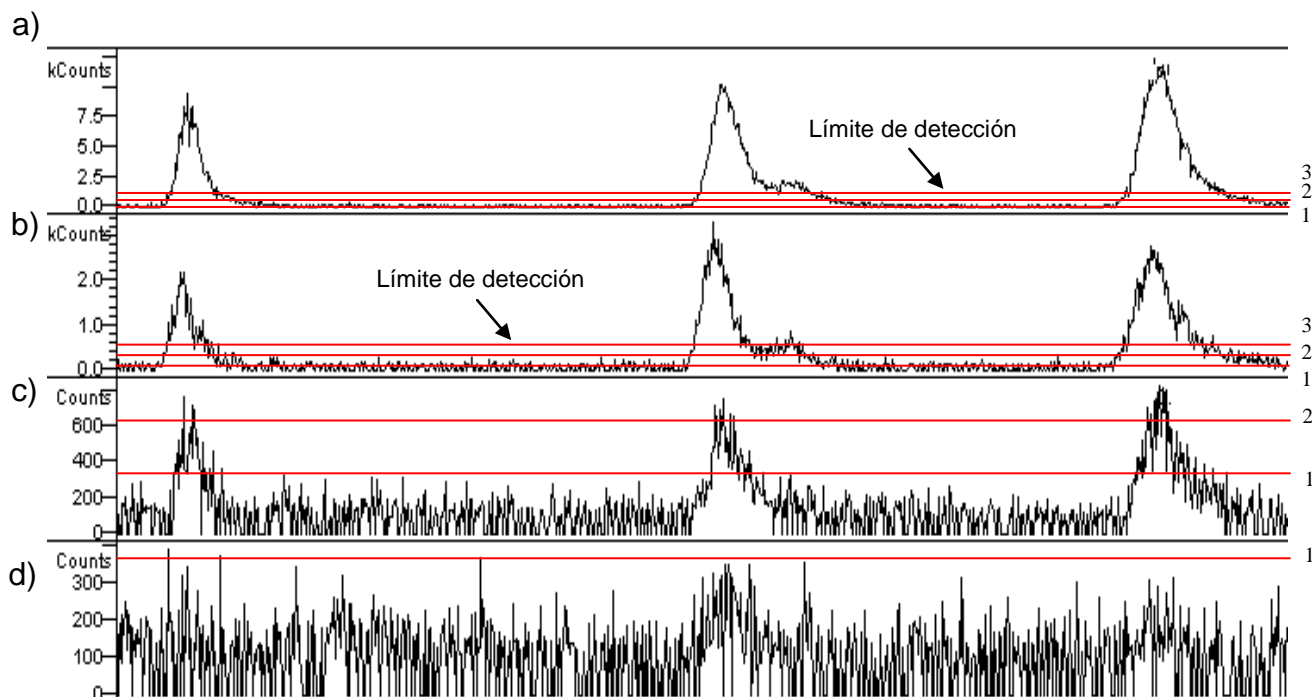


Figura 4.13. Cromatógrama para el cálculo del límite de detección de los estrógenos de acuerdo a la relación S/R. (a) 0.01 ng.L^{-1} , (b) 0.001 ng.L^{-1} , (c) 0.0001 ng.L^{-1} y (d) $0.00001 \text{ ng.L}^{-1}$

4.1.6.3. Recuperaciones

La eficiencia de la extracción se cálculo mediante la comparación de las relaciones de área de los compuestos eluidos (muestra de agua residual fortificada) del cartucho C_{18} y de los estándares sin extraer. Mientras que para el cartucho de silica gel, la recuperación se cálculo mediante la comparación de las relaciones de área de los compuestos eluidos del cartucho y de los analitos después de la extracción en fase sólida. En la Tabla 4.9 se presentan las recuperaciones en los cartuchos C_{18} y silica gel. Los recobros se obtuvieron a partir de 7 muestras de 1 L fortificadas con los estándares en tres niveles de concentración 0.1 , 10 y 100 ng.L^{-1} .

Las recuperaciones promedio variaron del 78 al 104% para la fortificación más baja en ambos cartuchos y de 84 al 100% para las fortificaciones de 10 y 100 ng.L^{-1} . Asimismo los coeficientes de variación fueron menores al 14% para la fortificación más baja y por debajo de 11% para las fortificaciones más altas. Por lo tanto, las recuperaciones que se obtuvieron por ambos cartuchos son altas y confiables, por lo que se demostró que los cartuchos C_{18} y la silica gel son adecuados para la retención del E1, E2 y EE2 y la limpieza de impurezas dentro de la matriz respectivamente, generando elevada y reproducibles recuperaciones para estos estrógenos.

Tabla 4.9. Recuperaciones de los estrógenos en agua residual en cartuchos C₁₈ y silica gel

Compuesto	Recuperaciones (%)			Recuperaciones (%)		
	Extracción en fase sólida			Silica gel		
	0.1 (ng.L ⁻¹)	10 (ng.L ⁻¹)	100 (ng.L ⁻¹)	0.1 (ng.L ⁻¹)	10 (ng.L ⁻¹)	100 (ng.L ⁻¹)
E1	97 ± 8*	94 ± 6	100 ± 5	104 ± 12	89 ± 7	92 ± 9
E2	102 ± 5	92 ± 6	97 ± 3	96 ± 7	89 ± 8	95 ± 6
EE2	78 ± 7	88 ± 7	94 ± 9	94 ± 14	84 ± 11	88 ± 9

*coeficiente de variación (CV)

Con las muestras de las siete réplicas anteriores se evaluó la recuperación y la repetibilidad en la derivatización de los analitos. En la Tabla 4.10 se observa que los analitos extraídos del agua residual se obtuvieron recobros mayores al 89% con coeficientes de variación < 8%. Estos valores indicaron que una pequeña cantidad de los analitos se pierden cuando la muestra es derivatizada, es decir, que alrededor del 95% de los analitos en todas las fortificaciones son convertidos a su forma derivatizada (reemplazo del radical OH por el grupo silil en la estructura del estrógeno).

Por otro lado, para la biomasa se pierde hasta un 35% de los estrógenos en la reacción de derivatización debido a la complejidad del tratamiento de la muestra y a la posible presencia de ciertos compuestos que se encuentran dentro la matriz, las cuales pueden competir con el estrógeno y el agente derivatizante, derivatizando a estos compuestos que no son los analitos de interés. Los posibles pasos en donde se pudieran perder los compuestos son en las cuatro extracciones sólido-líquido. Sin embargo, se presentaron CV por debajo del 10%, lo que demuestra que a pesar de la limpieza de la muestra el error fue bajo. Las recuperaciones y la precisión del método se consideran aceptables de acuerdo a la establecido por el documento N° SANCO/2007/3131 de la Comisión Europea (European Commission, 2007).

Por lo tanto, las recuperaciones que se obtuvieron en la derivatización de los analitos indicaron que las condiciones para llevar a cabo la derivatización y los agentes derivatizantes así como el tratamiento de la muestra que se obtuvieron por ambos cartuchos son altas y confiables, por lo que se demostró que los cartuchos C₁₈ y la silica gel son adecuados para la retención del E1, E2 y EE2 y la limpieza de impurezas dentro de la matriz respectivamente, generando elevada y reproducibles recuperaciones para estos estrógenos.

Cabe mencionar que para la obtención de los recobros en la fase sólida fue necesario realizar todos los pasos para la limpieza de la muestra adicionando estrógenos en forma sintética dentro de 1 g de biomasa seca.

Tabla 4.10. Recuperaciones de los estrógenos en la derivatización de los analitos presentes en el agua residual y en la biomasa

Compuesto	Recuperación (%)			Recuperación (%)	
	Agua residual			Biomasa	
	0.1 (ng.L ⁻¹)	10 (ng.L ⁻¹)	100 (ng.L ⁻¹)	50 (ng.g ⁻¹)	100 (ng.g ⁻¹)
E1	96 ±4	96 ±5	94± 5	66 ±2	70 ±5
E2	101 ±2	95 ±3	94 ±6	75 ±3	75 ±4
EE2	92 ±5	93 ±3	89 ±8	80 ±2	85 ±10

4.1.6.4. Linealidad del método (tratamiento de la muestra)

Para observar la linealidad de los estrógenos en el tratamiento de la muestra, se trazó una curva calibración con 8 puntos en un rango de concentración de 0.001 hasta 50 ng.L⁻¹ y de 1 hasta 100 ng.g⁻¹ en agua residual y en la biomasa respectivamente (Figura 4.14). Cada curva se realizó por triplicado.

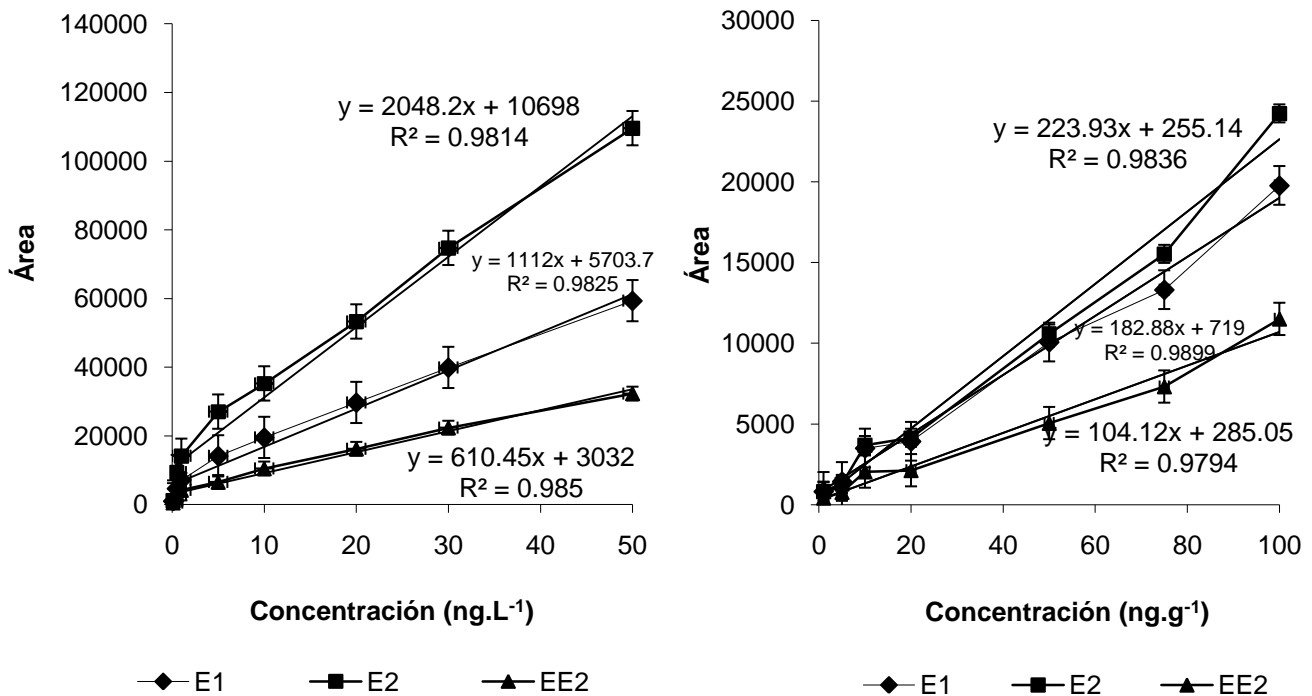


Figura 4.14. Linealidad del método en el tratamiento de la muestra para el agua residual y la biomasa

Esta prueba consistió en simular todo el procedimiento general de la limpieza de la muestra mediante muestras fortificadas con los analitos de interés.

La linealidad de las curvas de calibración presentó un coeficiente r^2 igual a 0.98 en todos los casos. El coeficiente de variación (CV) (ecuación 4.2), se obtuvo a partir de la desviación estándar de la regresión lineal (s_y), esta desviación es llamada desviación estándar residual (ecuación 4.3) y tiene unidades correspondientes a la señal observada. También se la conoce como $s_{y/x}$ en el texto de Miller (Miller, 1993) o como s_e en otros textos. Se realizaron 3 repeticiones para cada punto de la curva y se calculó la desviación estándar (error estándar) de los analitos s_x .

$$CV = \frac{s_y}{\text{promedio de las muestras}} \times 100\% \quad (4.2)$$

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y}_i)^2}{n - 2}} = \sqrt{\frac{S_{yy} - m^2 S_{xx}}{n - 2}} \quad (4.3)$$

En la Tabla 4.11 se muestra la linealidad del método del tratamiento de la muestra en el agua residual y la biomasa. Para el agua residual se obtuvo un CV alrededor de 5% para cada compuesto, lo que indica que en el procedimiento no existe una pérdida significativa de los estrógenos. Los valores en la biomasa indicaron que a pesar de que se obtuvieron $r^2 = 0.98$, los coeficientes de variación (CV) fueron altos. Esta variación reveló la complejidad del procedimiento de la muestra sólida ya que son varios los pasos para que se lleve a cabo una limpieza completa y que no cause interferencias en el equipo analítico.

Tabla 4.11. Coeficientes de variación en el tratamiento de las muestras en el agua residual y la biomasa

	Agua residual			Biomasa		
	E1	E2	EE2	E1	E2	EE2
Desviación estándar (kCounts)	1167	2217	592	722	491	415
Coeficiente de variación (%)	5.3	5.5	5	10.5	6	11.4

De acuerdo a los resultados obtenidos, estadísticamente se deduce que los métodos propuestos para la detección y cuantificación de los estrógenos en el agua residual y en la biomasa proporcionan datos confiables y reproducibles.

4.2. Operación bio-reactores con membranas

4.2.1. Pruebas hidráulicas en los BRM

4.2.1.1. Prueba hidráulica con el módulo de membranas a nivel laboratorio

La experimentación comenzó con pruebas hidráulicas en los reactores con los módulos de membranas ya instalados usando agua desionizada en el módulo de membranas para observar el comportamiento de la PTM y R_T usando agua sin material colmatante en función del tiempo haciendo variaciones del flux.

En la Figura 4.15 se observa que al aumentarse el flux se incrementa la PTM siguiendo el mismo comportamiento, lo que nos indica la relación que existe entre estos dos parámetros por lo que al tener flux más altos se expone al módulo de membranas a presiones más elevadas. No obstante, en la operación de los BRM se requiere trabajar con un flux lo más alto posible con presiones mínimas dependiendo de la hidrofobicidad y configuración de módulo de las membranas, así como de las propiedades fisicoquímicas y de las concentraciones de la biomasa. Con agua desionizada se llegó a obtener un flux hasta $57 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ con presiones relativamente bajas de 16 kPa.

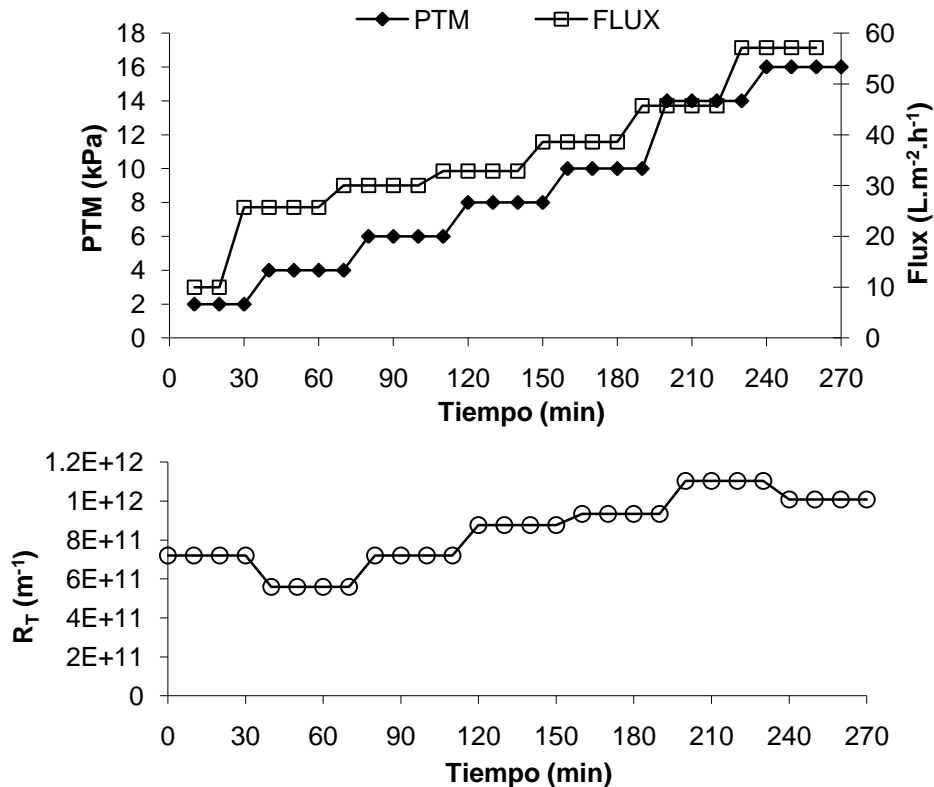


Figura 4.15. Relación entre el flux, PTM y R en las pruebas con agua desionizada

La resistencia hidráulica mostró que al no presentarse partículas que pudiesen taponar la superficie de las membranas, no existe dificultad del paso del líquido a través de las membranas. Sin embargo, al aumentarse la presión se incrementa la resistencia pasando de $7.2E+11$ a $1.17E+12$ m^{-1} con PTM de 2 hasta 16 kPa respectivamente, por lo que se corrobora lo dicho anteriormente. Al trabajarse con PTM altas se expone a las membranas a esfuerzos mayores reduciéndose la vida útil de las membranas.

4.2.1.2. Determinación flujo crítico y sub-crítico en los BRM a nivel laboratorio

Los resultados del estudio para determinar el flujo crítico y sub-crítico se presentan en la Figura 4.16. Con el objeto de indagar y determinar las mejores condiciones de operación de los BRM experimentales, tres concentraciones de biomasa en los reactores fueron evaluadas: 4,200, 6,150 y 7,940 mg SSV. L^{-1} .

Para la determinación de las condiciones críticas y sub-críticas se fijaron incrementos de flux constantes, observándose la PTM y flux a través del tiempo para cada concentración de biomasa. Se observa que para una concentración de biomasa de 4,200 $mg.L^{-1}$ la PTM permanece constante hasta valores de 20 $L.m^{-2}.h^{-1}$ con PTM de 14 kPa. Por arriba de este flux la PTM comenzó a incrementarse rápidamente en los primeros minutos en cada paso del flux, alcanzando valores de hasta 78 kPa con un flux de 44.3 $L.m^{-2}.h^{-1}$. Para una concentración de SSV de 6,150 $mg.L^{-1}$ se tuvo un flux máximo de 35.7 $L.m^{-2}.h^{-1}$ con una PTM de 55 kPa. Se observa que por arriba de 20 $L.m^{-2}.h^{-1}$ para ambas concentraciones de biomasa, la PTM se incrementó, lo que sugiere que por arriba de estos valores se está trabajando en condiciones irreversibles y que por debajo de este, la PTM y el flux permanecen constantes a través del tiempo.

Al aumentarse la concentración de biomasa, cercano a los 8,000 $mg.L^{-1}$, el permeado decrece presentándose un flux de hasta 12.2 $L.m^{-2}.h^{-1}$. Se observa que la PTM no permaneció constante en cada flux, lo que muestra que al aumentarse la concentración de biomasa de 4,000 a 8,000 $mg.L^{-1}$ se obtienen flux más bajos, incrementándose la PTM desde los primeros minutos. Judd (2005) ha reportado 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. De acuerdo a esto, la frontera entre la zona crítica y sub-crítica se encontraron con un flux de 20 $L.m^{-2}.h^{-1}$ para concentraciones de la biomasa de 4,200 y 6,150 $mg.L^{-1}$.

Para una concentración de biomasa de 7,940 $mg.L^{-1}$ el estado crítico se alcanzó con un flux por arriba de 4 $L.m^{-2}.h^{-1}$. Este comportamiento nos indica que con concentraciones mayores o igual a 7,940 mg SSV. L^{-1} la permeabilidad se ve afectada drásticamente alcanzándose una condición crítica con flux muy bajos.

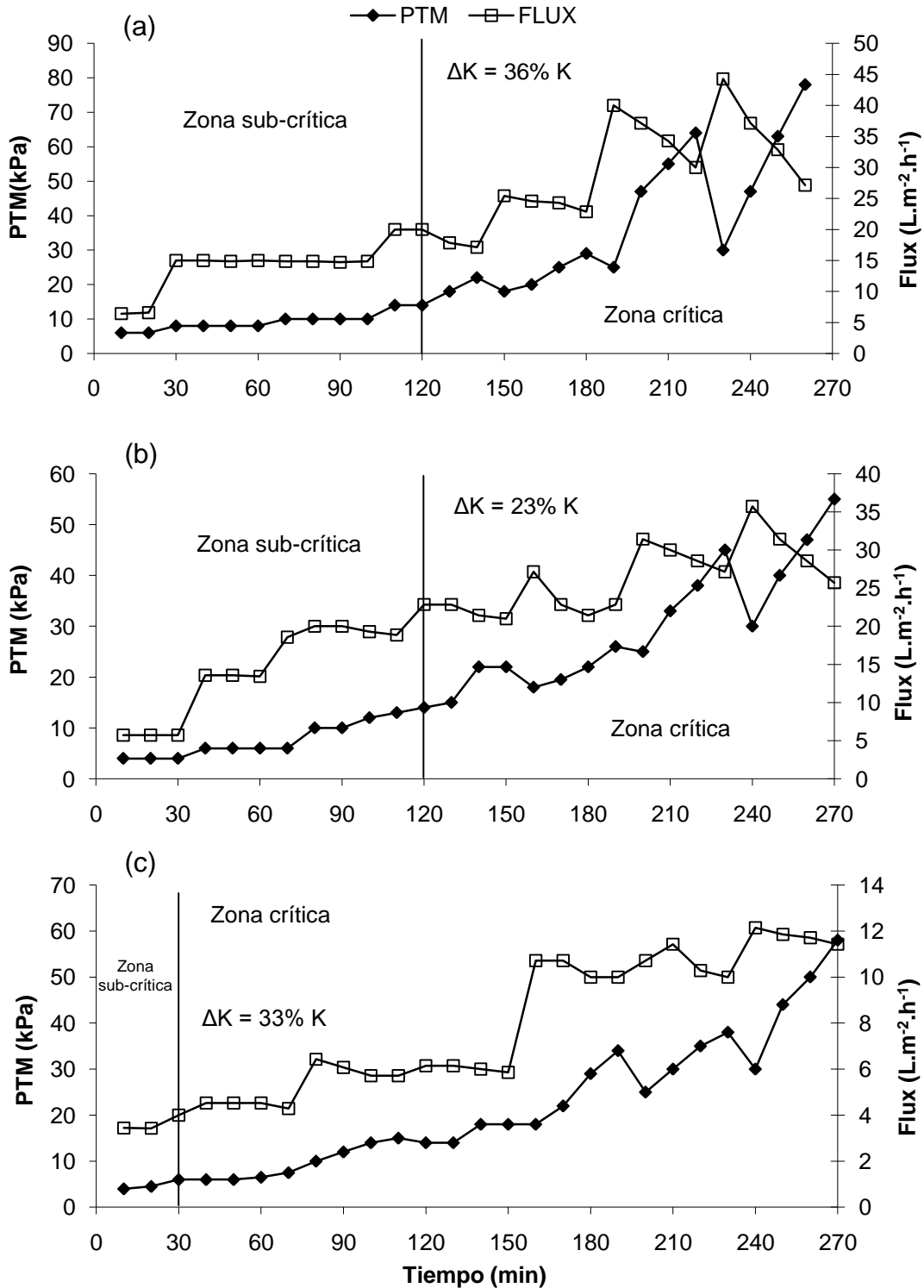


Figura 4.16. Flujo crítico y sub-crítico para diferentes concentraciones de biomasa. a) 4,200 mg SSV.L⁻¹, b) 6,150 mg SSV.L⁻¹ y c) 7,940 mg SSV.L⁻¹

Se observó que al aumentarse la concentración de la biomasa se aumentó ligeramente la tasa de colmación $dPTM/dt$ (Figura 4.17). En condiciones sub-críticas para todas las concentraciones de biomasa la tasa de colmatación de las membranas fueron menores a $1.1 \text{ kPa}\cdot\text{min}^{-1}$, no observándose un aumento drástico en la velocidad de colmatación. Sin embargo, trabajando en condiciones críticas, se observa que $dPTM/dt$ tiende a incrementarse rápidamente pasando de $1.1 \text{ kPa}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $7.2 \text{ kPa}\cdot\text{min}^{-1}$. Este comportamiento indica que trabajando en condiciones sub-críticas, la colmatación de las membranas es menor comparado con las condiciones críticas. A pesar de que se observó un decremento en el flux al aumentarse la concentración de biomasa, la PTM en todos los casos presenta un mismo comportamiento en el seguimiento de la colmatación de las membranas. Por lo anterior, aunque se aumentó la concentración de biomasa, se trabajó con tasas de colmatación bajas en condiciones sub-críticas. Esto indica que trabajando en un flujo sub-crítico, los módulos de membranas no se estaban operando en condiciones de ensuciamiento irreversible, pero sí existe un aumento ligero en la velocidad de colmatación reversible al trabajar con concentraciones de biomasa más altas.

Al aumentar la PTM existe una disminución del flux para todos los casos. Cuando el flux se encuentra en una zona sub-crítica este permanece constante a través del tiempo. Sin embargo, cuando se está operando en condiciones críticas, existe una disminución drástica del flux y un aumento progresivo de la PTM.

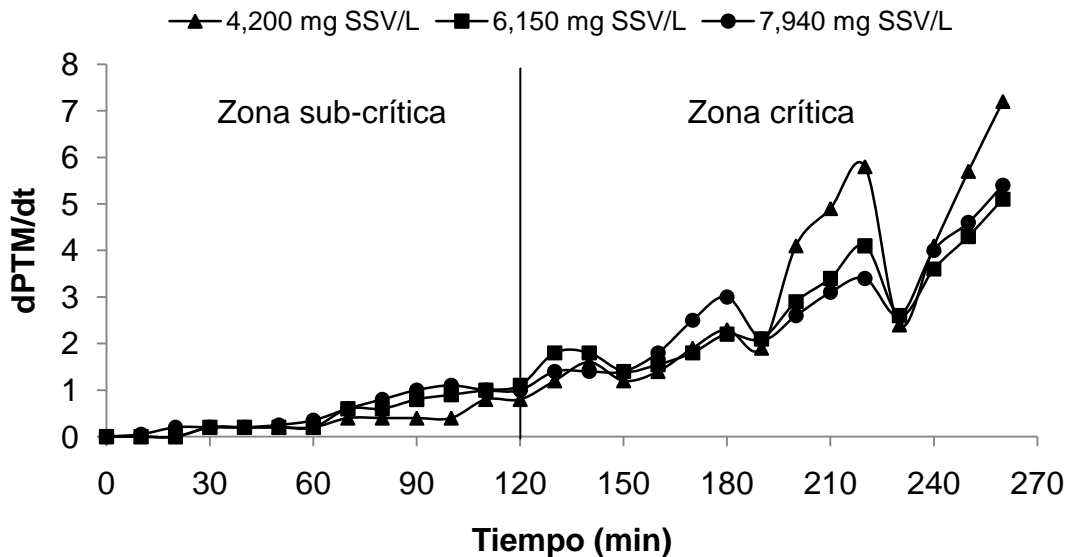


Figura 4.17. Evolución de la tasa de colmatación $dPTM/dt$ en la determinación de las condiciones críticas y sub-críticas

Por otro lado, los parámetros resistencia hidráulica total (R_T) y permeabilidad (K) indican que no es favorable trabajar con concentraciones de biomasa mayores o igual a $7,940 \text{ mg.L}^{-1}$. Se mostró que para una concentración de $4,200$ y $6,150 \text{ mg SSV.L}^{-1}$ las resistencias tuvieron el mismo comportamiento durante la prueba tomando valores promedios de $3.3\text{E}+12 \text{ m}^{-1}$ (Figura 4.18). En la Figura 4.19 se observa que las permeabilidades para una concentración de $4,200$ y $6,150 \text{ mg SSV.L}^{-1}$ siguen una misma trayectoria con valores promedios de $130 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$. Para una concentración de biomasa de $7,940 \text{ mg SSV.L}^{-1}$ ambas las resistencias y las permeabilidades aumentan y disminuyen rápidamente en los primeros minutos pasando de $4.2\text{E}+12 \text{ m}^{-1}$ a $1.83\text{E}+13 \text{ m}^{-1}$ y de $85 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$ a $20 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$ respectivamente.

La permeabilidad decrece cuando existe una disminución del flux y un incremento en la PTM lo que provoca que exista una compresión de los sólidos depositados en la superficie de las membranas. El aumento en las resistencias y las disminuciones de las permeabilidades para todas las concentraciones de las biomasa se debe a que puede existir una acumulación de sólidos depositados en la superficie de las membranas generando que los poros de las membranas disminuyan y por lo tanto exista una mayor resistencia y una menor permeabilidad del paso del agua a través de las membranas.

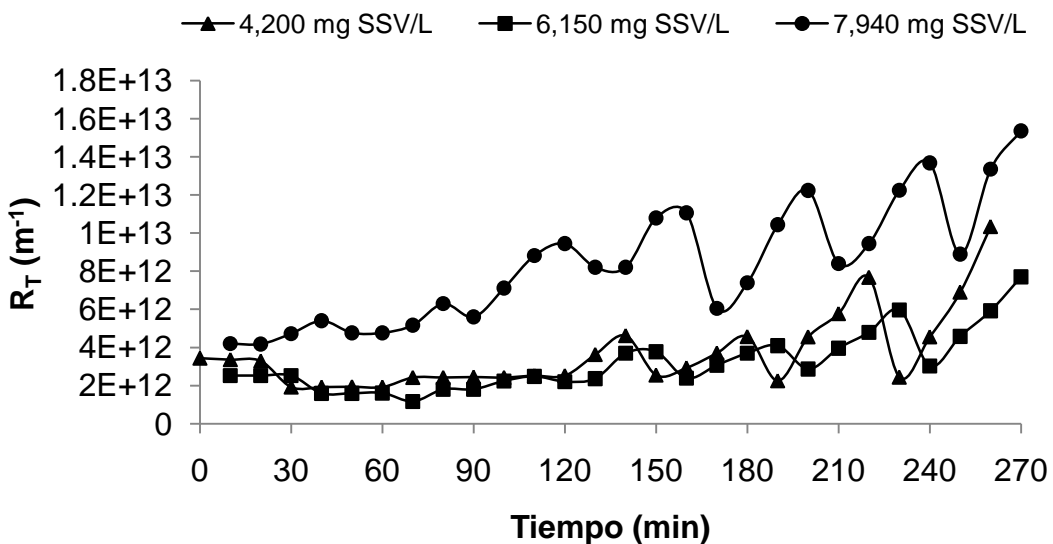


Figura 4.18. Comportamiento de la resistencia en la determinación de las condiciones críticas y sub-críticas

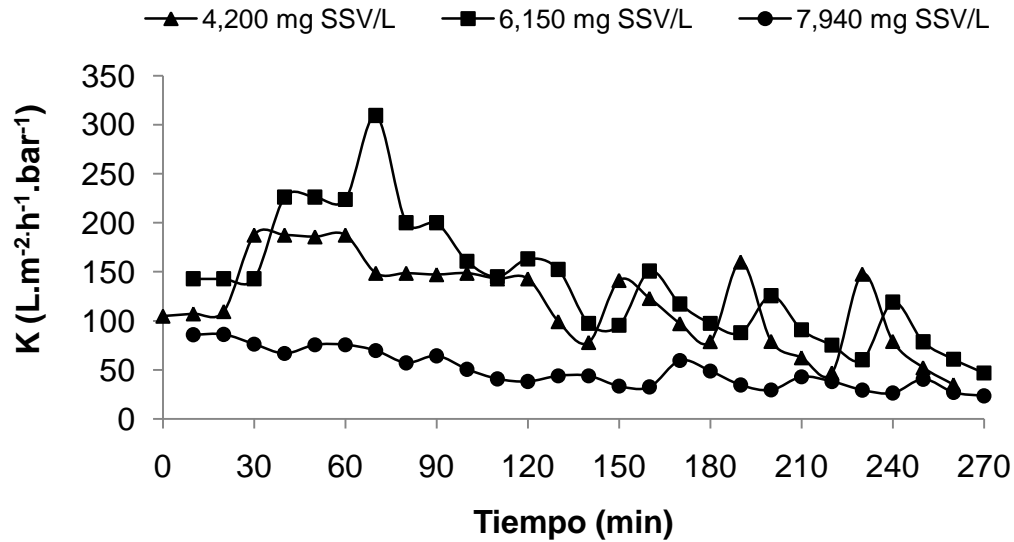


Figura 4.19. Comportamiento de la permeabilidad con diferentes concentraciones de biomasa

De acuerdo a estos resultados, se delimitaron las condiciones críticas y sub-críticas para cada concentración de biomasa. Se estableció que los reactores experimentales pueden ser operados en un intervalo de concentración de la biomasa entre 4,000 y 6,000 mg SSV.L⁻¹. Por lo tanto, los BRM durante todo el periodo experimental fueron operados en este intervalo de concentración de la biomasa y dentro de la frontera crítica y sub-crítica con un flux de 20 L.m⁻².h⁻¹ y con PTM que oscilaron entre 6 y 12 kPa.

Comparando estos valores con los de la literatura, donde la PTM y el flux se encuentran en el rango de 10-60 kPa y 10-50 L.m⁻².h⁻¹ respectivamente, se concluyó que los valores de PTM se encuentran en el límite inferior de operación con flux relativamente altos. Con estas condiciones de operación, el módulo de filtración se expone a presiones bajas, limitando el fenómeno de colmatación reversible e irreversible, la limpieza química y por otro lado, aumentándose el tiempo de operación del proceso y la vida útil de las membranas.

Según los resultados reportados por Hong *et al.* (2002), la concentración de sólidos no tiene un efecto sobre el flux, la permeabilidad y la resistencia en un rango entre 300 y 8,400 mg.L⁻¹. Los valores obtenidos en este estudio concuerdan con la dicho anteriormente, asimismo, los resultados demostraron que trabajando con concentraciones de biomasa de 7,940 mg.L⁻¹ el flux, R_T y PTM se ven afectados.

4.2.1.3. Operación en condiciones sub-críticas

Tomando en consideración los resultados obtenidos de las pruebas anteriores se realizó una prueba en los BRM experimentales en condiciones sub-críticas sin la utilización de retrolavados con el objeto de evaluar el comportamiento del flux, PTM, K a través del tiempo. El flux y la PTM inicial fueron de $20 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ y 6 kPa respectivamente. Debido a que se trabajó con distintos tiempos de retención celular para la remoción de los estrógenos se establecieron tres concentraciones de biomasa las cuales fueron de $4,250 \text{ mg SSV.L}^{-1}$ (BRM 1), $5,100 \text{ mg SSV.L}^{-1}$ (BRM 2) y $6,250 \text{ mg SSV.L}^{-1}$ (BRM 3). Cabe recordar que este rango de concentración fue donde se observó una mejor permeabilidad del paso del fluido a través de las membranas con una mínima resistencia de filtración.

En las Figura 4.20 se presenta el comportamiento del flux, PTM y la permeabilidad en condiciones sub-críticas para concentraciones de biomasa entre $4,250$ y $6,250 \text{ mg.L}^{-1}$. Se observa que los tres parámetros siguen un mismo comportamiento durante los primeros 210 min en donde el flux y la PTM prácticamente permanecen constantes aunque con una disminución no drástica pero si progresiva de la permeabilidad, este comportamiento es debida al comienzo de la colmatación de las membranas. Por arriba de este tiempo, el flux comienzan a decrecer en todos los casos, lo cual esta asociado con un aumento en la PTM, y disminución de K, señal típica de un taponamiento reversible.

El flux no disminuye drásticamente pasando de 20 a $17.8 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ con un aumento de la PTM de 6 a 7 kPa para una concentración de biomasa de $4,250 \text{ mg.L}^{-1}$. Para una concentración de $5,100 \text{ mg SSV.L}^{-1}$, el flux se redujo de 20 a $16.1 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ con un aumento de la PTM de 6 a 8 kPa y de 20 hasta $15 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ con una PTM final de 12 kPa para una concentración de biomasa de $6,250 \text{ mg.L}^{-1}$.

Se observa que a pesar de estar trabajando en condiciones sub-críticas es inevitable la colmatación de las membranas. Además se observa que con un aumento en la concentración de biomasa la PTM aumenta y el flux y la permeabilidad disminuye gradualmente en los primeros minutos.

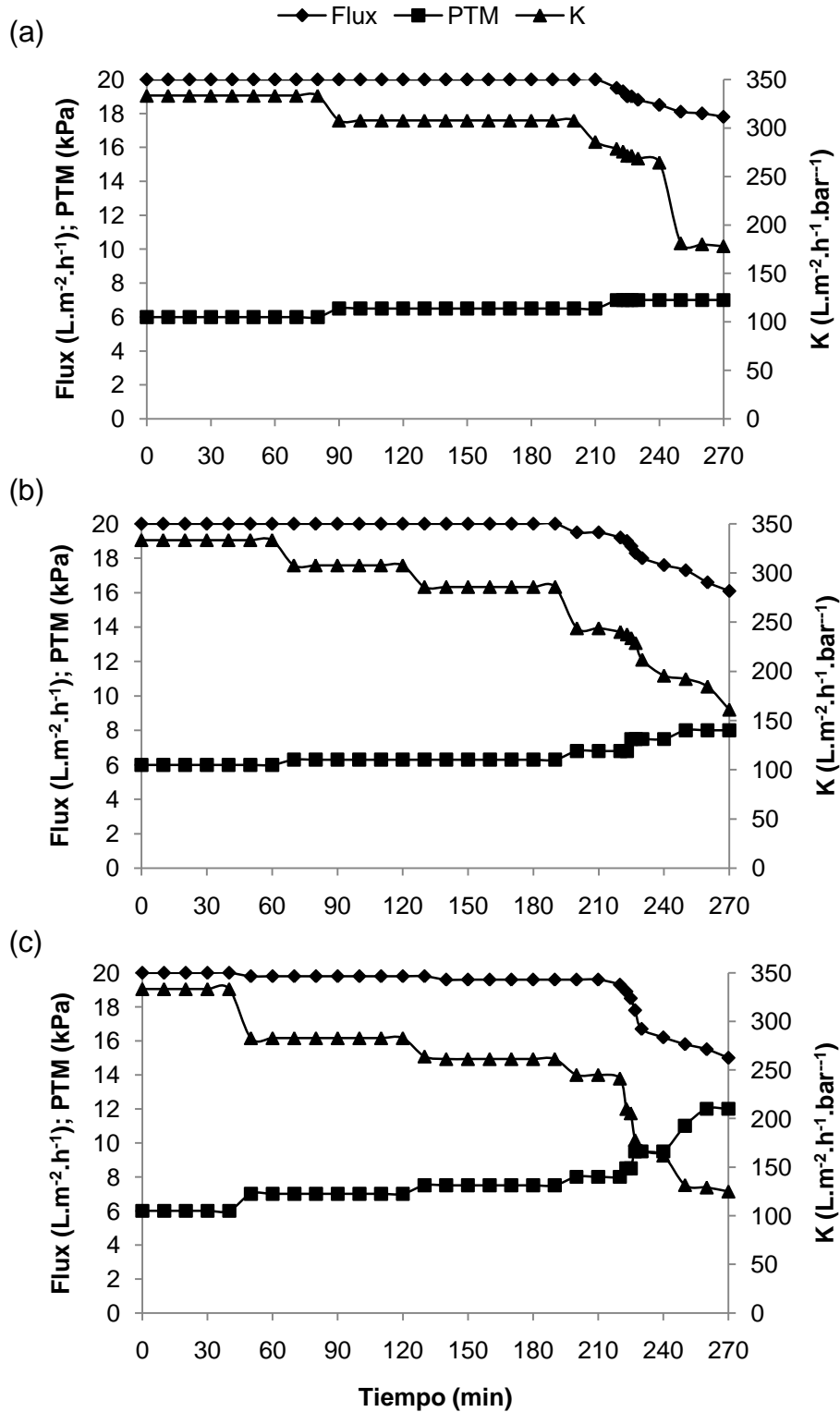


Figura 4.20. Comportamiento del flux, PTM y la permeabilidad en condiciones sub-críticas para diferentes concentraciones de la biomasa: a) 4,250 mg SSV.L⁻¹, b) 5,100 mg SSV.L⁻¹ y c) 6,250 mg SSV.L⁻¹

La permeabilidad inicial en todos los reactores fue de $333.33 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$ las cuales disminuyen a través de tiempo alcanzando valores de hasta $125 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$. Este comportamiento es debido a la deposición y acumulación de sólidos sobre la superficie de las membranas generando un aumento en la PTM. Van der Roest *et al.* (2002) han reportado que la permeabilidad en un BRM puede tomar valores entre 100 y $700 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$, con valores típicos de 200 a $300 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$, para este caso, los valores promedios de K fueron de $240 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$ indicando que los BRM experimentales se encuentran entre los valores recomendados para el buen funcionamiento del proceso retrasándose la colmatación de las membranas.

Con la condición sub-crítica fijada se cálculo la tasa de colmatación $d\text{PTM}/dt$ para las tres concentraciones de biomasa. En la Figura 4.21 se presenta el gráfico de la obtención de $d\text{PTM}/dt$ el cual se obtuvo de la pendiente de la recta ajustada a los valores de la PTM. Se observa que al aumentarse la concentración de biomasa hay un aumento en la tasa de colmatación pasando de 0.2 a 1.07 kPa.h^{-1} , lo que indica que al tener más biomasa en el sistema existe una mayor acumulación del biosólido sobre la superficie de las membranas y por lo tanto existe una mayor velocidad de colmatación de las membranas, aun trabajando en condiciones sub-críticas. Le-Clech *et al.* (2006) y Pollice *et al.* (2005) han reportado que valores de $d\text{PTM}/dt$ entre 6×10^{-4} y 1.5 kPa.h^{-1} , la colmatación de las membranas es lenta. Los valores de $d\text{PTM}/dt$ determinadas en esta prueba se encontraron dentro de los valores recomendados.

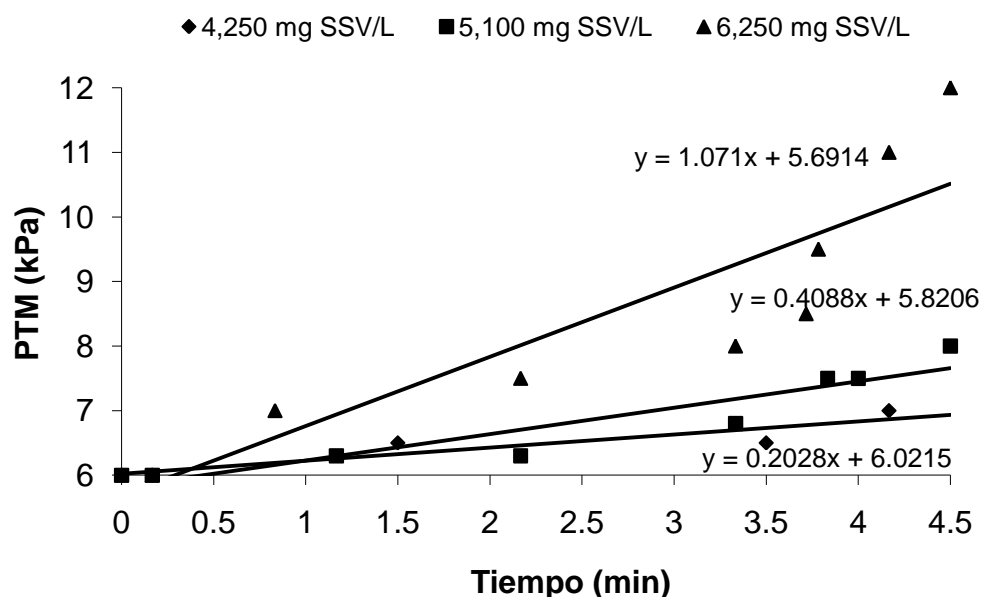


Figura 4.21. Variación de la tasa de colmatación $d\text{PTM}/dt$ con diferentes concentraciones de biomasa en condiciones sub-críticas

4.2.1.4. Frecuencia de retrolavados

Como un control sobre el taponamiento de las membranas se establecieron tres escenarios de retrolavados, los cuales fueron evaluados en un periodo de 5 h con un flux constante de $20 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ para las tres concentraciones de biomasa. Se ha reportado que retrolavados periodicos pueden eliminar casi todo los mecanismos de la colmatación reversible. La colmatación reversible se ve reflejada en la declinación del flux y la permeabilidad y el aumento en la PTM y resistencia hidráulica lo que implica que la tasa de colmatación se incremente (Cervantes, 2007). Por lo tanto los tiempos de succión y retrolavados probados fueron:

- 4 min succión; 15 s retrolavado.
- 7 min succión; 30 s retrolavado.
- 10 min succión; 45 s retrolavado.

Se observó que aplicando retrolavados en condiciones sub-críticas la pérdida del flux a partir del flux inicial ($20 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$) fueron menores al 5% ($\leq 1.2 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$) para las tres concentraciones de biomasa. Con los primeros dos escenarios de succión/retrolavado, los parámetros tales como el flux y la PTM regresaban a su estado inicial permaneciendo constante durante los primeros minutos. Aplicando 10 min de succión y 45 s de retrolavado existió un aumento en las resistencias y una disminución en las permeabilidades (Tabla 4.12).

En la Tabla 4.12 se presenta un resumen de los parámetros de operación en el módulo de membranas operados en forma continua aplicando diferentes escenarios de succión/retrolavado con diferentes concentraciones de biomasa. Se muestra que en condiciones de no retrolavados el flux disminuyó cerca de un 15% del flux inicial en comparación con condiciones de retrolavados, donde la pérdida del flux fue menor al 5%. Las PTM, R_T y permeabilidades se ven afectados cuando no se trabaja con retrolavados. Con retrolavados, estos parámetros no varían de sus valores iniciales ($PTM = 6 \text{ kPa}$, $R_T = 1.08\text{E}+12 \text{ m}^{-1}$, $K = 333.33 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$).

Las mejores condiciones de retrolavados para una concentración de 4,250 y 5,100 mg SSV.L^{-1} fue el escenario 2, mientras que para una concentración de biomasa de 6,260 mg.L^{-1} fue el escenario 1, lo que demuestra que es necesario aplicar cortos tiempos de filtración y de retrolavados para mantener una PTM constante y baja. Asimismo, se nota que las tasas de colmatación se mantuvieron con valores por debajo de 0.4 kPa.h^{-1} . Con estas condiciones se pudieron extender los tiempos para el lavado químico de las membranas durante la operación de los reactores a nivel laboratorio para la remoción de los estrógenos. Se ha reportado que con 15 min de filtración y 15 s de retrolavados puede ser una opción viable para la operación del proceso a partir de diferentes condiciones de retrolavados (Smith *et al.*, 2006). Las condiciones de retrolavados en este trabajo en la operación de los reactores fueron entre 4 y 7 min de filtración y de 15-30 s de retrolavados.

Se observó que con tiempos intermitentes de filtración prolongados el flux, PTM, R_T y K se ven afectados. Asimismo tiempos de retrolavados elevados influirán en la producción de agua tratada. Por lo tanto, al realizar una estrategia para la limpieza física de las membranas hay que considerar los tiempos de filtración y de retrolavados. La concentración de la biomasa en los BRM fue un factor importante, ya que esta definió el comportamiento de los parámetros de operación en el módulo de membranas y su frecuencia de succión-retrolavado.

Tabla 4.12. Parámetros de operación en la limpieza física de las membranas con diferentes escenarios de succión/retrolavado

Parámetro	4,250 mg SSV.L ⁻¹			5,100 mg SSV.L ⁻¹			6,250 mg SSV.L ⁻¹		
Condiciones iniciales									
Flux (L.m ⁻² .h ⁻¹)	20			20			20		
PTM (kPa)	6			6			6		
K (L m ⁻² .h ⁻¹ .bar ⁻¹)	333.33			333.33			333.33		
R_T (m ⁻¹)	1.08E+12			1.08E+12			1.08E+12		
dPTM/dt (kPa.h ⁻¹)	0			0			0		
Condiciones finales sin retrolavados									
Flux (L.m ⁻² .h ⁻¹)	17.8			16.1			15		
PTM (kPa)	7			8			12		
K (L m ⁻² .h ⁻¹ .bar ⁻¹)	178			161			125		
R_T (m ⁻¹)	1.41E+12			1.78E+12			2.88E+12		
dPTM/dt (kPa.h ⁻¹)	0.2			0.4			1.07		
Condiciones finales con retrolavados									
Escenario	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Flux (L.m ⁻² .h ⁻¹)	19.4	19.76	19	19.93	20	19.76	19.8	19.64	19.62
PTM (kPa)	6.64	6	7.12	6.56	6	7.4	6.7	7.42	7.9
K (L m ⁻² .h ⁻¹ .bar ⁻¹)	305.6	329.5	289.55	307.5	333.33	276.5	304.15	274.6	264.4
R_T (m ⁻¹)	1.19E+12	1.09E+12	1.28E+12	1.18E+12	1.08E+12	1.35E+12	1.21E+12	1.36E+12	1.45E+12
dPTM/dt (kPa.h ⁻¹)	0.07	<0.0001	0.1	0.24	<0.0001	0..24	0.4	0.34	0.72

1 = 4 min succión; 15 s retrolavado
 2 = 7 min succión; 30 s retrolavado
 3 = 10 min succión; 45 s retrolavado

4.2.1.5. Pruebas hidráulicas y obtención del flujo crítico y sub-crítico en el BRM piloto

Antes del arranque y operación del BRM piloto, se realizaron pruebas hidráulicas y la determinación del flujo crítico y sub-crítico. En la Figura 4.22 se presenta el comportamiento del flux y la PTM con agua desionizada. Se muestra como ya se

mencionó anteriormente, la intrínseca relación que existe entre estos parámetros. Al no presentarse material colmatante la PTM y el flux permanecen constantes a través del tiempo en cada aumento del flux.

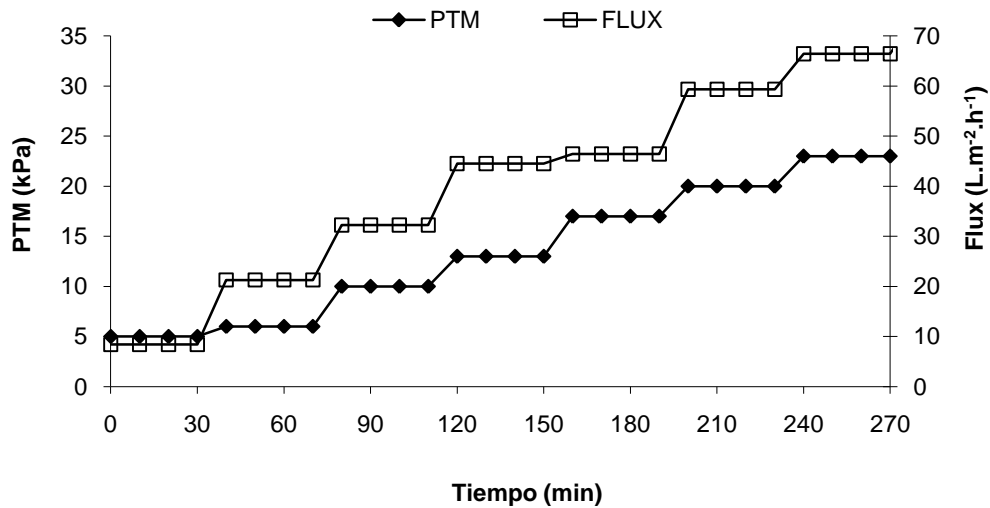


Figura 4.22. Relación PTM vs flux con agua desionizada en el BRM piloto

Para la obtención del flujo crítico y sub-crítico, se realizaron pruebas con una concentración de biomasa de $7,220 \text{ mg.L}^{-1}$. En la Figura 4.23 se observa que por arriba de $46.9 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ se presentan condiciones de taponamiento irreversible de las membranas, mientras que por debajo de este valor, el flux se mantiene constante con un ligero incremento en la PTM. Para esta condición sub-crítica, se calculó la tasa de colmatación $d\text{PTM}/dt$ la cual fue de 0.3 kPa.h^{-1} .

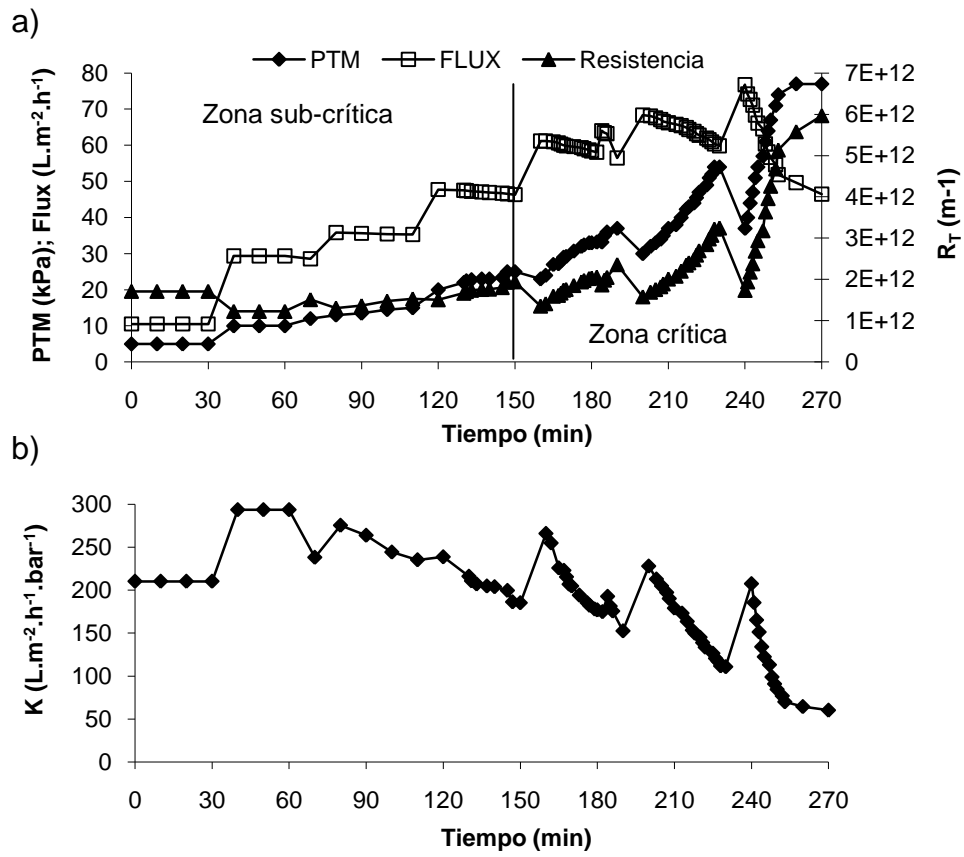


Figura 4.23. a) Obtención de la zona crítica y sub-crítica en el BRM piloto y b) seguimiento de la permeabilidad

4.2.2. Remoción de E1, E2 y EE2 en los bio-reactores con membranas a nivel laboratorio

4.2.2.1. Pruebas abióticas

4.2.2.1.1. Volatilización y sorción de los estrógenos

En la Tabla 4.13 se muestra que los estrógenos en estudio no son volátiles y presentan una baja sorción sobre las tuberías y paredes de los reactores experimentales. Asimismo, no se observaron pérdidas abióticas debidas a la interacción entre los constituyentes del agua residual sintética y los compuestos.

Tabla 4.13. Volatilización y sorción de los estrógenos en los reactores experimentales

Compuesto	Remoción por volatilización (%)	Remoción por sorción (%)	Remoción por los constituyentes del agua residual sintética (%)
E1	0.5 ±0.3	0.4±0.2	0.1±0.2
E2	0.02±0.01	0.8±0.4	0.02±0.01
EE2	0.01±0.02	0.6±0.1	0.2±0.1

4.2.2.1.2. Retención de los estrógenos en las membranas de ultrafiltración

4.2.2.1.2.1. Membranas de polisulfona

El objetivo de esta prueba fue observar de qué manera influyen las características y propiedades de las membranas de polisulfona en la remoción de los estrógenos simulando las condiciones de operación de los BRM con las cuales los sistemas trabajaron durante todo el periodo experimental.

El módulo de membranas fue inmerso en el reactor sin licor mezclado y fue operado bajo una filtración continua durante 24 h con un flux de 22.9 y 11.9 L.m⁻².h⁻¹ que corresponde a un TRH de 7 y 12 h respectivamente. Las PTM fueron de 12 y 4 kPa, las cuales permanecieron constante durante toda la prueba. El flujo másico de alimentación del E1 fue de 4.2 µg.d⁻¹, para el E2 de 2.6 µg.d⁻¹ y del EE2 de 2.7 µg.d⁻¹, para un TRH de 7 h. Mientras que para un TRH de 12 h, el flujo de estrógenos en la entrada del módulo fue de 2.2, 1.4 y 1.4 µg.d⁻¹ para E1, E2 y EE2 respectivamente.

En la Figura 4.24a se observa la retención de los estrógenos en las membranas para un TRH de 7 h. Existe una rápida retención de los estrógenos, mayor de 86% a partir de la primera hora, lo que indica que la adsorción es instantánea y se alcanzan las condiciones de equilibrio. La capacidad de las membranas para retener a los compuestos se vio afectada a partir de la quinta hora, cuando las concentraciones en el permeado se incrementaron y por lo tanto la retención en las membranas disminuye. Este comportamiento puede ser atribuido a la saturación de los espacios libres de la superficie y/o poros internos de las membranas por las moléculas de los estrógenos generando la desorción y por consiguiente la difusión de los compuestos hacia el permeado de las membranas.

De manera contraria a la prueba anterior, operando con un TRH de 12 h la retención de los estrógenos fueron entre un 46% y 75% en la primera hora (Figura 4.24b). Las concentraciones de los estrógenos disminuyeron exponencialmente, permaneciendo en el equilibrio a partir de la séptima hora de filtración continua, encontrándose concentraciones de estos compuestos en el permeado de la membrana entre 14 y 30 ng.L^{-1} con retenciones para el E1, E2 y EE2 de 84, 76 y 89% respectivamente. Este hecho fue debido al que el caudal de succión fue menor que en el primer caso generándose un mayor tiempo de contacto entre los compuestos presentes en la solución con las membranas, permitiendo una adsorción lenta de los compuestos en las membranas generando que las condiciones en el equilibrio se prolongen. El EE2 fue el estrógeno que presentó mayor afinidad con la membrana seguida de la estrona y el estradiol.

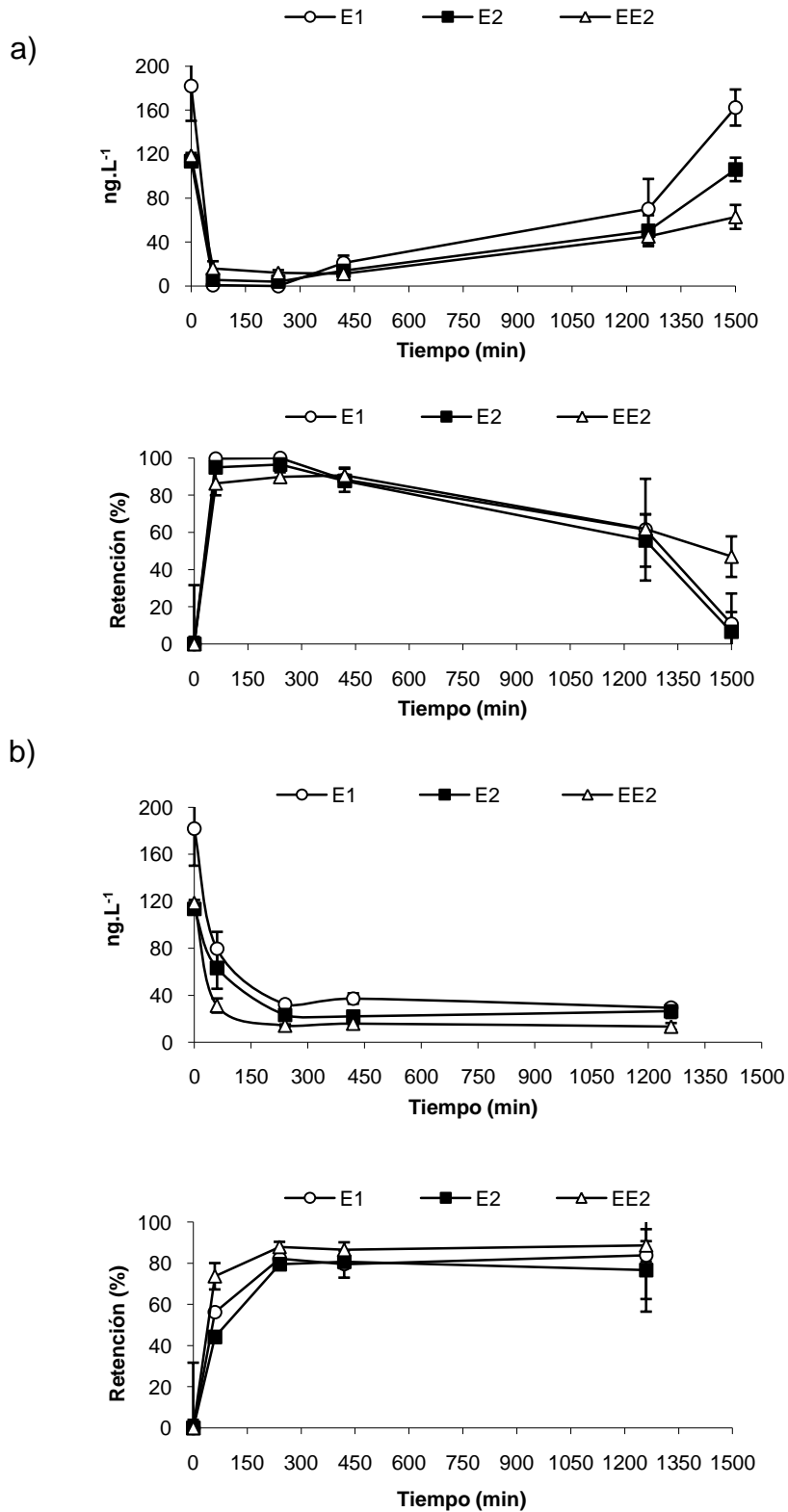


Figura 4.24. Retención de los estrógenos en las membranas de polisulfona. a) TRH 7 h; b) TRH 12 h

En los que respecta a la DQO y N-NH_4^+ , las características de las membranas no tienen influencia sobre la remoción de estos dos parámetros (Figura 4.25), por lo tanto, la remoción de DQO y N-NH_4^+ en los BRM fue debida solamente a la actividad de los microorganismos.

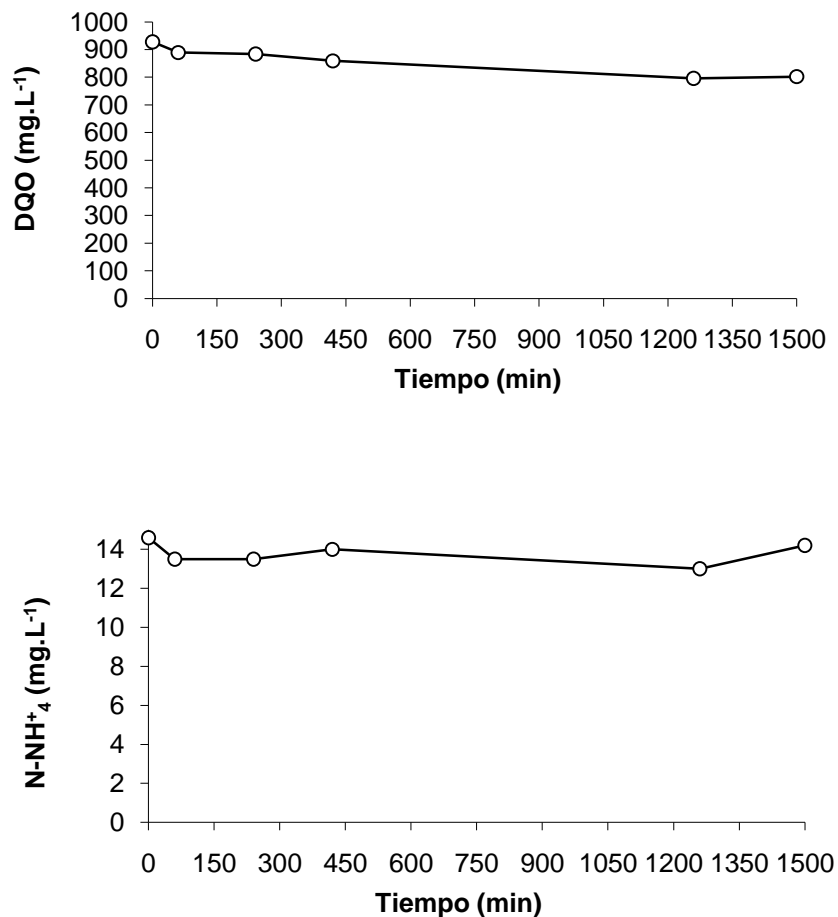


Figura 4.25. Comportamiento de la materia orgánica y nitrógeno amoniacal en pruebas abióticas con membranas

4.2.2.1.2.2. Membranas de PVDF

Por otro lado, se realizaron pruebas en las membranas de fibra hueca de ultrafiltración de material de polifluoruro de vinilideno (PVDF) con el objeto de determinar la retención de los estrógenos para este tipo de membrana sin inóculo. El módulo fue operando en el límite de condiciones sub-críticas con una succión continua de $46 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ con PTM de 13 kPa trabajando durante 24 horas.

En la Figura 4.26 se observa que se presentaron altas retenciones de los compuestos.

El estrógeno que tuvo menor retención o afinidad en la superficie y/o poros internos de la membrana fue el EE2 con una retención del 76%, mientras que para los estrógenos E1 y E2 las retenciones fueron de 92% y 88%, siendo el E1 el compuesto con mayor afinidad con las membranas. Durante toda la prueba no se observó una desorción de los compuestos hacia el permeado de las membranas.

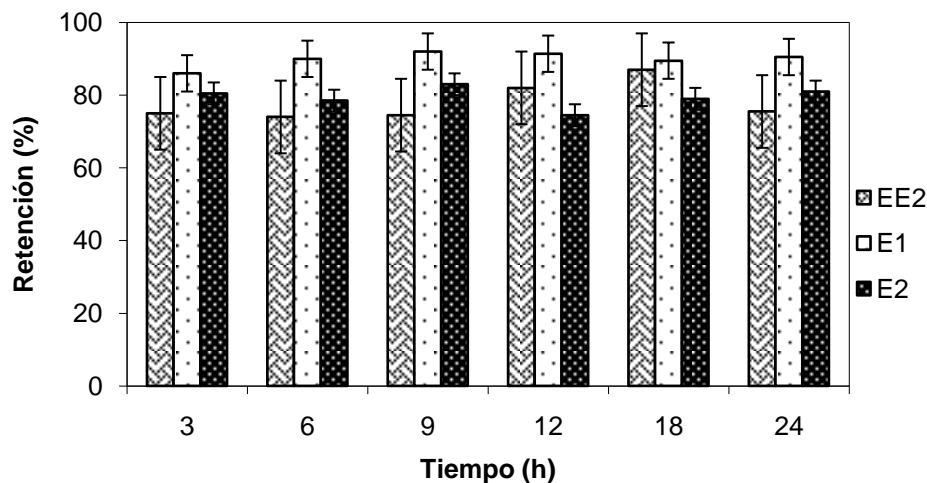


Figura 4.26. Retención de los estrógenos en la membrana de polifluoruro de vinilideno

4.2.2.1.3. Mecanismos de remoción de los estrógenos en las membranas

Aunque con la ultrafiltración de fibra hueca no se esperaba retener compuestos de tan bajo peso molecular (< 300 g/mol) con dimensiones de 0.8 nm, se observó una alta retención de los estrógenos en las membranas de UF de polisulfona y PVDF, debido a mecanismos de adsorción en los materiales hidrofóbicos que son llevados en la superficie de las membranas y principalmente en la superficie interna de los poros. Asimismo, las condiciones de operación y el pH neutro del agua incrementaron el potencial de las membranas en la retención de los compuestos. El pH de agua es un factor importante ya que tiene una fuerte influencia en la adsorción de los estrógenos debido que posee a un grupo funcional ionizable (grupo hidroxilo). Puesto que los estrógenos tienen una pK_a de 10.23-10.4, los compuestos se disocian y se cargan negativamente a $pH > 10.4$ y la adsorción no puede ocurrir debido a una repulsión electrostática con las membranas.

En el caso de la membrana de polisulfona, estos efectos de adsorción se deben al establecimiento de puentes de hidrógeno entre los estrógenos y las membranas. En la Figura 4.27 se presenta un mecanismo propuesto de adsorción. Debido a que los estrógenos presentan grupos hidroxilos en sus moléculas (a pesar de ser compuestos no polares), el átomo de hidrógeno tiene una carga parcial positiva por lo que atrae a la densidad electrónica de dos grupos funcionales de la polisulfona; el oxígeno y el azufre, haciéndola más electronegativa, estableciendo así un enlace fuerte entre los estrógenos y el material de construcción de la membrana.

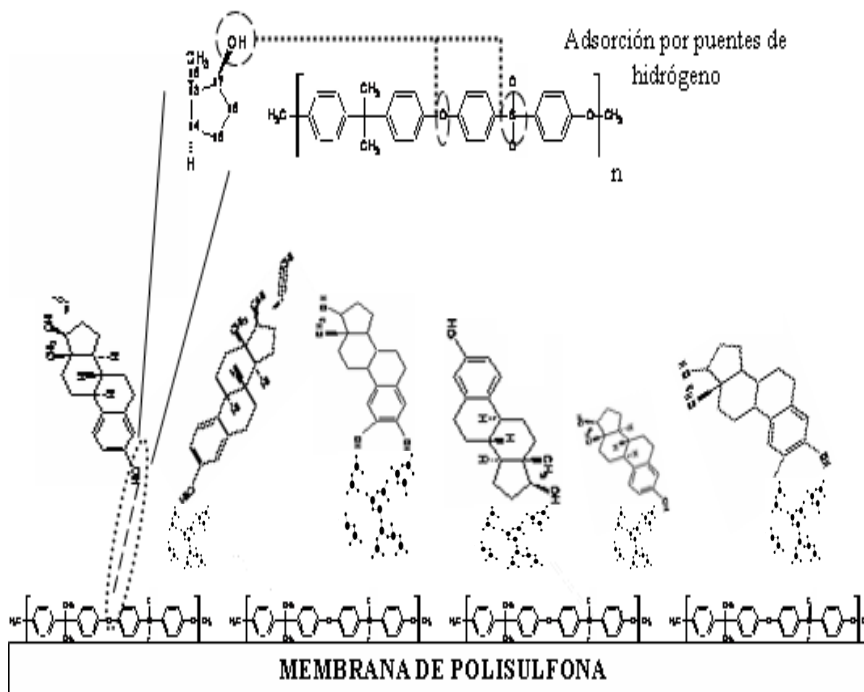


Figura 4.27. Interacciones hidrofóbicas (puentes de hidrógeno) entre los estrógenos y la membrana de polisulfona

Por otro lado, el PVDF es un polímero lineal cuyo defecto más frecuente son las uniones cabeza-cabeza y cola-cola que alteran la secuencia normal dando grupos de tipo $-(CF_2-CF_2)-$ y $-(CH_2-CH_2)-$. Puesto que este polímero carece de carbonos asimétricos, sus moléculas no presentan tacticidad, pero sí propiedades polares debido a la gran diferencia de electronegatividad existente entre los átomos de flúor y los de carbono. Por un lado, los enlaces flúor-carbono del PVDF presentan una fuerte polarización debido a la gran diferencia de electronegatividad que existe entre ambos átomos. Por efecto inductivo esta polarización se transmite parcialmente al esqueleto de

la cadena y de allí a los enlaces carbono-hidrógeno, dando como resultado final una polarización positiva de los átomos de hidrógeno existentes en la molécula.

Este hecho hace que las moléculas de los estrógenos presenten una alta afinidad con el PVDF dando lugar a la formación de puentes de hidrógenos entre los grupos OH⁻ y CF (Figura 4.28).

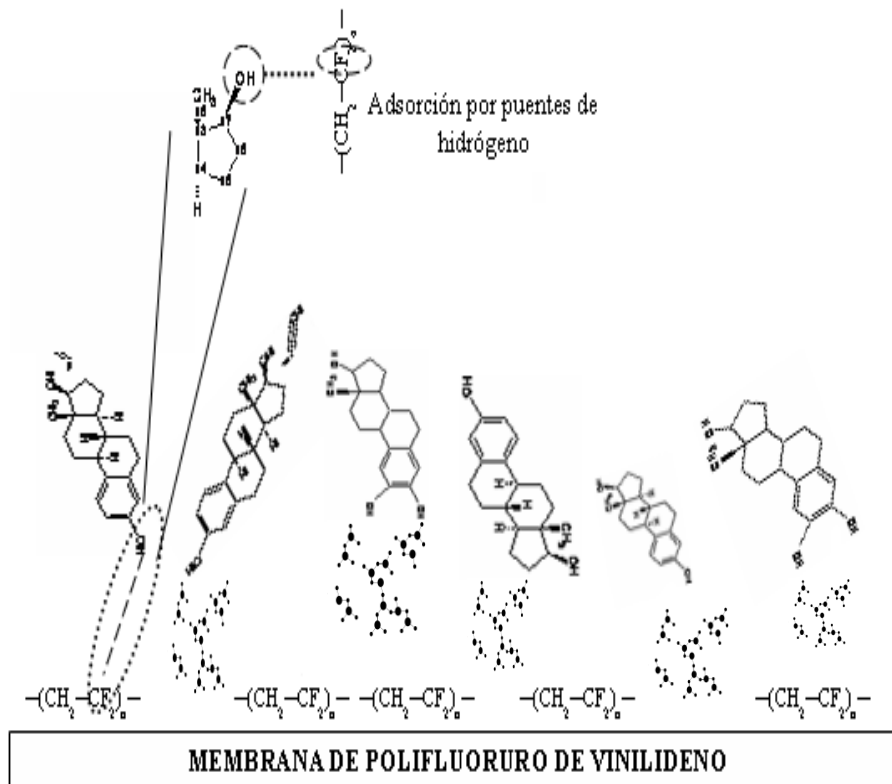


Figura 4.28. Interacciones hidrofóbicas (puentes de hidrógeno) entre los estrógenos y la membrana de polifluoruro de vinilideno

De acuerdo con los resultados obtenidos de la retención y adsorción de los compuestos, los posibles pasos de transporte que involucran la adsorción de los estrógenos en la superficie de las membranas y en los poros internos pueden ser: transporte de la cantidad de moles de la solución, difusión en la capa límite de la membrana (capa activa), difusión interna en los poros y la adsorción mediante fuerzas intermoleculares. Asimismo la retención de los compuestos depende del coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}) de los estrógenos, pH de la solución y de los parámetros de operación del módulo de filtración.

Además, otro hecho por el cual se presenta altas retenciones de los compuestos en la membrana de ultrafiltración fue la presión aplicada al proceso, la cual fue baja. Aunque lo normal es que la retención de los solutos aumente con la presión hasta alcanzar un valor asintótico, para el caso de solutos orgánicos que tienen una fuerte interacción con los polímeros de las membranas, la retención puede aumentar al decrecer la presión y viceversa. Nghiem *et al.* (2002) han reportado que la retención de la estrona y el estradiol disminuye hasta en 20% cuando existe un incremento en la PTM de 10 a 25 bares.

Consecuentemente, se debe considerar la hidrofobicidad de las membranas en la remoción de los estrógenos, ya que cuando la membrana es más hidrofílica puede poseer una mayor afinidad con las moléculas de agua, creándose menores sitios activos disponibles para la formación de enlaces entre los estrógenos y la membrana, lo que conlleva a la reducción de la capacidad de adsorción de la membrana.

Comerton *et al.* (2007) realizaron un estudio para observar la adsorción de 22 compuestos disruptores endocrinos, incluyendo el E1, E2 y EE2 utilizando membranas de ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF) y osmosis inversa (OI), con concentraciones de CDE típicamente encontradas en el ambiente, en función de las características y propiedades de las membranas. En general, la adsorción de los CDE en las membranas fue observada en el siguiente orden: UF > NF > OI. La adsorción observada más significativa fue determinada utilizando membranas de ultrafiltración de material polimérico de polisulfona.

Estudios de adsorción de estrógenos en membranas han mostrado que la adsorción del soluto no está restringida por la superficie de las membranas, si no que también puede ocurrir en la capa activa, soporte y poros de las membranas. Distinguir la adsorción que ocurre en varias partes de la estructura de la membrana es difícil (Yoon *et al.*, 2004; Kiso *et al.*, 2002). La adsorción se supone que es llevada a cabo por puentes de hidrógenos entre las moléculas del compuesto y el material de construcción de las membranas.

Kiso *et al.* (2000) determinaron que la retención de un pesticida por nanofiltración y osmosis inversa estuvo correlacionada con el coeficiente de partición octanol-agua. Yoon *et al.* (2006) estudiaron la retención de 52 CDE en membranas de ultrafiltración y nanofiltración bajo condiciones de no equilibrio, observándose que la remoción fue más alta en el caso de compuestos hidrofóbicos y con membranas de ultrafiltración.

La polaridad de la molécula también puede influir significativamente en la adsorción de los microcontaminantes orgánicos en las membranas. Los compuestos no polares se pueden dirigir hacia la superficie de la membrana con carga opuesta permitiendo que el compuesto entre más fácilmente en la estructura de la membrana.

La adsorción de los compuestos está también relacionada con el tamaño de poro de la membrana como se mencionó anteriormente. Membranas con un tamaño de poro más grande permiten que los compuestos puedan acceder a los sitios internos de adsorción.

Mientras más acceden los compuestos a los sitios internos de las membranas, mayor es su adsorción. Sin embargo, estos pueden ser limitados con membranas más apretadas y/o con poros mucho más pequeños como el caso de la nanofiltración y osmosis inversa (Yoon *et al.*, 2004; Combe *et al.*, 1999).

La rugosidad superficial de las membranas aumenta la adherencia de los coloides en la superficie de las membranas y por consiguiente a un aumento en la colmatación de las membranas. Entre más grande sea la superficie rugosa, más grande es el área superficial de las membranas, permitiendo más contacto con las partículas. Por lo tanto se espera que los microcontaminantes orgánicos tengan un comportamiento similar a los coloides y sean fijados por adsorción más fácilmente en las membranas con las superficies rugosas y poros más abiertos (Xu *et al.*, 2006).

La remoción inicial vía adsorción se establece cuando el equilibrio es alcanzado, sin embargo, otros mecanismos pueden contribuir a la remoción de estos compuestos, como por ejemplo, exclusión de tamaño y repulsión de la carga. Una vez de que el equilibrio es alcanzado, la adsorción puede tener un impacto adverso ya que se ha mostrado que los compuestos adsorbidos pueden disolverse dentro de la capa activa de la membrana, luego transportándose mediante difusión a través del polímero y finalmente una desorción puede ocurrir hacia el permeado de las membranas (Van den Berg y Smolders., 1992).

Estudios realizados por Chang *et al.* (2006) estudiaron la remoción de E1 y E2 en membranas de fibra hueca de ultrafiltración con y sin biopelícula. De acuerdo a sus resultados, las membranas con una biopelícula formada en la superficie de las fibras huecas promovieron una mejor remoción de los compuestos que en las membranas sin biopelícula.

4.2.2.2. Operación y desempeño de los BRM a nivel laboratorio en la remoción de E1, E2 y EE2

Con el fin de determinar la remoción, el transporte y el destino de los estrógenos en bio-reactores con membranas, se trabajaron con tres reactores a nivel laboratorio con concentraciones de biomasa de $4,350 \pm 390 \text{ mg.L}^{-1}$ (BRM 1), $5,480 \pm 407 \text{ mg.L}^{-1}$ (BRM 2) y $6,480 \pm 411 \text{ mg.L}^{-1}$ (BRM 3), los cuales fueron operados con TRH de 7 y 12 h y con diferentes TRC entre 35 y 95 d. Las concentraciones de los compuestos en los influentes fueron para el E1 de 42-293 ng.L^{-1} , para el E2 de 41.5-234.4 ng.L^{-1} y de 47.8-229 ng.L^{-1} para el EE2.

Los reactores operaron durante 284 días, los cuales fueron divididos en diferentes fases experimentales. La primera fase para todos los reactores corresponde a la aclimatación de la biomasa. Para el BRM 1, la segunda fase de experimentación corresponde a un TRH de 12 h y un TRC de 75 d. La tercera y cuarta fase, el reactor operó con un TRH de 12 y 7 h con un TRC de 35 d. El BRM 2 operó con un TRH de 12 h y un TRC de 45 d correspondiente a la segunda fase experimental. En el tercer y cuarto periodo experimental el TRH fue de 12 y 7 h trabajando con un TRC de 60 d. Asimismo, para el BRM 3, en la segunda fase experimental el reactor operó con un TRH y TRC de 12 h y 95 d respectivamente. La tercera fase corresponde a una operación del reactor con un TRH de 7 h y con un TRC de 95 días.

La concentración de los compuestos fueron determinados en el influente, efluente y en la biomasa de los reactores. En la Figura 4.29, 4.30 y 4.31 se presenta la evolución de la remoción de los estrógenos en el BRM 1, BRM 2 y BRM 3 respectivamente. Se observa que durante los primeros 49-56 días de operación de los reactores existieron remociones inestables de los compuestos esto debido a un periodo de aclimatación de la biomasa. Durante este periodo, el E1 y EE2 presentaron remociones entre un 88 y 92 % con concentraciones promedios en el efluente de 4 ng.L^{-1} mientras que el E2 se obtuvieron remociones de 96% operando con un TRH de 7 h con concentraciones en el efluente de 2 ng.L^{-1} . A partir del día 50, se observó un periodo de estabilidad en la remoción de los estrógenos el cual estuvo ligado a un aumento en la concentración de la biomasa. Este comportamiento fue indicativo de una biomasa aclimatada. Por lo tanto, a partir del día 50 los reactores fueron operados con diferentes tiempos de residencia hidráulica y tiempos de retención celular. Durante la fase de aclimatación de la biomasa el TRC no fue controlado. Abegglen *et al.* (2009) observaron que el EE2 alcanzó condiciones estacionarias en aproximadamente 180 d en un BRM. Por lo tanto, para obtener una completa aclimatación de la biomasa a los compuestos puede ser considerado un periodo mínimo de 50 días. Durante este periodo y hasta el día 273 todos los reactores fueron operados con un TRH de 12 h. La remoción del E1 y EE2 aumentó alcanzando remociones del 98% y 97% respectivamente. Una eficiencia de eliminación del 99% del E2 fue obtenida en los reactores observándose detecciones de este compuesto por debajo del límite de detección (LDD). El incremento de las remociones de los estrógenos correspondió a un aumento en las actividades de nitrificación de las biomazas de los reactores los cuales fueron ligados a los diferentes

TRC operados en los BRM. Se observó que la remoción del E1, E2 y EE2 decrecieron un 3% cuando el TRH se disminuyó de 12 a 7 h.

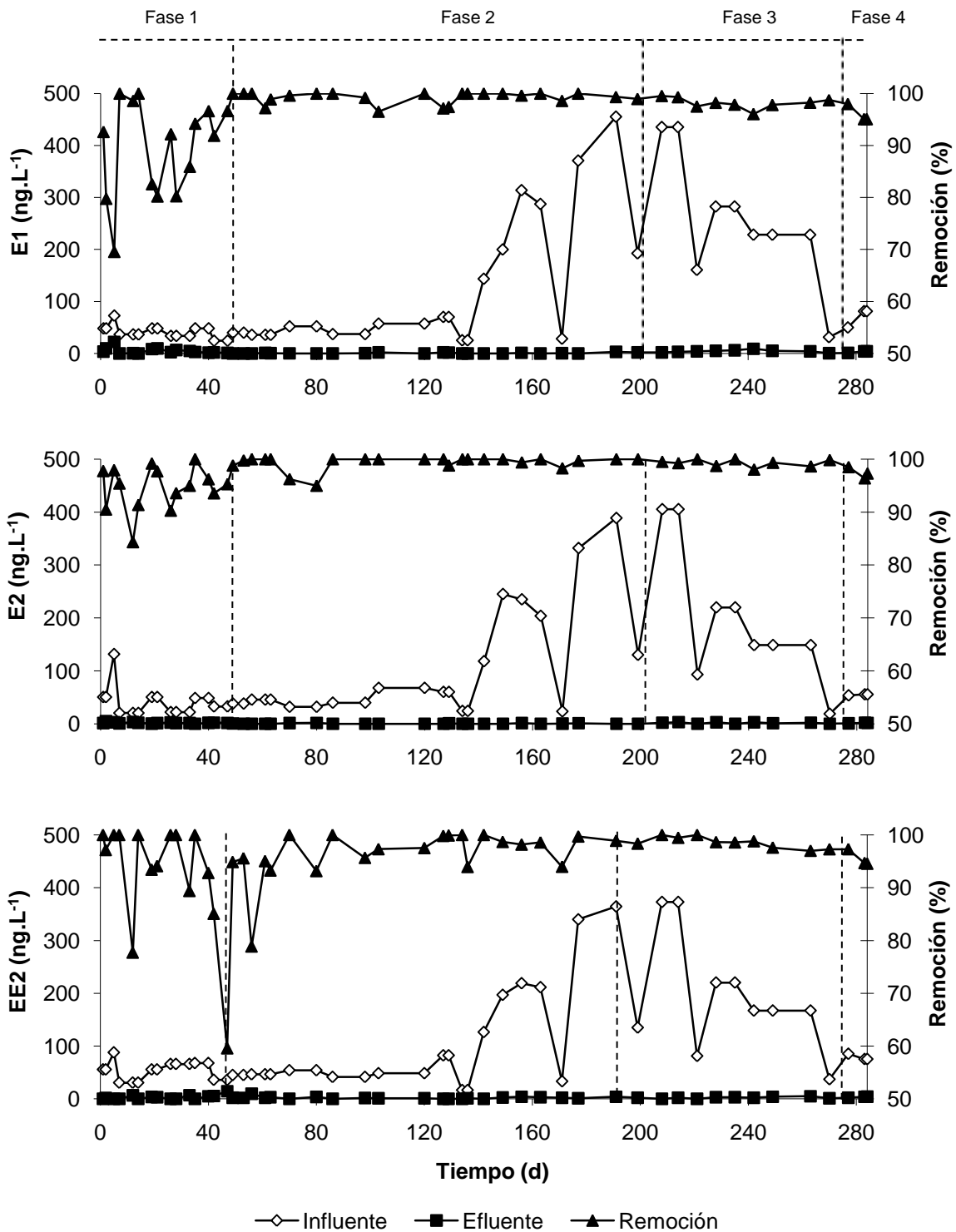


Figura 4.29. Comportamiento de los estrógenos en el BRM 1

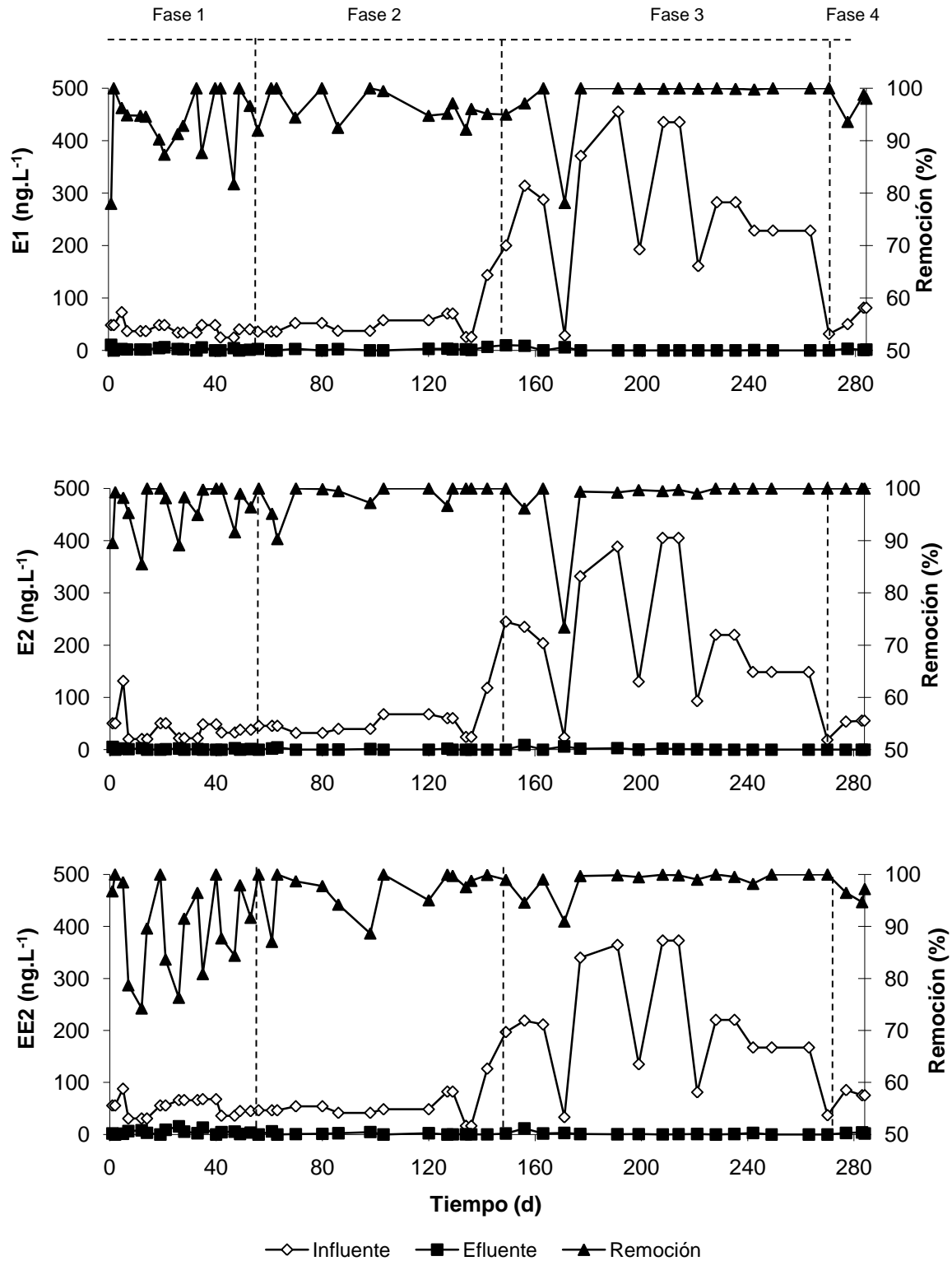


Figura 4.30. Comportamiento de los estrógenos en el BRM 2

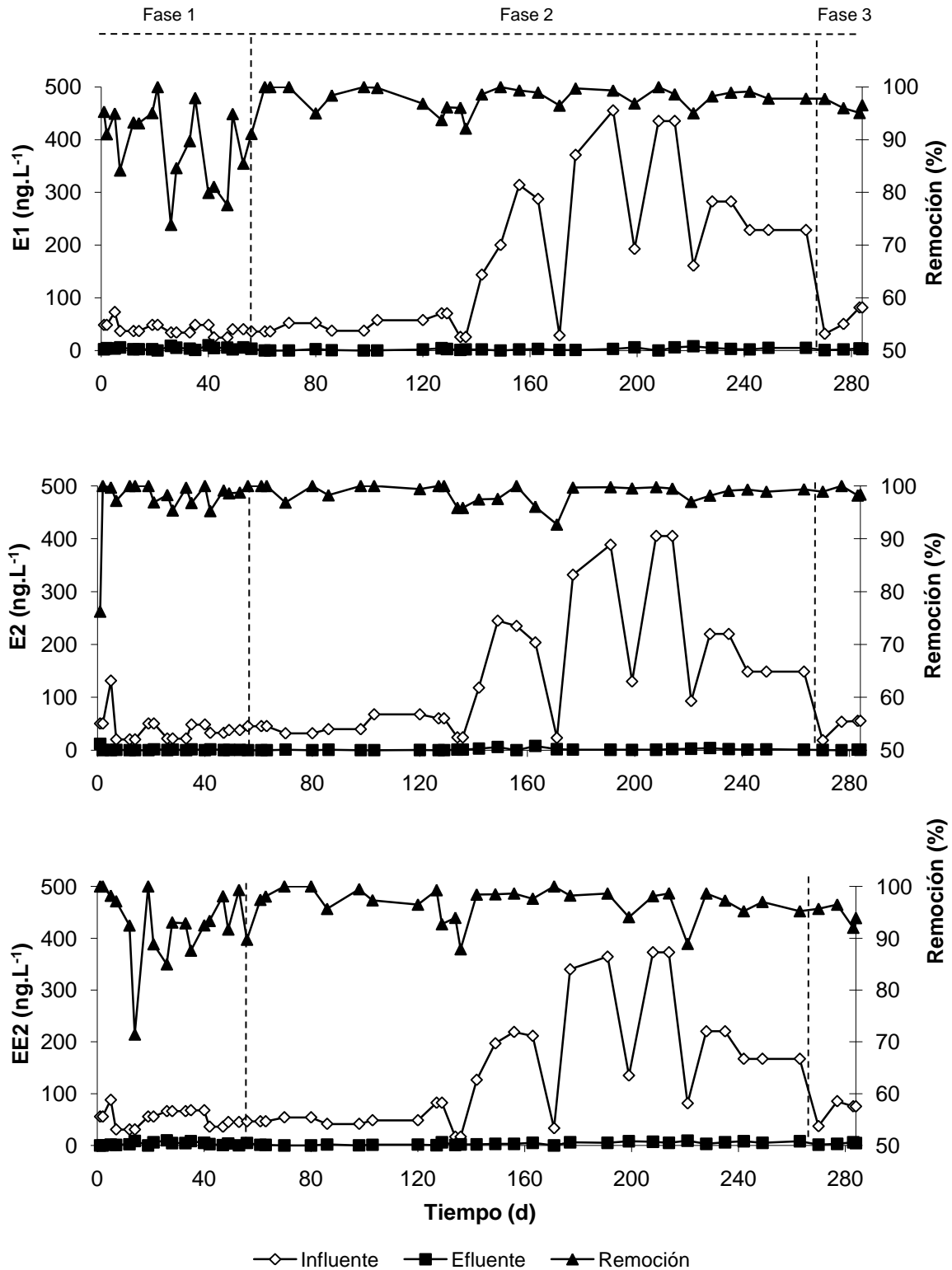


Figura 4.31. Comportamiento de los estrógenos en el BRM 3

Para disminuir los efectos disruptivos de los estrógenos es necesario que las concentraciones del E1, E2 y EE2 en los efluentes de los sistemas de tratamiento sean menores a 1 ng.L^{-1} (Thorpe *et al.*, 2003; Bachmann *et al.*, 2002; Solé *et al.*, 2001; Segner *et al.*, 2001; Rodgers-Gray *et al.*, 2000; Sumpter, 1995). En la Tabla 4.14, se muestran las concentraciones de los estrógenos en los efluentes de los reactores para cada condición de operación en estado estacionario excepto para la fase experimental 1 (aclimatación de la biomasa).

Se muestra que las concentraciones de los compuestos en los efluentes de los reactores en la etapa de aclimatación de la biomasa fueron entre 1 y 5 ng.L^{-1} . Las altas concentraciones de los estrógenos detectadas en los efluentes de los reactores estuvieron relacionadas a diferentes factores tales como a una biomasa no aclimatada, al TRH y baja tasa de nitrificación, la cual estuvo relacionada con el TRC. Cuando los reactores fueron operados con TRC mayores a 35 d, las tasas de nitrificación se incrementaron incrementándose las remociones de los compuestos. Sin embargo, se observa que operando con TRC de 35, 75 y 95 d, las concentraciones E1 y EE2 en los efluentes de los reactores fueron altas.

Los mejores resultados obtenidos en la remoción de los estrógenos fueron con TRC de 45 y 60 días con concentraciones hasta por debajo del límite de detección. En lo que respecta con el TRH, se observó que trabando con TRH de 12 h las concentraciones de los estrógenos disminuyen. Por lo tanto, el TRH y el TRC influyeron en la remoción del E1, E2 y EE2.

El E2 fue el compuesto que presentó una mayor remoción desde el arranque de los reactores, esto se debe a que el E2 es más biodegradable que el E1 y EE2 (Andersen *et al.*, 2003; Baronti *et al.*, 2000).

En la Figura 4.32 se presentan las remociones promedios de los estrógenos respecto a la concentración de los SSV. Se observó que la concentración de la biomasa expresada como SSV no influyó sustancialmente sobre la remoción del E1, E2 y EE2, ya que para las diferentes concentraciones de biomasa se obtuvieron remociones del 97.5 ± 0.2 para el E1, 98.4 ± 0.3 para el E2 y de $97.6 \pm 0.3\%$ para el EE2. El término \pm indica la diferencia del porcentaje de remoción de los estrógenos entre las tres concentraciones de biomasa probadas.

Tabla 4.14. Concentraciones de E1, E2 y EE2 en los efluentes de los BRM con diferentes condiciones de operación

Fase experimental	Efluente (ng.L ⁻¹)		
	E1	E2	EE2
	<i>BRM 1</i>		
Aclimatación de la biomasa	5 ±2	2 ±1	3 ±2
TRH 12 h TRC 75 d	4 ±3	< LDD	2 ±2
TRH 12 h TRC 35 d	1 ±1	1 ±2	2 ±3
TRH 7 h TRC 35 d	4 ±2	2 ±1	4 ±3
	<i>BRM 2</i>		
Aclimatación de la biomasa	3 ±2	1 ±2	4 ±3
TRH 12 h TRC 45 d	1 ±3	< LDD	2 ±2
TRH 12 h TRC 60 d	< LDD	< LDD	< LDD
TRH 7 h TRC 60 d	2 ±4	< LDD	3 ±3
	<i>BRM 3</i>		
Aclimatación de la biomasa	4 ±1	1 ±1	3 ±3
TRH 12 h TRC 95 d	2 ±4	1 ± 2	4 ±3
TRH 7h TRC 95 d	5 ±2	1 ±1	6 ±2

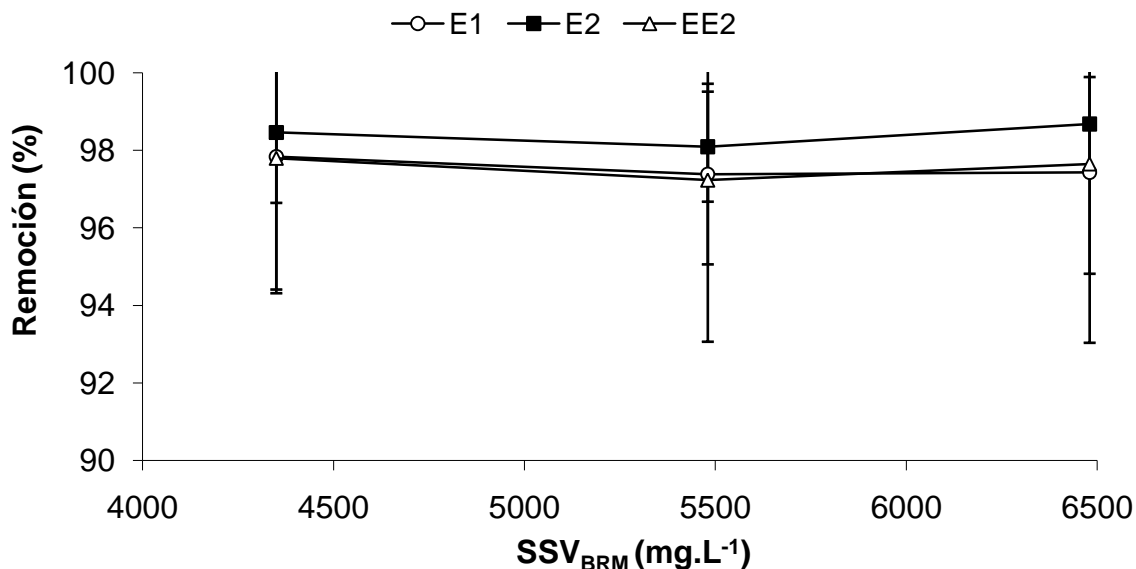


Figura 4.32. Influencia de los SSV sobre la remoción de E1, E2 y EE2

4.2.2.2.1. Influencia del TRC y TRH sobre la remoción de los estrógenos

Se ha reportado que las altas remociones de algunos compuestos disruptores endocrinos y fármacos generadas en algunos procesos biológicos de tratamiento de agua entre los que se destacan los bio-reactores con membranas son obtenidas cuando estos procesos trabajan con prolongados TRC (Clara *et al.*, 2005; Poseidon, 2005; Joss *et al.*, 2004; Kreuzinger *et al.*, 2004). Igualmente, se ha encontrado que la remoción de fármacos pueden presentar remociones considerables incrementando el TRC de 15 a 72 d (Radjenovic *et al.*, 2009; Reif *et al.*, 2008, Kimura *et al.*, 2007) y los estrógenos entre 17 y 33 d (Hu *et al.*, 2007) en BRM y lodos activados.

De acuerdo con Clouzot *et al.* (2010), un aumento en el TRC permite el desarrollo de microorganismos específicos de lento crecimiento (por ejemplo las bacterias nitrificantes) dentro del sistema, estableciéndose de esta manera, una biocénosis más diversa con altas capacidades fisiológicas para degradar contaminantes específicos y/o compuestos difíciles de remover, a parte de que pueden alcanzar una completa adaptación a la presencia de estos contaminantes. Tales bacterias usualmente no están presentes en los sistemas convencionales como el de los lodos activados. Por lo tanto, es muy importante la determinación de un rango de trabajo de TRC en plantas de tratamiento de aguas residuales con los cuales se pueden asegurar altas remociones de microcontaminantes.

Otro factor que influye sobre las eficiencias en los sistemas de tratamiento de aguas residuales es el TRH. Se ha reportado que altos valores de TRH permiten que los

procesos de adsorción y biodegradación se lleven a cabo más fácilmente incrementándose la remoción de estrógenos (Servos *et al.*, 2005; Andersen *et al.* (2003); Williams *et al.*, 2003; Layton *et al.*, 2000). Clara *et al.* (2005), Johnson y Sumpter (2001), Spengler *et al.* (2001), Baronti *et al.* (2000) y Johnson *et al.* (2000) indicaron que para obtener mejores remociones de E1, E2 y EE2 se necesitan largos TRC y altos TRH.

Una de las mayores ventajas que presentan los BRM sobre los lodos activados convencionales es que el TRC y el TRH pueden trabajarse de forma independiente además de que pueden ser operados con altos TRC y en el de los lodos activados no. El TRC en sistemas convencionales se encuentran en el rango de 5 y 20 d mientras que en los BRM esta entre 20 y 50 d. En plantas pequeñas o descentralizadas como casi no hay purga de lodos se pueden generar TRC mayores a 100 d (Abegglen *et al.*, 2009). En un principio, los BRM pueden ser operados simultáneamente con bajos y altos TRH y TRC respectivamente, sin embargo los BRM pueden operar con altos TRC y TRH. Otra de las ventajas que ofrecen los BRM es que se pueden trabajar con altas concentraciones de biomasa dentro del reactor (10-20 g SSV.L⁻¹) mejorándose las tasas de remoción de compuestos lipofílicos como los estrógenos debido a una alta actividad biológica por unidad de volumen (Weiss y Reemtsam, 2008). Por lo tanto, se ha visto que el incremento en el TRC y el TRH favorecen la remoción de los estrógenos. Sin embargo, pocos estudios han relacionado el efecto que presenta el TRC y la variación del TRH y viceversa sobre la remoción de estos compuestos. Uno de los objetivos de este trabajo fue comparar la relación que existen entre estos dos parámetros operaciones sobre la eliminación de E1, E2 y EE2. En este estudio se probaron 5 TRC los cuales fueron de 35, 45, 60, 75 y 95 días, variando el TRH de 7 a 12 h.

Las mejores remociones de contaminantes presentes en las aguas residuales se encuentran cuando los sistemas están en estado estacionario los cuales son obtenidos generalmente de 2 a 3 veces el TRC. Otro criterio práctico que define a un BRM en estadio estacionario es cuando el sistema esta operando con TRC mayores a 50 d, mostrandose una estabilización de los SSV después de pocos días de operación una vez alcanzado este TRC (Barrios-Martinez *et al.*, 2006). En este estudio las condiciones estacionarias en los reactores se definieron como 2 veces el TRC propuesto.

En la Figura 4.33a se muestran las remociones de E1, E2 y EE2 con los 5 TRC estudiados con un TRH de 12 h. Las mayores remociones de E1, E2 y EE2 obtenidas para estas condiciones fueron con un TRC de 60 d con remociones de los tres compuestos del 100%. Con TRC mayores a 75 días la capacidad de microorganismos para remover a los estrógenos se vió afectada ya que las remociones de los estrógenos disminuyeron pasando del 100% hasta un 96%. El mismo comportamiento fue observado para un TRC de 35 y 45 días. El compuesto más estable para estas condiciones probadas, es decir, que sus remociones no se ven afectas por el TRC (excepto para un TRC de 35 d) fue el estradiol.

Por otro lado, en la Figura 4.33b se presentan las remociones de los estrógenos obtenidas cuando los reactores fueron operados con TRC de 35, 60 y 95 d trabajando con TRH de 7 h. Al igual que con la operación de los reactores con un TRH de 12 h, los mejores resultados en las remociones de los compuestos fueron con un TRC de 60 d. Sin embargo, en este caso las remociones de E1, E2 y EE2 fueron menores al 100% respectivamente, lo cual indicó que el TRH si afectó la eliminación de los estrógenos excepto para el E2. Para un TRC de 35 y 95 d, las remociones de los compuestos fueron entre un 94 y 98%, las cuales fueron menores comparados con un TRH de 12 h.

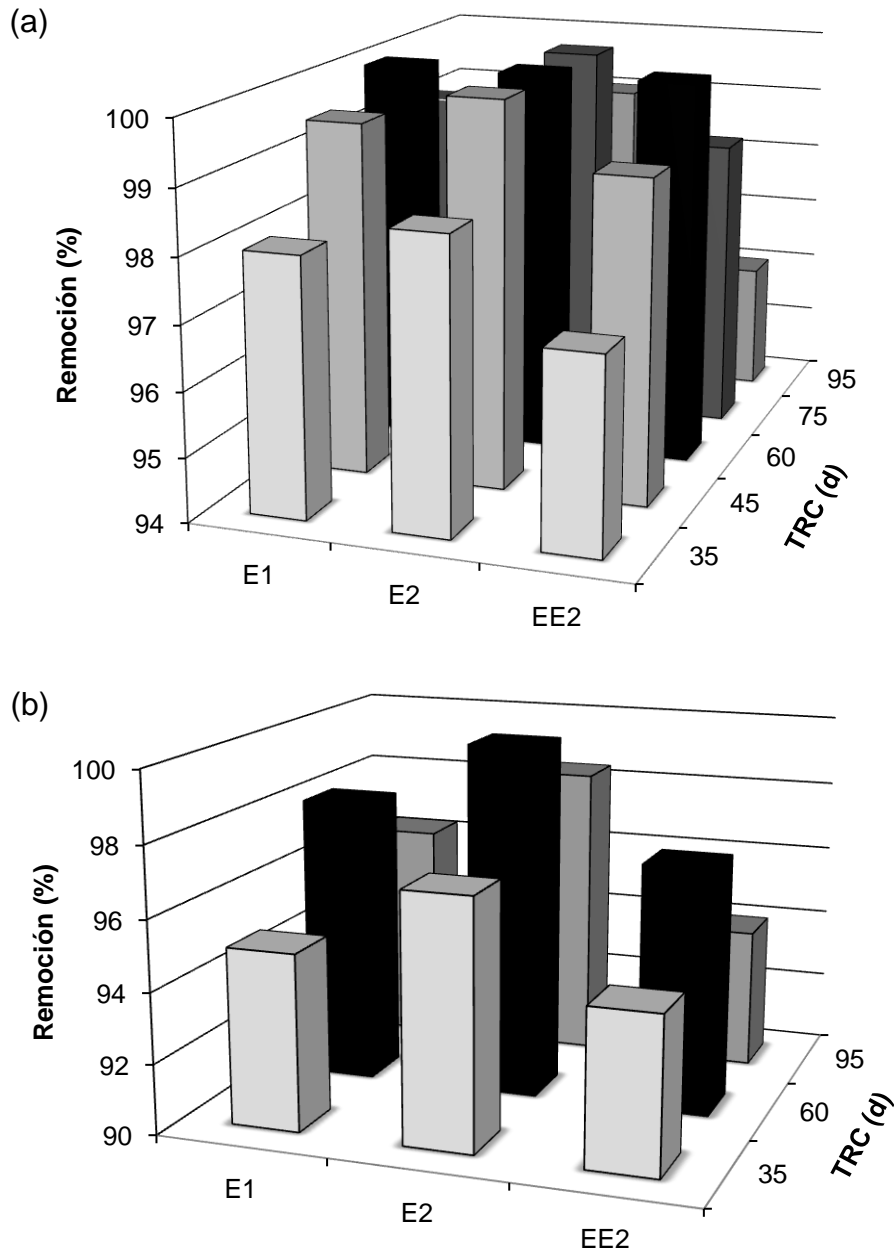


Figura 4.33. Remoción de estrógenos con diferentes TRC y TRH. a) TRH = 12 h, b) TRH = 7 h

Un factor por el cual con tiempos prolongados de retención celular se reduce la remoción de los estrógenos puede ser debido a que cuanto más alto es el TRC la biomasa está más estabilizada lo que corresponde también a un aumento en la fracción orgánica inerte producto de la lisis celular de la biomasa dando como resultado ésta disminución.

Asimismo en la Figura 4.34 se muestra la relación entre el TRH y el TRC en la remoción de E1, E2 y EE2. Se observa claramente que tanto el TRH como el TRC influyen sobre la remoción de los estrógenos. Para un TRC de 35 d y con un TRH de 7 h, la remoción de los estrógenos fueron entre un 94 y 97%, mientras que para un TRH de 12 h las remociones fueron un 97 y 98%. Con un TRC y TRH de 95 d y 7 h respectivamente, las remociones de los compuestos se encontraron entre un 93 y 98%. Para un TRH de 12 h, las remociones fueron entre un 95 y 98%.

Los resultados indicaron que el mejor desempeño de los BRM en la remoción de los estrógenos fueron cuando operaron con un TRC 60 d y con un TRH de 12 h. Las eficiencias de eliminación para estas condiciones de operación fueron del 100% con concentraciones en el efluente menores a 1 ng.L^{-1} . Este hecho puede estar relacionado a 4 factores:

1. a la posible presencia de microorganismos nitrificantes capaces de remover estrógenos, esto debido a que se observó una alta actividad de nitrificación en el sistema.
2. que bajo estas condiciones de operación, los microorganismos dentro del reactor estuvieron sujetos a condiciones extremas de alimentación previniendo el proceso anabólico y permitiendo solo condiciones metabólicas, forzando de esta manera a los microorganismos a metabolizar también compuestos con baja biodegradabilidad.
3. la adsorción de los compuestos en la biomasa.
4. y a las membranas.

Este último hay que considerarlo como un factor importante en la remoción de E1, E2 y EE2, ya que los espacios libres o sitios activos en los poros internos de las membranas y sobre la superficie de estas, generan una adsorción de los compuestos sobre las membranas. Asimismo, la acumulación de material colmatante sobre la superficie de las membranas disminuyen el tamaño del poro de las membranas permitiendo que las membranas funjan como barreras físicas para los estrógenos.

Esta es una explicación del porque la remoción de microcontaminantes puede ser superior en BRM que un proceso de lodos activados.

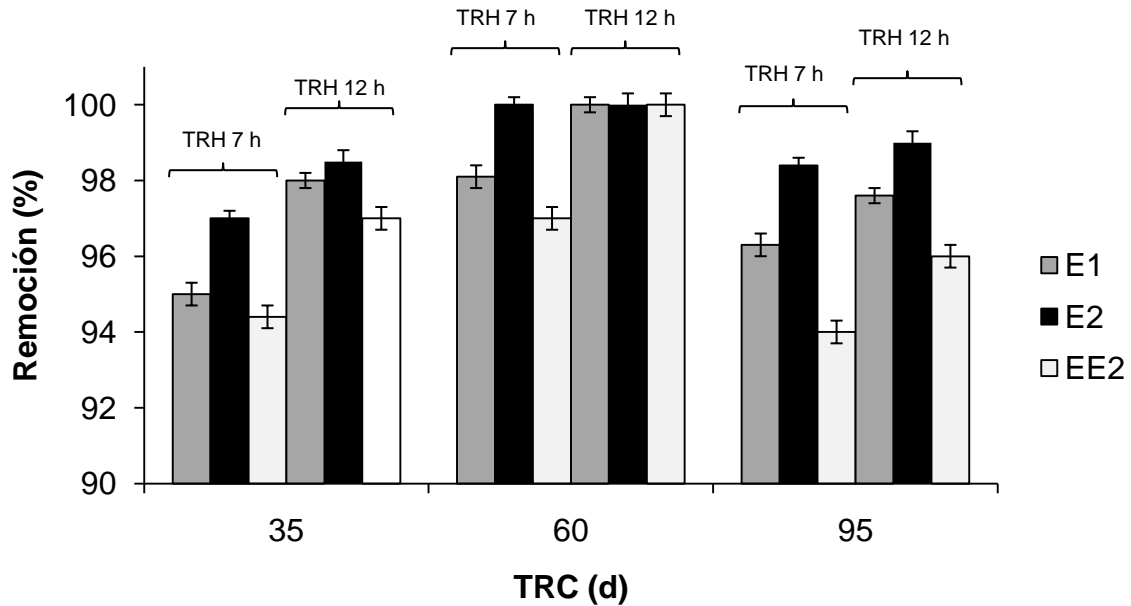


Figura 4.34. Relacion entre diferentes TRC y TRH sobre la remoción de E1, E2 y EE2

De acuerdo a la Figura 4.35, la remoción del E1 y EE2 se ve afectado por la variación del TRH mientras que para el E2 el TRH no influye drásticamente en su eliminación siendo este compuesto el más fácil de remover comparado con el E1 y EE2. El espacio entra la línea y el guión indica una diferencia 2% respecto al 100%. Se mostró que con un TRH de 12 h los estrógenos fueron detectados por debajo de límite de detección. Por lo tanto, valores altos de TRH (mayores o igual a 12 h) se necesitan para obtener altas remociones de E1, E2 y EE2.

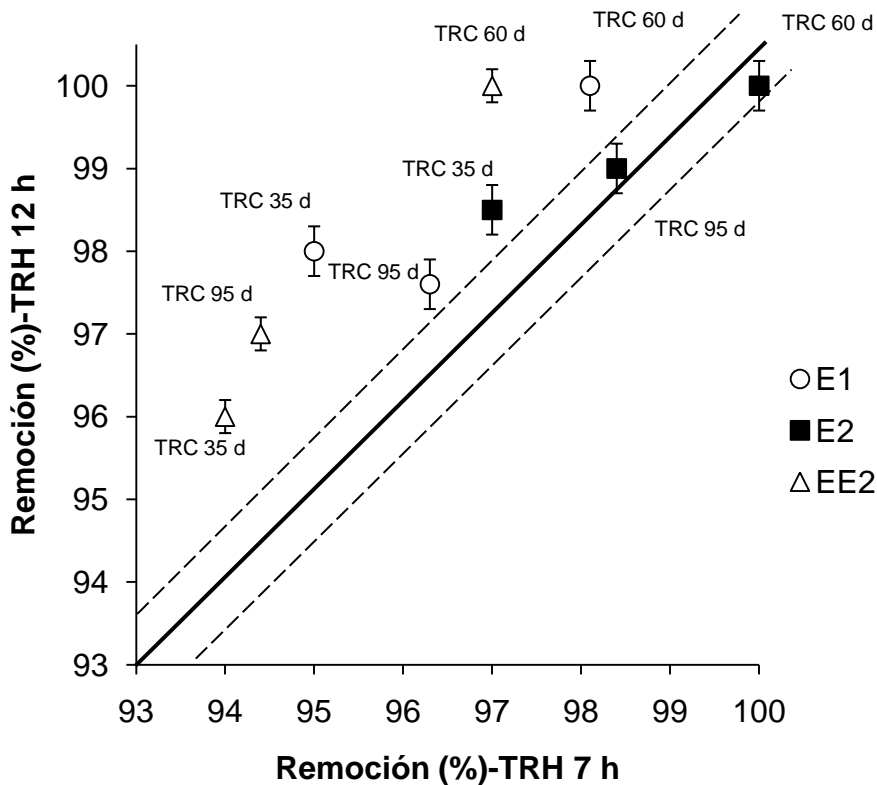


Figura 4.35. Remoción de E1, E2 y EE2 con un TRH de 7 y 12 h

Lee *et al.* (2008) estudiaron la remoción de E1 y EE2 en un bio-reactor con membranas sumergidas, en los cuales obtuvieron remociones del 71 y 64 % respectivamente, siendo el compuesto más recalcitrante el EE2. Asimismo, Suarez *et al.* (2010) encontraron que el EE2 es el compuesto más recalcitrante comparado con el E1 y E2 en un proceso biológico. Los resultados obtenidos en éste trabajo y de acuerdo a lo reportado por otros investigadores, se confirma que el EE2 es el compuesto más recalcitrante de los dos estrógenos estudiados.

Pocos estudios han demostrado el efecto que tiene la relación entre el TRC y el TRH sobre la remoción de E1, E2 y EE2. Por un lado, Weiss y Reemtsam (2008) reportaron que un alto TRC y TRH tienen un efecto positivo en la eliminación de los compuestos, sin embargo, indicaron que el TRC sí influye en la remoción de los compuestos y el TRH no. Mientras que Servos *et al.* (2005) encontraron que el TRC no presenta una relación sustancial en la remoción de estrógenos y la variación del TRH sí tiene un efecto sobre la remoción de los estrógenos. En este estudio, se difiere a lo reportado por estos autores ya que de acuerdo a los resultados obtenidos el TRH y TRC fueron intrínsecamente relacionados sobre la remoción de E1, E2 y EE2 como se demostró anteriormente.

Los resultados de diferentes literaturas sobre la remoción de E1, E2 y EE2 con diferentes condiciones de operación se presentan en la Tabla 4.15. Se observa que existen diferencias en las remociones de microcontaminantes en relación con el TRC y el HRT. Este hecho, puede estar influenciado por varios factores como por ejemplo, periodos cortos de operación, carga de estrógenos, el tipo de agua (real o sintética) y la operación con un TRC y varios TRH y viceversa. Asimismo, los resultados muestran que la remoción de E1, E2 y EE2 en un BRM es mayor comparado con otros sistemas de tratamiento biológico. Abegglen *et al.* (2009) propusieron que los BRM puede ser una opción viable para el reúso del agua con una alta calidad del agua tratada y una alta remoción de farmacéuticos, productos para el cuidado personal y compuestos disruptores endocrinos.

Tabla 4.15. Remoción de E1, E2 y EE2 mediante diferentes procesos biológicos

Compuesto	TRC (d)	TRH (h)	Remoción (%)	Proceso biológico	Referencia
E1, E2, EE2	50	-	87-99	Lodos activados con nitrificación	Suarez <i>et al.</i> (2010)
EE2	50	19-50	99	BRM	Clouzot <i>et al.</i> (2010)
EE2	100	82-1510	92	BRM	Abegglen <i>et al.</i> (2009)
EE2	-	2-4 (d)	99	BRM	De Gusseme <i>et al.</i> (2009)
E1, E2, EE2	4.5	14	82-98	Lodos activados	Gunnarsson <i>et al.</i> (2009)
E1, E2, EE2	87	8	98-100	BRM	Gunnarsson <i>et al.</i> (2009)
E1, E2, EE2	2-17	-	57-98	SBR	Pholchan <i>et al.</i> (2008)
E1, EE2	20	8	64-71	BRM	Lee <i>et al.</i> (2008)
E1, E2	180	-	60-69	SBR	Balest <i>et al.</i> (2008)
E1, E2, EE2	17-33	6	10-40	BRM	Hu <i>et al.</i> (2007)
E1, E2, EE2	22-82	23	77-96	BRM	Clara <i>et al.</i> (2005)
E1, E2, EE2	2-550	23	20-90	Lodos activados	Clara <i>et al.</i> (2005)
E1, E2	-	10-14	60	Lodos activados	Williams <i>et al.</i> (2003)
E1, E2	-	2-3	44-49	Lodos activados	Williams <i>et al.</i> (2003)
E1, E2, EE2	-	2-8	58-94	Lodos activados	Fujii <i>et al.</i> (2002)
E1, E2, EE2	35-95	7-12	93-100	BRM	En este estudio

A pesar de que las remociones de E1, E2 y EE2 obtenidas en este trabajo se ven afectas por el TRC y TRH se obtuvieron remociones altas de estos compuestos con las diferentes condiciones de operación probadas comparadas con otros procesos

biológicos incluyendo BRM. Estas remociones obtenidas en los reactores estuvieron correlacionadas también a un proceso de nitrificación generado por los altos TRC operados.

Suarez *et al.* (2010), mostraron el efecto de la nitrificación y desnitrificación un reactor sobre la remoción de estrógenos. Sus resultados mostraron que en condiciones de nitrificación se presentan altas remociones de los estrógenos entre un 87 y 99% con un TRC mayor a 50 d, mientras que en condiciones anóxicas, la remoción de los compuestos fueron menores a 72% con TRC menores y mayores a 20 d. De acuerdo a esto, el TRC en condiciones de nitrificación si afecta a la remoción de los 3 estrógenos mientras que en condiciones desnitrificación el TRC no influye.

Como se mencionó anteriormente, la operación de los BRM con diferentes condiciones de operación en términos del TRC y TRH son parámetros completamente independientes, sin embargo, estos parámetros operacionales no son completamente independientes del uno con el otro y estas condiciones operacionales pueden variar de acuerdo a las características fisicoquímicas del influente. Por ejemplo, una selección desacoplada del TRH y TRC en un BRM no puede ser posible. Cuando el TRH disminuye existe un incremento en el flujo dentro del reactor, en la cantidad de material particulado y en la tasa de crecimiento de la biomasa. Para mantener una concentración de SSV en un rango operable de biomasa es decir con TRC no muy prolongados, la biomasa tiene que ser purgada permitiendo que el TRC disminuya.

Además, altos tiempos de TRC y bajos TRH pueden resultar en un incremento en el taponamiento de las membranas debido a la acumulación de sustancias poliméricas extracelulares sobre la superficie de las membranas y al crecimiento progresivo de la biomasa (Djamila *et al.*, 2008). La opción de proponer un TRC y un TRH adecuado para alcanzar una mejor calidad de agua tratada debe estar intrínsecamente relacionada con el taponamiento de las membranas, por lo tanto, seleccionar un mejor TRC y TRH nos ayudará a una mayor remoción de los estrógenos disminuyendo los problemas asociados en el taponamiento de las membranas.

La variación de un TRC y un TRH puede afectar las eficiencias de remoción del proceso (remoción de estrógenos, material orgánico y nutrientes), así como también las estructuras de las comunidades bacterianas, composición de las poblaciones bacterianas, las bioactividades en los sistemas de tratamiento de aguas residuales y la colmatación de las membranas.

4.2.2.2. Relación entre la remoción del E1, E2 y EE2 y el proceso de nitrificación

Se ha observado que las plantas de tratamiento de aguas residuales que incluyen procesos de nitrificación pueden mejorar las remociones de E1, E2 y EE2 (Clara *et al.*, 2005; Svenson *et al.*, 2003). La actividad de los microorganismos autótrofos como los nitrificantes y algunos microorganismos heterótrofos como *Pseudomonas putida* son

reportados que pueden contribuir con la remoción de E1, E2 y EE2 presentes en las aguas residuales mediante cometabolismo (Yi y Harper, 2007; Shi *et al.*, 2004). Yi y Harper (2007) mostraron que la enzima monoaminooxigenasa el cual es una enzima que cataliza el primer paso de la nitrificación de nitrógeno amoniacal a hidroxilamina juega un papel importante en la degradación de EE2. Shi *et al.* (2004) y Vader *et al.* (2000) demostraron una alta degradación de EE2 con una biomasa con alta actividad nitrificante.

Yi y Harper (2007) propusieron el concepto de que los microorganismos nitrificantes que degradan a los estrógenos generan intermediarios que subsecuentemente sirven como sustrato para los organismos heterótrofos. Por otro lado, Gaulke *et al.* (2008) sugieren que el primer mecanismo de la degradación de los estrógenos está ligado a una actividad por parte de los microorganismos heterótrofos. Ellos proponen que la remoción de estos compuestos mediante bacterias oxidantes del amonio es debido a reacciones abióticas de nitración con el estrógeno, es decir, mediante un proceso químico mediante la adición de la introducción de un grupo nitro en un sitio activo del compuesto gobernado por una alta concentración de nitritos (N-NO_2^-) después de la oxidación de altas concentraciones de nitrógeno amoniacal (N-NH_4^+).

El desarrollo de microorganismos de lento crecimiento como los microorganismos nitrificantes puede ser alcanzado con altos TRC. En los lodos activados convencionales generalmente operan con bajos TRC entre 15 y 20 d, por lo tanto el desarrollo de nitrificantes es bajo. Sin embargo, en los BRM, la completa retención de la biomasa permite un control sobre el TRC generándose TRC más prolongados estimulándose el crecimiento de microorganismos nitrificantes. Una biomasa con alta actividad nitrificante requiere condiciones específicas de crecimiento y presentan una alta sensibilidad a los parámetros externos tales como el pH, concentración de oxígeno disuelto y temperatura. Las condiciones típicas para los microorganismos nitrificantes se encuentran con pH de 7.5 y concentraciones de oxígeno disuelto por arriba de $4 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$.

En este trabajo se evaluó el proceso de nitrificación sobre la remoción de los estrógenos. En la Figura 4.36, se muestra el comportamiento de las remociones de E1, E2 y EE2 con relación a la formación del nitrógeno de nitratos (N-NO_3^-). La concentración promedio de N-NH_4^+ en los influentes de los reactores en todas las fases experimentales fue de $17.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Se observa que durante los primeros 50 días de operación de los tres reactores (correspondientes a la primera fase experimental), las remociones de los estrógenos no fueron constantes y oscilaron entre un 70 y 97%, típico para los procesos biológicos convencionales con concentraciones en los efluentes entre 1 y $20 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$. Este comportamiento estuvo asociado a una desaclimatación de la biomasa hacia los estrógenos y a una baja producción de N-NO_3^- (entre 3 y $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Este último fue relacionado con el arranque de los reactores, ya que los sistemas fueron inoculados con biomasa proveniente de un proceso de lodos activados convencional, el cual no esta nitrificando. En estas condiciones, se generaron tasas de formación de nitratos de $2.1 \text{ mg} \cdot \text{g SSV}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, las cuales fueron bajas debida a la poca producción de nitratos. Por otro lado, se observó altas remociones del N-NH_4^+ con poca formación de

nitratos durante esta fase experimental. Las altas remociones de nitrógeno amoniacal pudieron estar asociadas a un proceso nitrificación-desnitrificación que fueron llevados a cabo posiblemente a la formación de micronichos anóxicos producto de una mala distribución del aire en los reactores dando como resultado altas remociones del N-NH_4^+ y/o a un error analítico. Durante esta etapa, el E2 fue el compuesto que presentó remociones promedios del 96%, las cuales fueron mayores en comparación con el E1 y EE2 con remociones de 88 y 92% respectivamente. Cabe señalar que durante toda la experimentación, los reactores se mantuvieron con una concentración de oxígeno disuelto entre 6 y 7 mg.L^{-1} . El pH se mantuvo entre 6.5 y 7.3 unidades.

Durante las siguientes fases experimentales, la formación de nitratos en todos los reactores se incrementó de 3 hasta 15 mg.L^{-1} obteniéndose remociones hasta del 100% de E1, E2 y EE2 con TRC de 60 d. El aumento de los nitratos en los efluentes de los reactores estuvo relacionada con la oxidación biológica del NH_4^+ generada por los altos TRC operados en los reactores ($\text{TRC} > 35$ d). Este hecho generó un aumento progresivo de los nitratos en los efluentes de los reactores y una disminución del N-NH_4^+ , indicando un proceso de nitrificación en los sistemas, por lo tanto, bajo estas condiciones, las tasas de formación de nitratos se incrementaron de 2.1 hasta 7.7 $\text{mg.g SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$. A partir del día 50 de operación, todas las biomasas de los reactores entraron en una fase de alta actividad nitrificante con concentraciones de N-NH_4^+ en los efluentes de los reactores por debajo de 1 mg.L^{-1} . Asimismo, la constante alimentación de N-NH_4^+ dentro de los BRM posiblemente permitió el desarrollo de microorganismos nitrificantes. A pesar de que no se realizaron la identificación de microorganismos nitrificantes, el parámetro de respuesta que indicó que la biomasa presentó una alta actividad nitrificante fue la formación de nitratos. Además, el establecimiento de especies microbianas nitrificantes estuvo relacionado con una disminución en la concentración de los SSV las cuales se generaron durante los primeros 50 días de operación. Clouzt *et al.* (2010) indican que las consecuencias de la nitrificación en un proceso biológico es la acumulación de nitratos en el efluente de un reactor.

De esta manera se confirma que los reactores en todas las fases experimentales (excepto la primera fase experimental) estuvieron operando con una alta actividad nitrificante.

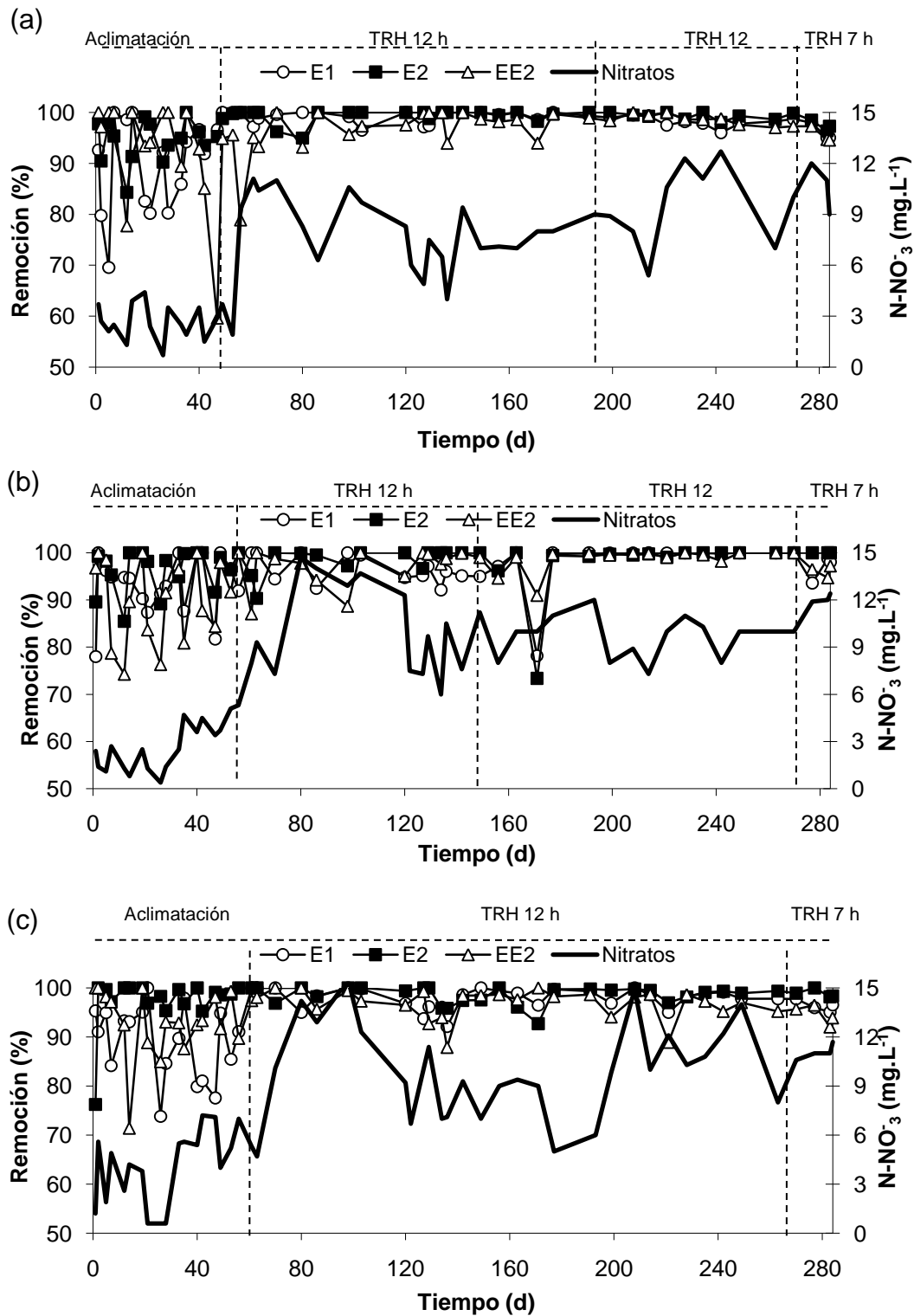


Figura 4.36. Evolución del proceso de nitrificación en la remoción de los estrógenos: a) BRM 1; b) BRM 2 y c) BRM 3

De Gusseme *et al.* (2009), observaron que la remoción de EE2 es mayor con un lodo activado aclimatado al EE2 y con alta actividad de nitrificación comparado con un lodo activado con baja actividad de nitrificación. Con el lodo con una alta y baja actividad nitrificante, las remociones de EE2 fueron del 99 y 87% respectivamente. Este comportamiento fue observado en este trabajo obteniéndose remociones de los estrógenos con una biomasa no aclimatada y con baja actividad de nitrificación entre un 88 y 97%, mientras que para una biomasa aclimatada y con alta actividad de nitrificación la eliminación de los compuestos fueron hasta el 100%.

En la Figura 4.37, se muestra el porcentaje de nitrificación con diferentes TRC. Se observa que durante el periodo de aclimatación de la biomasa, el proceso de nitrificación fue 3 veces más bajo con respecto a los diferentes TRC lo cual estuvo asociado con las bajas remociones obtenidas en los BRM durante esta fase experimental. Este comportamiento mostró claramente la influencia del proceso de nitrificación sobre la remoción de los estrógenos. En general, los reactores generaron una conversión del $N-NH_4^+$ a $N-NO_3^-$ mayor al 50%. Pholchan *et al.* (2008) sugieren que el rol y la abundancia de bacterias nitrificantes (especialmente la enzima monooxigenasa) esta en relación con la formación de nitritos y nitratos en un reactor biológico deberán presentar una mayor remoción de los estrógenos en el agua residual. Los resultados obtenidos en este trabajo corroboran esta hipótesis.

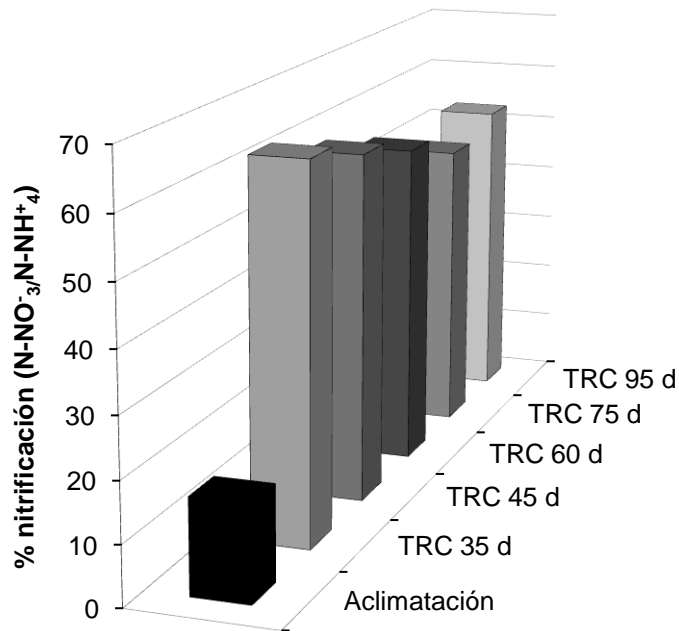


Figura 4.37. Porcentaje de nitrificación con diferentes TRC.

En la Figura 4.38, se muestra la relación entre las tasas de formación de nitratos y las tasas específicas de remoción de los estrógenos. Los resultados obtenidos mostraron una relación completamente lineal entre la nitrificación y la remoción de E1, E2 y EE2. Se observa que para bajas tasas de nitrificación aproximadamente de 2.1 mg N-NO₃.g SSV⁻¹.d⁻¹, se generaron tasas de remoción de los compuestos entre 24 y 32 ng.g SSV⁻¹.d⁻¹. Cuando las tasas de nitrificación aumentaron de 2.1 a 4.7 mg N-NO₃.g SSV⁻¹.d⁻¹, las tasas específicas de remoción incrementaron de 24 a 88 ng.g SSV⁻¹.d⁻¹ para el E1, de 26 a 72 ng.g SSV⁻¹.d⁻¹ para el E2 y para el EE2 de 32 a 73 ng.g SSV⁻¹.d⁻¹. De acuerdo a esto, el proceso de nitrificación esta directamente influenciado en la remoción de E1, E2 y EE2. Este mismo comportamiento fue observado por Ren *et al.* (2007), Yi y Harper (2007), Shi *et al.* (2004) y Vader *et al.* (2000).

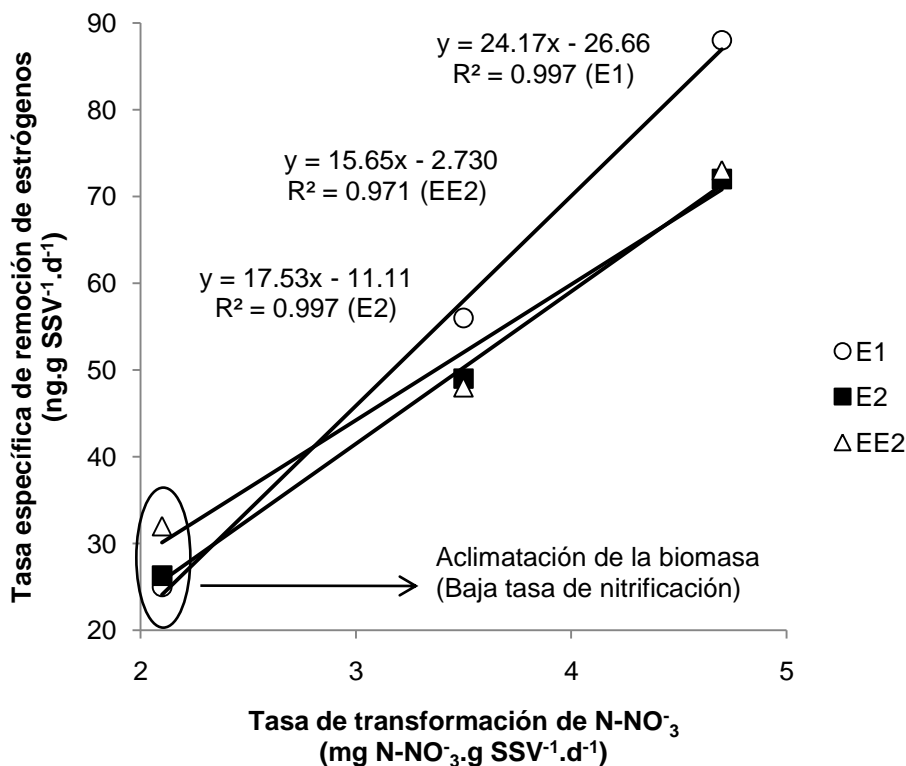


Figura 4.38. Relación entre la nitrificación y la remoción de E1, E2 y EE2

Además, el desarrollo de microorganismos autótrofos fue validado por el seguimiento de las tasas de nitrificación y las tasas de formación de nitratos para diferentes condiciones de operación (Tabla 4.16). Para una biomasa con baja actividad nitrificante (aclimatación de la biomasa), las tasas de nitrificación se encontraron entre 1.7 y 2.4 mg N-NO₃.g SSV⁻¹.d⁻¹ generándose bajas tasas específicas de remoción de los estrógenos

menores a $30 \text{ ng.g SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$. En las fases subsecuentes en todos los reactores, las tasas fueron mayores a $3.2 \text{ mg N-NO}_3^+.\text{g SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$ indicando un aumento en las actividades nitrificantes de las biomasas de los reactores operados con diferentes condiciones de operación. Se observa que las tasas para cada condición de operación se incrementaron entre un 30 hasta un 400% respecto a las tasas de remoción en la fase de aclimatación de la biomasa.

Tabla 4.16. Efecto de la nitrificación en la remoción del E1, E2 y EE2 con diferentes condiciones de operación en los BRM

BRM	Fase experimental	Tasa específica de remoción ($\text{ng.g SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$)			Remoción (%)			Tasa de formación de nitratos ($\text{mg N-NO}_3^+.\text{g SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$)
		E1	E2	EE2	E1	E2	EE2	
1	Aclimatación	30	32	25	88.3	95.3	92.8	2.4
	TRH 12 h TRC 75 d	52	46	45	98.6	100	98	3.5
	TRH 12 h TRC 35 d	127	101	102	98	98.5	97	5.4
	TRH 7 h TRC 35 d	58	41	54	95	97	94.7	7.5
2	Aclimatación	24	25	30	92	97.3	90.3	1.7
	TRH 12 h TRC 45 d	44	55	45	99.5	100	99	3.9
	TRH 12 h TRC 60 d	100	80	80	100	100	100	3.8
	TRH 7 h TRC 60 d	51	35	46	98	100	97	7.7
3	Aclimatación	21	22	27	89	97.5	92	2.2
	TRH 12 h TRC 95 d	54	45	44	97.5	99	96	3.2
	TRH 7h TRC 95 d	37	35	37	96.5	98.3	94	4.9

You *et al.* (2010) observaron la influencia del TRC en el proceso nitrificación y las características de los microorganismos nitrificantes en un BRM. Estos autores indicaron que con TRC de 30 d son obtenidas mejores tasas de oxidación del amonio ($0.22 \text{ kg N-NH}_4^+.\text{kg SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$) y tasas específicas de formación de nitratos ($0.13 \text{ kg N-NO}_3^+.\text{kg SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$) comparados con TRC de 90 y 230 d. Asimismo, con TRC de 30 d mostraron una mayor acumulación de microorganismos nitrificantes en el reactor. No obstante, se mostraron que con TRC de 90 y hasta 230 d existe una actividad relativamente alta de nitrificación. Un comportamiento muy similar fue obtenido en este trabajo. En la Figura 4.39, se muestran las tasas de formación de nitratos con

diferentes tiempos de retención celular. Con TRC de 35 d se obtuvieron las mejores tasas de formación de nitratos ($7 \text{ mg N-NO}_3\text{-g SSV}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), las cuales disminuyeron conforme se incrementaba el TRC. Sin embargo, las tasas bajas de nitrificación observadas con el aumento del TRC fueron altas en relación con las tasas obtenidas en la aclimatación de la biomasa por lo cual, las tasas de formación de nitratos se consideran altas para TRC de 45, 60, 75 y 95 d resultando una alta actividad nitrificante para las biombras para estas condiciones de operación.

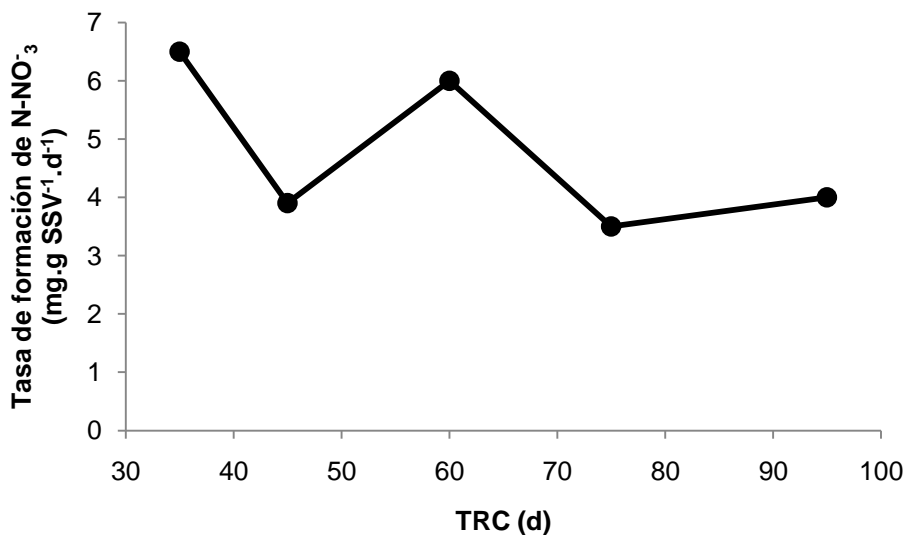


Figura 4.39. Relación del TRC en las tasas de formación de nitratos

El mecanismo de remoción de los estrógenos y la nitrificación mediante acción cometabólica se presenta en la Figura 4.40. Las enzimas monoaminooxigenasas convierten el N-NH_4^+ a hidroxilamina (NH_2OH) en presencia del oxígeno. Este paso requiere una baja energía que es regenerado como NH_2OH y es oxidada a N-NO_2^- por la enzima hidroxilamina oxidoreductasa. Entonces, los electrones entran a un ciclo catabólico involucrando un cobre binuclear ($\text{Cu}^{2+}\text{-Cu}^{2+}$) localizado en el sitio activo de la amino monooxigenasa. La reacción con el oxígeno oxida el Cu^{1+} a Cu^{2+} , sin embargo, los enlaces del oxígeno permanecen como un radical electrofílico. Esta forma oxigenada de la enzima reacciona con los compuestos orgánicos mediante reacciones de hidroxilación para generar un cobre oxidado (Cu^{2+}).

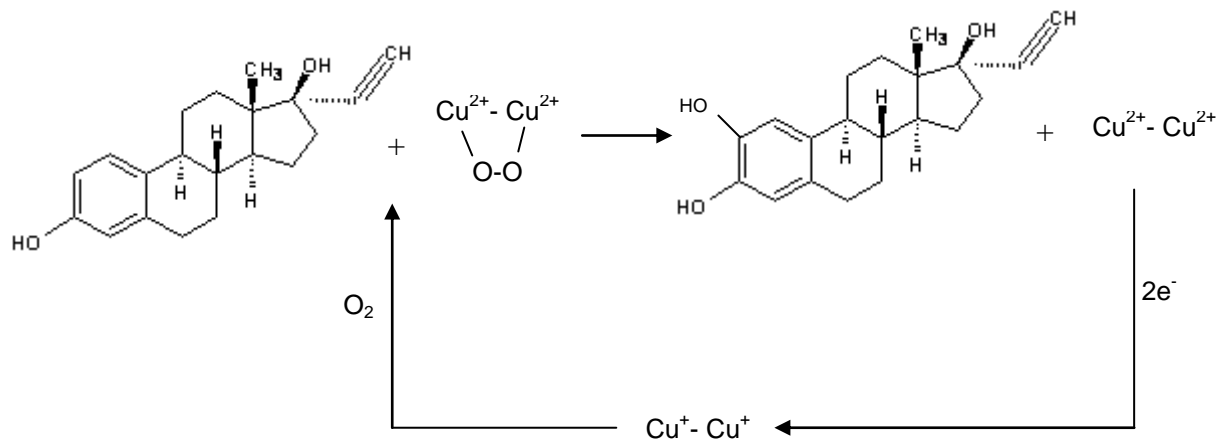


Figura 4.40. Transformación cometabólica de los estrógenos mediante microorganismos nitrificantes

4.2.2.2.1. Balance de nitrógenos

En la Tabla 4.17, se presenta el balance del nitrógeno para cada reactor en cada condición. Las remociones del N-NH_4^+ siempre fueron por arriba del 95% y con formación de nitratos en los efluentes de los reactores hasta 12 mg.L^{-1} . Se considera que el nitrógeno total en el influente es igual al N-NH_4^+ en el influente. La diferencia entre el nitrógeno total en el efluente e influente (ΔN) es atribuida al consumo de la biomasa aerobia principalmente para sus requerimientos de crecimiento. Sin embargo, esto no aplica para la primera fase experimental en todos los reactores ya que posiblemente cierta cantidad de N-NH_4^+ se pierde por las posibles formaciones de zonas anóxicas, producto de una mala transferencia de oxígeno en los sistemas o a un error en la técnica analítica en la determinación del N-NH_4^+ . La acumulación de N-NO_2^- en los sistemas no generó inhibición de los sistemas.

Tabla 4.17. Balance de nitrógeno durante la operación de los tres BRM con diferentes condiciones de operación

BRM	Fase experimental	Influyente N-NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	Efluente N-NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	Efluente N-NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)	Efluente N-NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)	N _T Efluente+N-NO ₂ ⁻ +N-NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)	ΔN (mg NT.L ⁻¹)
1	Aclimatación de la biomasa	21	2	4	3	9	-12
	TRH 12 h TRC 75 d	16	0.5	3	8	11.5	-4.5
	TRH 12 h TRC 35 d	17	0.2	3	10	13.2	-3.8
	TRH 7 h TRC 35 d	15	2	1	10	13	-2
2	Aclimatación de la biomasa	20	2	4	3	9	-12
	TRH 12 h TRC 45 d	17	0.1	2	10	12.1	-4.9
	TRH 12 h TRC 60 d	19	0.4	5	10	15.4	-3.6
	TRH 7 h TRC 60 d	22	0	7	12	19	-3
3	Aclimatación de la biomasa	20	2	3	4	9	-11
	TRH 12 h TRC 95 d	17	0.3	3	10	13.3	-3.7
	TRH 7h TRC 95 d	19	0	7	9	16	-3

4.2.2.2.3. Detección de estrógenos en la biomasa inactivada

4.2.2.2.3.1. Determinación del coeficiente de adsorción K_D

Un factor a considerarse en estudios sobre la remoción de compuestos disruptores endocrinos en las aguas residuales es el valor del coeficiente de partición o coeficiente de adsorción (K_D), el cual indica la hidrofobicidad de un compuesto. Compuestos con valores de K_D ≤ 0.1 L.g⁻¹ se consideran débilmente adsorbidos en un medio sólido (hidrofilico). Cuando K_D > 0.2 L.g⁻¹ la adsorción sobre sólidos es fuerte (hidrofóbico) (Joss *et al.*, 2006).

Para la obtención del coeficiente de adsorción se utilizó el modelo lineal de la ecuación 3.6 graficándose S_e vs x/m. Se Utilizó el modelo lineal debido a que recientemente se ha reportado que un ajuste lineal describe una mejor correlación en comparación con el modelo de Freundlich para microcontaminantes no polares (por ejemplo estrógenos y

nonilfenoles polietoxilatados (Barret *et al.*, 2010; Di Giogia *et al.*, 2009). Para realizar las isotermas de adsorción se tomó biomasa de uno de los BRM la cual fue desactivada con Azida de Sodio (NaN_3). Recientemente, la inactivación de microorganismos provenientes de procesos biológicos para el tratamiento de aguas residuales ha sido realizada mediante la adición de NaN_3 (Clouzot *et al.*, 2010) y, ha sido comprobada por los mismos autores mediante mediciones respirométricas. Una de las funciones de la Azida de Sodio, es la de inhibir al *citocromo c oxidasa*, el cual evita que las células consuman oxígeno y mueran.

En la Figura 4.41 se muestran las isotermas de adsorción obtenidas. La pendiente de las isotermas representa el coeficiente K_D en L.g^{-1} . De acuerdo al modelo lineal, los coeficientes de adsorción de E1, E2 y EE2 fueron de 0.323, 0.375 y 0.474 L.g^{-1} respectivamente. Las concentraciones en el equilibrio se alcanzaron a las 3, 1 y 5 h para el E2, E2 y EE2 respectivamente, indicando que la adsorción de los estrógenos en la biomasa desactivada fue rápida.

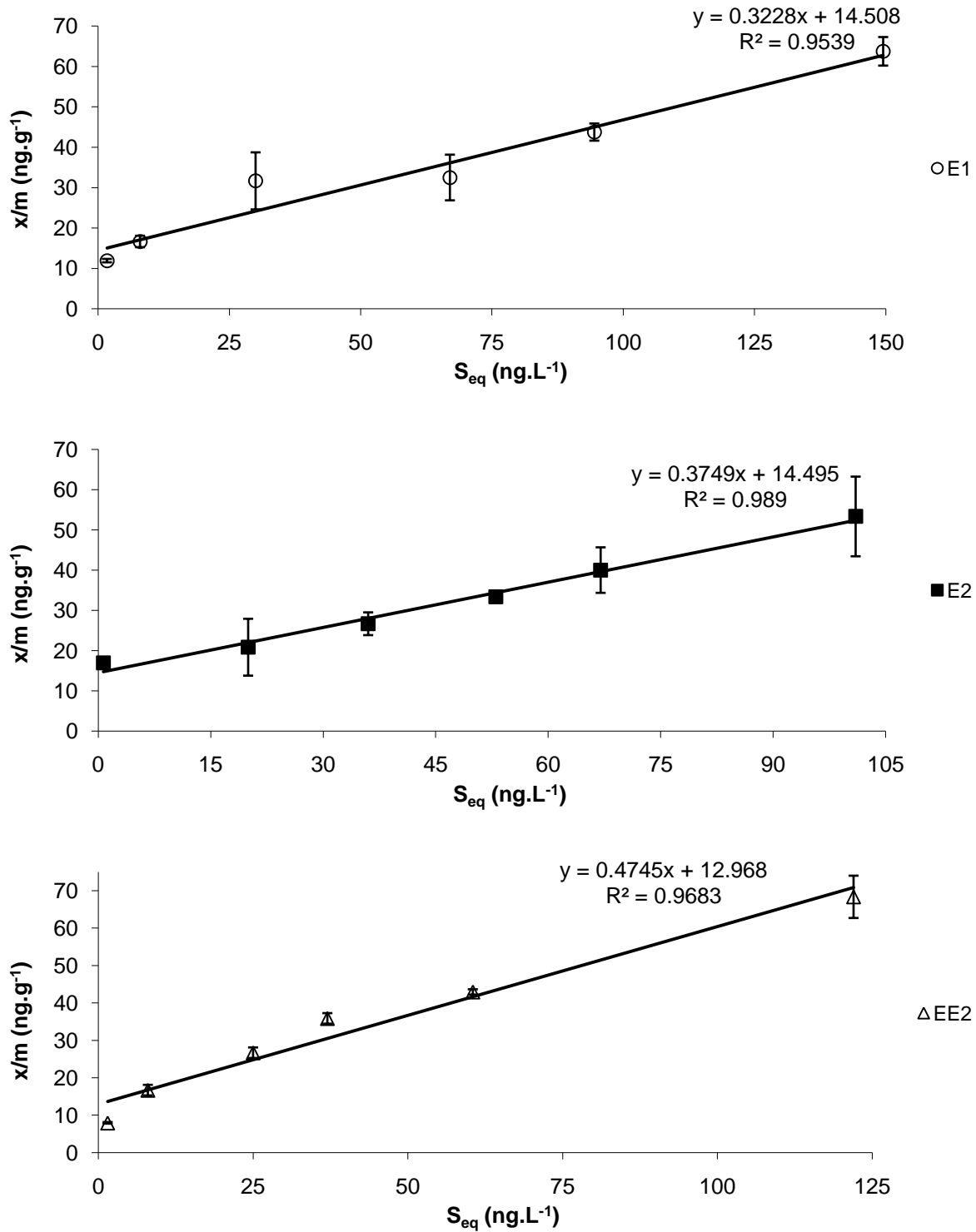


Figura 4.41. Isothermas de adsorción determinadas con biomasa desactivada del BRM

En la siguiente Tabla 4.18 se presentan valores determinados de K_D en diferentes tipos de biomasa. Como se puede observar, los valores del coeficiente de adsorción determinados en este estudio se encuentran dentro del rango reportado en algunas investigaciones.

Tabla 4.18. Coeficientes de adsorción K_D de los estrógenos con diferentes tipos de biomasa y con suelo

Compuesto	K_D (L.g ⁻¹)	Biomasa	Referencia
E1	0.338-0.442	Lodo digerido	Carballa <i>et al.</i> (2008)
	0.380-0.431	Lodos activados	Andersen <i>et al.</i> (2005)
	0.551	Suelo	Linda <i>et al.</i> (2003)
	0.323	BRM	Este estudio
E2	0.361-0.451	Lodo digerido	Carballa <i>et al.</i> (2008)
	0.397-0.447	Lodos activados	Andersen <i>et al.</i> (2005)
	0.414-0.477	Lodos activados	Clara <i>et al.</i> (2004)
	0.375	BRM	Este estudio
EE2	0.318-0.454	Lodo digerido	Carballa <i>et al.</i> (2008)
	0.397-0.477	BRM	Xu <i>et al.</i> (2008)
	0.301-0.380	SBR	Xu <i>et al.</i> (2008)
	0.431-0.462	Lodos activados	Andersen <i>et al.</i> (2005)
	0.431-0.477	Lodos activados	Clara <i>et al.</i> (2004)
	0.397	Lodos activado	Ternes <i>et al.</i> (2004)
	0.367	Suelo	Linda <i>et al.</i> (2003)
	0.474	BRM	Este estudio

4.2.2.2.3.2. Adsorción de los estrógenos en la biomasa desactivada

Se simularon las condiciones del BRM escala laboratorio con biomasa desactivada. La biomasa del BRM escala laboratorio fue inactivada con 500 mg.L⁻¹ de Ázida de Sodio. Una vez desactivada la biomasa, se determinaron las concentraciones iniciales de los estrógenos en la biomasa, las cuales fueron para el E1, E2 y EE2 de 3.1, 3 y 5.7 ng.g⁻¹

respectivamente. El reactor fue operado bajo un régimen continuo con una carga de estrógenos de $1.7 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ de E1, $0.95 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ y para el EE2 de $0.7 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$.

En la Figura 4.42 se observa que a pesar de no existir actividad microbiana, los estrógenos son removidos por adsorción de la fase líquida hacia la sólida, existiendo una acumulación e incremento en las concentraciones de los compuestos en la biomasa desactivada producto de la alimentación constante. Comparado con los flóculos de las biomasas del proceso de lodos activados, los flóculos en los bio-reactores con membranas son más pequeños, generando una mayor área superficial y favoreciéndose así, un aumento de los estrógenos en la superficie e interior de los flóculos. También, la adsorción puede realizarse en las estructuras lípidas de las bacterias, adsorción dentro de las cargas negativas de los polisacáridos que se encuentra afuera de las células bacterianas influenciada todas por fuerzas intermoleculares tales como las fuerza de Van der Waals. Sin embargo, otros factores tales como los enlaces por puentes de hidrógeno, intercambio iónico y por complejos químicos en la superficie de un sólido pueden intervenir en los procesos de adsorción (Tolls, 2001).

Durante las primeras 50 h de la corrida, el E1 fue adsorbido un 52%. Se observa que el E1 se desorbió a partir de la hora 50 lo cual estuvo relacionado con el aumento de la concentración del compuesto en la fase líquida y con una disminución de E1 en la biomasa de 75 a $47.5 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, sin embargo, como se desocupan los espacios saturados del sólido nuevamente se observa una adsorción del compuesto hacia la fase sólida de alrededor de un 30%. Este comportamiento indica un proceso cíclico de adsorción-desorción. El mismo comportamiento fue observado para el EE2. El EE2 presentó un máxima adsorción del 89% de la concentración inicial, con lo cual se redujo la concentración en la fase líquida de 55.2 hasta $7 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$. A partir de las 96 h, se mostró una desorción de EE2 hacia la fase líquida incrementándose la concentración de 7 hasta $27 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ con una reducción en la concentración de la biomasa de 49 a $29 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. En el E2 no se observó una desorción de la fase sólida a la fase líquida presentándose una máxima remoción por adsorción del 35.4%.

Los resultados obtenidos indicaron que los estrógenos se adsorben fácilmente en un sólido sin presencia de actividad microbiana. De acuerdo a esto, el EE2 fue el compuesto que se adsorbió más fácilmente sobre el sólido seguido del E1 y E2, indicando que el EE2 tiene una mayor fuerza de atracción en la fase sólida respecto a los dos estrógenos estudiados. Asimismo, este comportamiento indica que el E2 es el compuesto que puede estar más propenso a una remoción por biodegradación a través de las bacterias o enzimas que se encuentran suspendidas en la fase líquida seguida por el E1 y EE2.

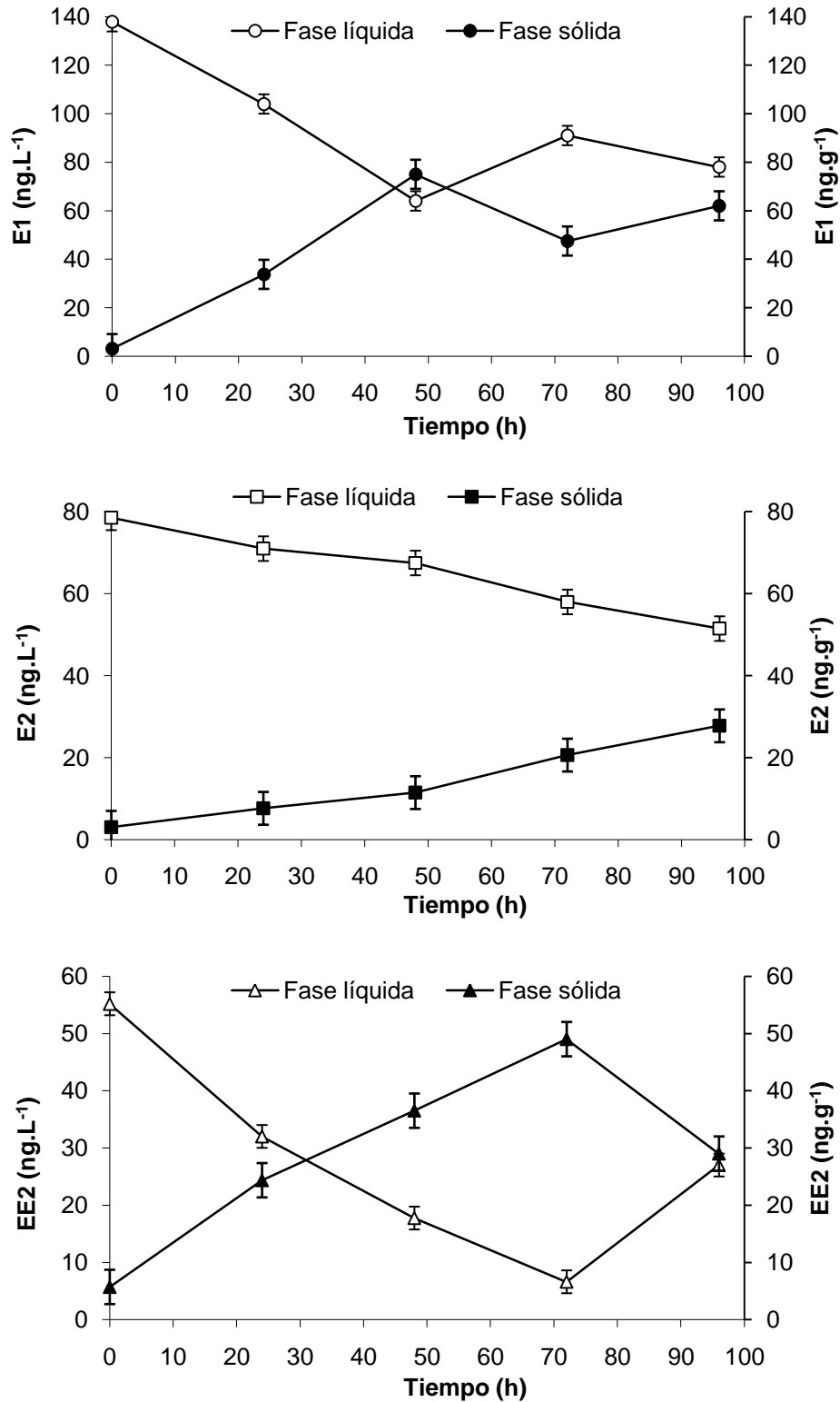


Figura 4.42. Adsorción de los estrógenos en la biomasa inactivada

Xu *et al.* (2008) han propuesto que la adsorción del EE2 en biomasa proveniente de un proceso SBR y un BRM puede ser espontánea y que la adsorción involucra una sorción física en combinación con niveles relativamente bajos de sorción química, indicando que los estrógenos tienden a desorberse de la fase sólida a la líquida. Igualmente, Ren *et al.* (2007), realizaron estudios sobre la adsorción del E1, E2, E3 y EE2 en un proceso de lodos activados desde el punto de vista termodinámico. Los resultados revelaron que los procesos de adsorción de los estrógenos fueron exotérmicos y las entalpías calculadas demostraron que los compuestos son adsorbidos físicamente en la biomasa y no químicamente. Este comportamiento fue debido a las bajas energías de enlace del E1, E2, E3 y EE2 determinadas, las cuales se encuentran en el rango de fuerzas de Van der Waals. Además, determinaron que los coeficientes de partición octanol-agua no influyen significativamente en la adsorción física. Por lo tanto, es de esperarse que los estrógenos adsorbidos en el lodo se desorban en el efluente de los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales. En este trabajo fueron comprobadas estas hipótesis pero en una biomasa sin actividad microbiana.

4.2.2.2.4. Destino de los estrógenos en los BRM

4.2.2.2.4.1. Contribución de los procesos de biodegradación y adsorción sobre la remoción de los estrógenos en los BRM

Como se muestran en las Figuras 4.43a, 4.44a y 4.45a todos los compuestos fueron detectados en las biomasa de los 3 reactores, lo que indica que estos compuestos se adsorben también en biomasa con actividad microbiana. Se observa que en los primeros 120 días de operación, concentraciones altas de estrógenos fueron encontradas en las biomasa debido a una alta acumulación de los compuestos en estas. Durante este periodo, el E1 fue el compuesto que presentó una mayor concentración en la biomasa de hasta 41 ng.g^{-1} seguido por el E2 y EE2 con 37 ng.g^{-1} cada uno. A partir del día 120, se observó una disminución en la concentración de los estrógenos en las biomasa de los reactores hasta el final de la experimentación. Concentraciones menores de 20 ng.g^{-1} y hasta por debajo del límite de detección fueron determinadas. Este hecho estuvo asociado posiblemente a la desorción de los compuestos de la fase sólida a la líquida y/o a la biodegradación dentro de los flóculos de la biomasa. Sin embargo, la disminución de las concentraciones de los compuestos en el lodo a través del tiempo está relacionado con el incremento en las tasas de biodegradación como se ilustran en las mismas Figuras 4.43b, 4.44b y 4.45b, por lo tanto, la desorción de los compuestos no puede estar relacionada con la disminución de las concentraciones en la biomasa. Las tasas de biodegradación se calcularon de acuerdo a la carga de estrógenos aplicadas a los BRM multiplicado por el porcentaje de remoción debida solo a la biodegradación y dividida entre la cantidad de SSV dentro de los reactores. El porcentaje de biodegradación se obtuvieron de acuerdo a las ecuaciones 3.15, 3.16, 3.17 y 3.21, las cuales corresponden al balance de masas con las mediciones de las concentraciones de los compuestos en la fase líquida y en la fase sólida.

Se observa que las tasas de biodegradación de los compuestos durante los primeros 120 días de operación de los BRM se encontraron entre 7 y 50 $\text{ng.g SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$ y las tasas de adsorción entre 0.2 y 4 $\text{ng.g}^{-1}.\text{d}^{-1}$, indicando que los procesos de biodegradación fueron más altos que los procesos de adsorción. A partir del día 120 y hasta el final de la experimentación, las tasas de biodegradación se incrementaron hasta valores máximos para el E1 de 192 $\text{ng.g SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$, de 174 $\text{ng.g SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$ para el E2 y para el EE2 de 176 $\text{ng.g SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$ y las tasas de adsorción para todos los compuestos se redujeron hasta valores por debajo de 0.2 $\text{ng.g}^{-1}.\text{d}^{-1}$. El aumento de las tasas de biodegradación estuvieron también asociadas con el aumento en las concentraciones de los estrógenos en los influentes de los reactores las cuales se presentaron entre los días 150 y 210. Se observa que para todos los compuestos en los tres reactores, las tasas de biodegradación se incrementaban o disminuían cuando las tasas de adsorción se reducían y se aumentaban. Esto demuestra que la remoción de los estrógenos en los reactores se llevan a cabo por una combinación de procesos de biodegradación-adsorción simultánea, siendo el proceso de biodegradación la principal vía de remoción del E1, E2 y EE2. Este mismo comportamiento fue observado por Johnson y Sumpter (2001), indicando que el principal mecanismo de remoción de los estrógenos en el proceso biológico de lodos activados, es la adsorción y la biodegradación conjuntamente. De acuerdo con las tasas de biodegradación y adsorción de E1, E2 y EE2 obtenidas indicaron que los compuestos fueron removidos principalmente por biodegradación desde el arranque de los sistemas y por una remoción menor por adsorción (a pesar de que se detectaron concentraciones altas de los estrógenos en las biomazas), debido a que siempre fueron más altas las tasas de biodegradación respecto a las tasas de adsorción. Esto indica que los procesos de biodegradación fueron más rápidos a los procesos de adsorción. El flujo másico obtenidos por un balance de masas en todos los sistemas bajo las diferentes fases experimentales también pueden verificar este hecho. Así, un alto potencial de biodegradación de los estrógenos por las biomazas de los BRM fueron observadas permitieron que una menor cantidad de compuestos solubles en la fase líquida estuvieran disponibles para la adsorción de los compuestos sobre el lodo.

Los TRC que se probaron en este trabajo también fueron un factor muy importante en la remoción de los estrógenos, ya que estos fueron relativamente altos pero en condiciones operables. Este hecho implica que los microorganismos permanezcan más tiempo en el reactor y por lo tanto los procesos de biodegradación sean más importantes que los procesos de adsorción.

Las membranas tienen una función muy significativa en la remoción de E1, E2 y EE2 para la biodegradación, ya que estas funcionan como una barrera física para los sólidos impidiendo que estos se escapen en los efluentes del proceso y queden completamente retenidos dentro del reactor. De la misma forma, cuando los reactores están en operación se forma una biopelícula y se depositan sólidos sobre la superficie de las membranas fomentando una reducción del tamaño del poro de las membranas. En muchos de estos casos, el tamaño del poro se puede reducirse en la proporción 1:10 del tamaño del poro original. Por lo tanto, después de 4 meses de operación se puede esperar una disminución del tamaño del poro por lo que las membranas pudieron estar

actuando como una barrera física para los compuestos adsorbidos dentro de los floculos biológicos permitiendo una completa retención de estos compuestos en los reactores y experimentándose más los procesos de biodegradación. A pesar de que existe un incremento de los estrógenos en la biomasa desactivada, cuando se presenta una actividad de los microorganismos, la concentración de los compuestos en la biomasa tiende a aumentar y disminuir debido a que se presenta un fenómeno de adsorción y biodegradación simultánea. Se concluye que en un lapso de 2 y 4 meses de operación se alcanzaron condiciones estacionarias y de aclimatación de la biomasa para obtener remociones altas de estos estrógenos tanto en la fase líquida con el la fase sólida.

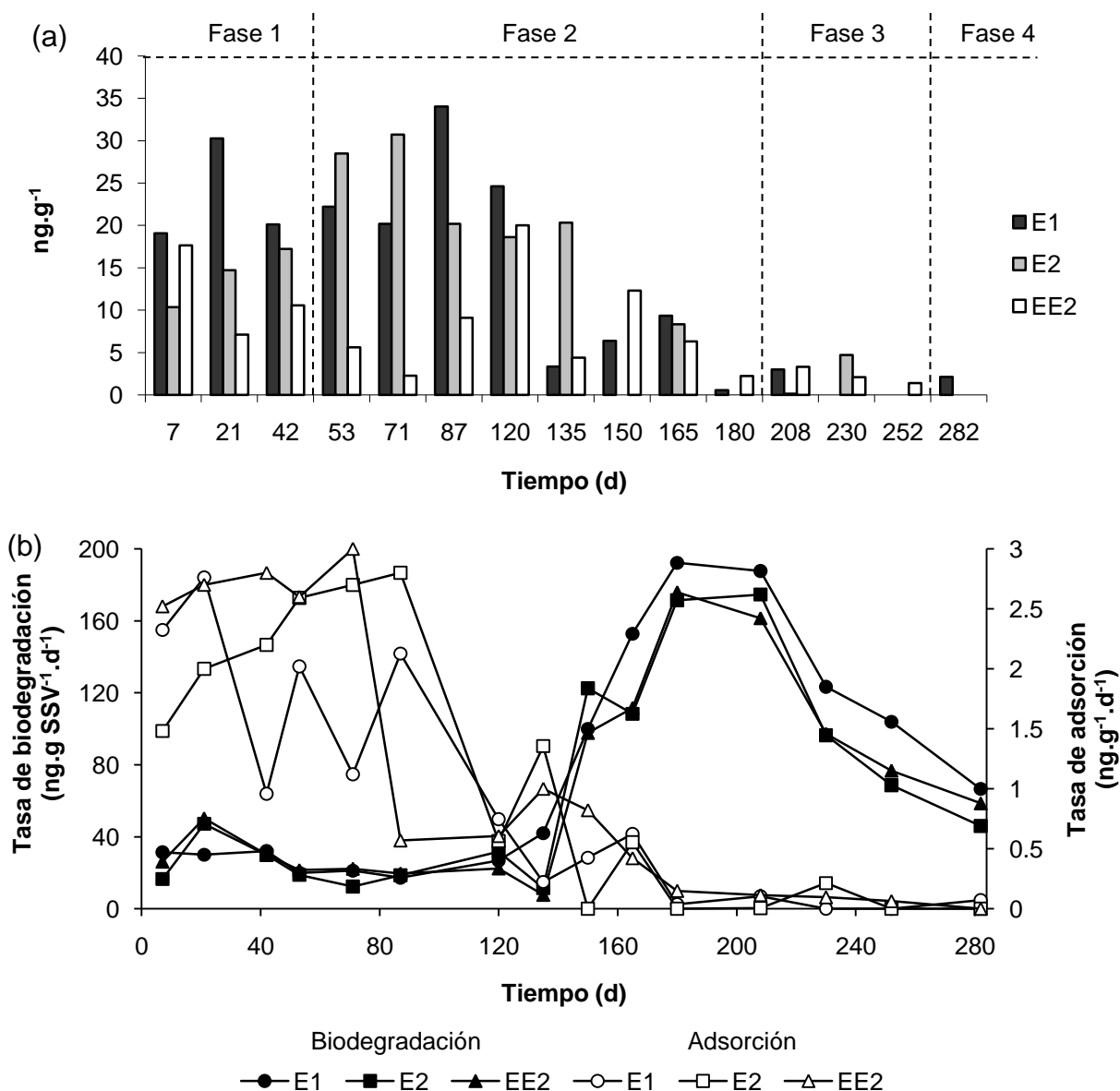


Figura 4.43. a) Detección de E1, E2 y EE2 en la biomasa del BRM 1, b) Tasas de biodegradación y adsorción

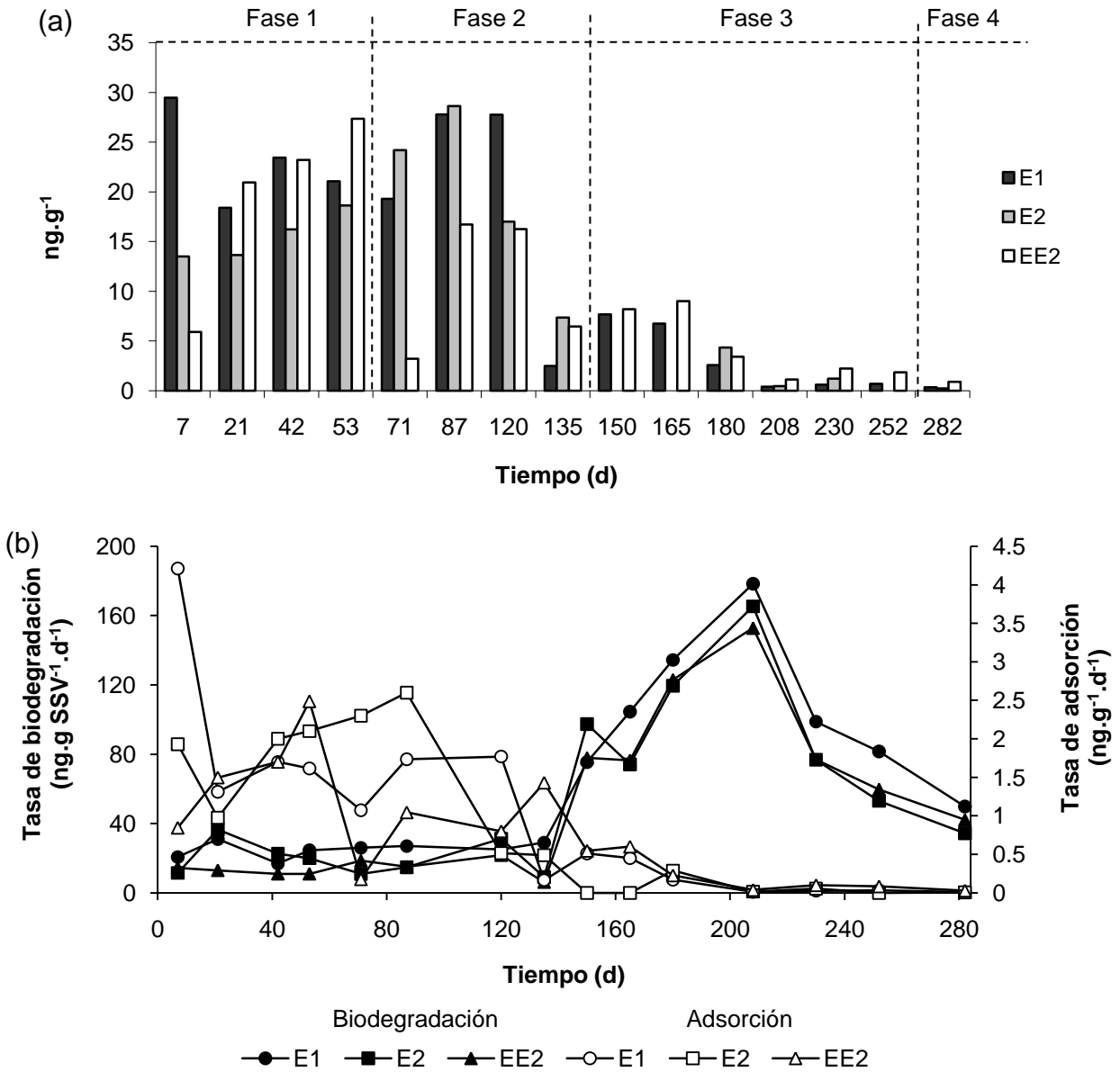


Figura 4.44. a) Detección de E1, E2 y EE2 en la biomasa del BRM 2, b) Tasas de biodegradación y adsorción

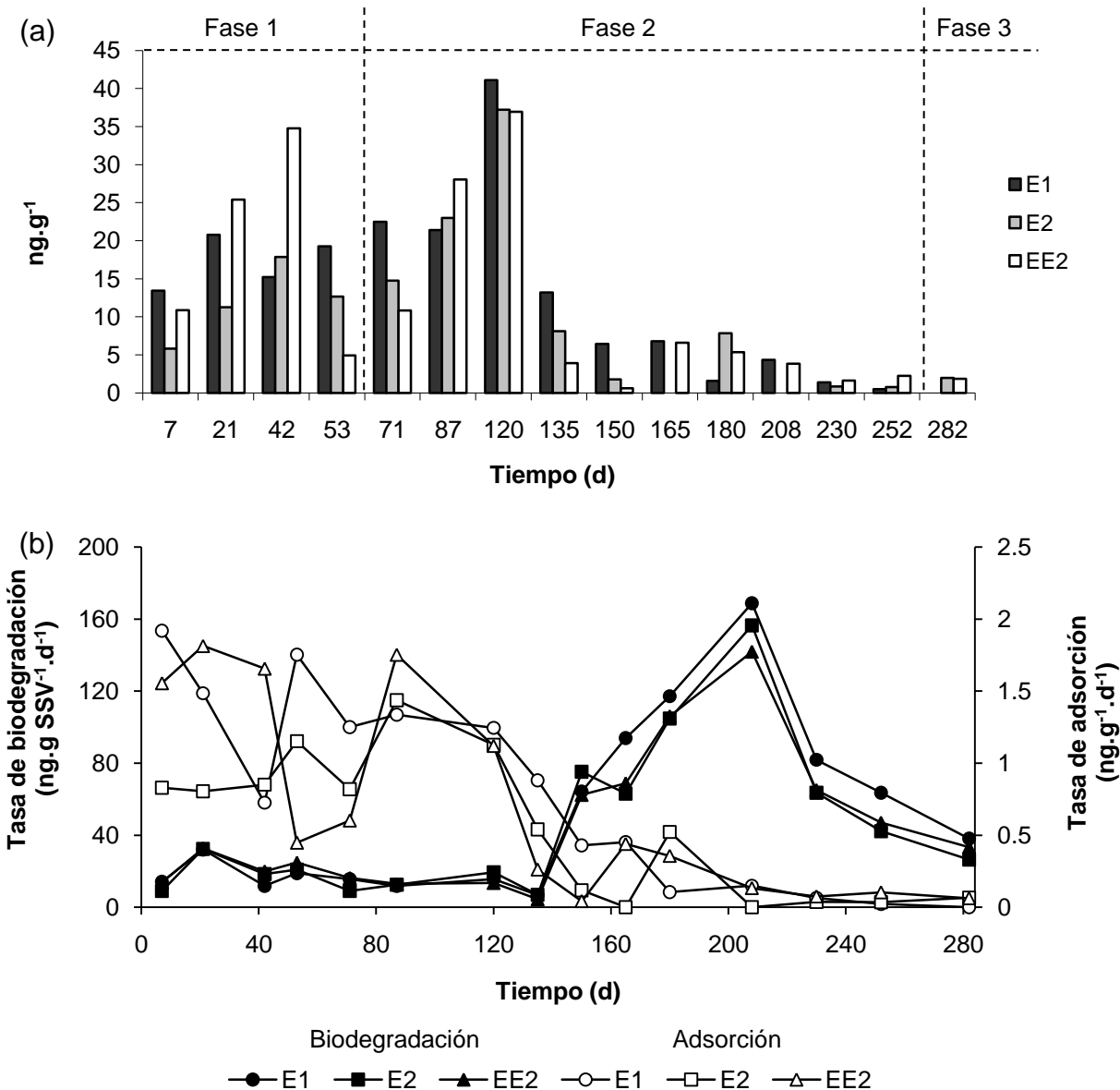


Figura 4.45. a) Detección de E1, E2 y EE2 en la biomasa del BRM 3, b) Tasas de biodegradación y adsorción

La adsorción de los estrógenos y otros CDE en biomazas provenientes de procesos biológicos de lodos activados convencionales y en BRM ha sido estudiada por varios investigadores (Barret *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2008; Ren *et al.*, 2007; Clara *et al.*, 2005; Johnson *et al.*, 2005; Joss *et al.*, 2004; Liss *et al.*, 2002). Estos autores indicaron que los compuestos son removidos principalmente por adsorción seguida por un proceso lento de degradación por los microorganismos. Consecuentemente, existe una discrepancia en los datos de la literatura sobre los datos obtenidos en el presente

trabajo, ya que este estudio, de acuerdo a las tasas de biodegradación y al balance de masas, el principal mecanismo de remoción de los estrógenos fue la biodegradación seguida de un proceso lento de adsorción. Esta discrepancia puede estar asociada a varios factores tales como las condiciones de operación de los procesos (TRC, TRH, procesos de nitrificación), pH, concentraciones de biomasa y carga de estrógenos principalmente, por que lo se hace difícil comparar los trabajos realizados por otros estudios. Sin embargo, de acuerdo a estudios realizados en reactores batch por Joss *et al.* (2006) sugieren que los estrógenos pueden ser removidos en procesos biológicos de tratamiento de aguas principalmente por biodegradación. En este trabajo, se corroboró esta sugerencia pero en reactores en continuo.

4.2.2.4.2. Balance de masas

Hasta la fecha se conoce que algunos sistemas de tratamiento de aguas residuales son capaces de remover parcialmente algunos microcontaminantes incluyendo CDE y farmacéuticos. Los procesos de oxidación avanzada, la nanofiltración y osmosis inversa son tratamiento potencialmente aptos para mejorar la eficiencias de remoción de estos compuestos (Huber *et al.*, 2003; Ternes *et al.*, 2002). Sin embargo, la implementación de estos procesos pueden incrementar los costos del tratamiento del agua. Alternativamente, conocer el transporte y distribución de estos compuestos dentro de nuevos sistemas de tratamiento (por ejemplo, la tecnología de bio-reactores con membranas) pueden incrementarse las remociones de los microcontaminantes en los procesos biológicos.

Para evaluar las eficiencias de los sistemas de tratamiento, varios estudios se han basado en la diferencia entre las concentraciones medidas en la fase líquida (influyente y efluente) y no consideran el flujo másico de estos compuestos en la purga lodos generando resultados robustos, los cuales no indican la distribución de estos compuestos en los sistemas de tratamiento. Para entender el transporte y distribución de los compuestos es muy importante obtener los datos en la fase líquida y sólida y de esta manera generar información necesaria sobre la contribución de los procesos de adsorción y biodegradación dentro de un proceso biológico en la remoción total del compuesto.

Pocos estudios estiman separadamente las contribuciones por adsorción y por biodegradación de los microcontaminantes mediante un balance de masas incluyendo mediciones en la fase líquida y sólida, mientras que otros investigadores, solo miden las concentraciones de los compuestos en la fase líquida y calculan teóricamente la cantidad adsorbida en el lodo mediante la incorporación del coeficiente K_D (Carballa *et al.*, 2008; Kimura *et al.*, 2007; Joss *et al.*, 2006; Clara *et al.*, 2005; Kreuzinger *et al.*, 2004). Este último hecho puede ser explicado por la complejidad en el análisis de la muestra sólida y por los altos costos que implica la detección de los microcontaminantes en esta fase. La aplicación de este método y su comparación con los resultados de las concentraciones tanto en la fase líquida y sólida mediante un

balance de masas, puede ser una herramienta muy útil para entender rápidamente la contribución de los diferentes procesos de remoción de los microcontaminantes en sistemas biológicos sin la necesidad de realizar mediciones complejas en la fase sólida.

En la Tabla 4.19 se muestran los resultados del cálculo del balance de masas (método 1) utilizando las mediciones de las concentraciones de los compuestos adsorbidos en las biomazas (fase sólida) y en las fases disueltas (fase líquida) de los reactores en todas sus fases experimentales. Con este balance de masas, se obtuvieron los flujos máxicos de los influentes, efluentes y purga de lodos de los sistemas. El flujo máxico de estrógenos aplicada a los reactores varió entre 576 y 5,142 $\text{ng}\cdot\text{d}^{-1}$. Esta variación fue asociada a los caudales operados en los sistemas para obtener TRH de 7 y 12 h y a las variaciones de las concentraciones de los estrógenos en los influentes de los reactores. Se observa que el flujo máxico de estrógenos en los efluentes de los BRM en todas las fases experimentales fueron menores a 140 $\text{ng}\cdot\text{d}^{-1}$, indicando que las remociones de E1, E2 y EE2 fueron mayores al 88%. En la fase de aclimatación de la biomasa fue donde se obtuvieron menores remociones de los estrógenos. Asimismo, durante esta fase, los flujos máxicos de estrógenos en la purga de lodos fueron más altos respecto a las diferentes condiciones de operación de los reactores, los cuales se encontraron en el rango de 2 y 10.5 $\text{ng}\cdot\text{d}^{-1}$. En las siguientes fases experimentales, los flujos en la purga fueron menores a 2 $\text{ng}\cdot\text{d}^{-1}$. Esta diferencia en el flujo máxico de la purga de lodos se relacionó con las altas concentraciones de los compuestos encontradas en las biomazas, en los efluentes y al caudal de purga de lodos, las cuales fueron mayores en la fase de aclimatación respecto a las otras fases de operación de los BRM. Los TRC que se manejaron en los reactores implicaron una menor purga de lodos en los sistemas, disminuyéndose de esta manera, los flujos máxicos de los estrógenos en el lodo y la cual estuvo relacionada también a las altas remociones de los compuestos determinadas bajo diferentes condiciones de operación.

Para determinar la remoción de E1, E2 y EE2 por biodegradación, se realizó una diferencia entre el flujo máxico del influente, efluente y purga de lodos. Mientras que la remoción por adsorción fue determinada de acuerdo al flujo máxico en la purga de lodos respecto al flujo máxico del influente. De acuerdo a los resultados de ambas remociones, la remoción de los compuestos por biodegradación fue el proceso que predominó en todas las fases experimentales las cuales fueron mayores al 98%, incluyendo la fase de aclimatación de la biomasa. Estos resultados coincidieron con los datos obtenidos en las tasas de biodegradación y adsorción, las cuales fueron más altas para la biodegradación que para la adsorción. Se observa que en las fases de aclimatación de los BRM, las remociones de los estrógenos vía adsorción fueron entre 0.3 y 1.3%. Mientras que con diferentes TRC y TRH, la remoción de E1, E2 y EE2 por el proceso de adsorción se encontraron hasta un 0%.

Tabla 4.19. Flujos másicos de estrógenos a través de los BRM y remociones mediante procesos de biodegradación y adsorción en diferentes fases experimentales utilizando las concentraciones de E1, E2 y EE2 en la fase líquida y sólida

Fase experimental	Flujo másico (ng.d ⁻¹)									Remoción total (%)			Remoción por biodegradación (%)			Remoción por adsorción (%)		
	Influyente			Efluente			Purga de lodos											
	E1	E2	EE2	E1	E2	EE2	E1	E2	EE2	E1	E2	EE2	E1	E2	EE2	E1	E2	EE2
<i>BRM 1</i>																		
Aclimatación de la biomasa	864	820	928	101	38	67	7.5	9.4	2.0	88.3	95.3	92.8	87.4	94.3	92.5	0.9	1.0	0.3
TRH 12 h TRC 75 d	5,142	4,786	4,404	50	0	26	0.3	0	0.7	98.6	100	98	99	100	97.8	0.4	0.0	0.2
TRH 12 h TRC 35 d	590	632	1007	12	9	27	0.008	0.007	0.08	98	98.5	97	97.9	98.5	96.8	0.1	0.0	0.2
TRH 7 h TRC 35 d	1,756	1,196	1,626	86	35	86	1.7	0.2	0.4	95	97	94.7	94.9	97	94.6	0.1	0.0	0.1
<i>BRM 2</i>																		
Aclimatación de la biomasa	768	975	995	60	26	96	8.1	7.1	10.5	92	97.3	90.3	90.9	96.6	89.1	1.1	0.7	1.2
TRH 12 h TRC 45 d	4,060	4,974	4,000	30	0	41	1.3	0	2.0	99.5	100	99	99	100	98.8	0.5	0.0	0.2
TRH 12 h TRC 60 d	576	617	983	0	0	0	0.2	0	0.5	100	100	100	99.9	100	99.9	0.1	0.0	0.1
TRH 7 h TRC 60 d	936	638	867	18	0	24	0.3	0.1	0.7	98	100	97	97.9	99.9	97	0.1	0.1	0.0
<i>BRM 3</i>																		
Aclimatación de la biomasa	794	1,008	1,028	90	25	80	7.8	5.0	6.2	89	97.5	92	87.7	96.5	91	1.3	1.0	1.0
TRH 12 h TRC 95 d	4,834	3,146	3,539	120	30	140	0.4	0.06	0.3	97.5	99	96	97.4	99	96	0.1	0.0	0.0
TRH 7h TRC 95 d	959	654	889	33	11	54	0.1	0.04	0.2	96.5	98.3	94	96.4	98.3	93.8	0.1	0.0	0.2

4.2.2.4.2.1. Comparación de los balances de masas obtenidos mediante el Método 1 y Método 2

El balance de masas mediante el método 1 se basa en las mediciones de las concentraciones en la fase líquida y sólida a través de los BRM. El método 2 relaciona solo la concentración de los compuestos en la fase disuelta y el coeficiente de adsorción K_D . En la Figura 4.46 se muestra los resultados del balance de masas obtenidos mediante el método 1 y 2 con diferentes condiciones de operación para la obtención del flujo másico de estrógenos en la purga de lodos. Se observa que aplicando ambos métodos para la determinación del flujo másico de estrógenos en la purga de los reactores, no existen diferencias significativas entre los resultados del balance de masas obtenidos con ambos métodos. El flujo másico calculado con el método 1 (sin la introducción de K_D) para el E1, E2 y EE2 fueron de 8, 7 y 10.5 ng.d⁻¹ respectivamente en la fase de aclimatación de la biomasa, mientras que con el método 2 (con la introducción de K_D) los flujos fueron de 7.3, 6.8 y 9.4 ng.d⁻¹ para el E1, E2 y EE2 respectivamente, obteniéndose una desviación estándar entre los dos métodos menor al 3%. Este mismo comportamiento fue observado para las diferentes condiciones de operación de los reactores, por ejemplo, para un TRC y TRH de 60 d y

12 h respectivamente, los flujos máxicos fueron de 0.2 ng.d^{-1} para el E1, de 0 ng.d^{-1} para el E2 y de 0.5 ng.d^{-1} para el EE2 utilizando el método 1. Empleando el método 2, los flujos máxicos de los estrógenos en la purga de lodos fueron de 0 ng.d^{-1} presentándose una desviación estándar de 0.2% entre los dos métodos. Asimismo, el gráfico de superficies (Figura 4.46b) muestra que no existen diferencias entre el método 1 y 2. El gráfico de los flujos máxicos de los estrógenos en los influentes no se muestra, ya que, al no existir la presencia de SST en el influente ($SST_i = 0 \text{ mg.L}^{-1}$) debido a que es un agua residual sintética, el cálculo del flujo máxico en el influente con ambos métodos es el resultado de la multiplicación del caudal y la concentración de los estrógenos en la entrada de los reactores, dando como resultado, flujos iguales entre un método y otro. Para el método 1, $F_i = Q_i (S_i + X_i * SST_i)$ y para el método 2 $F_i = Q_i S_i (1 + K_D * SST_i)$, donde X es la concentración de estrógenos adsorbidos en los sólidos en ng.mg^{-1} .

Asimismo, los flujos máxicos en los efluentes son iguales con el método 1 y 2, ya que, estos son el resultado de la multiplicación del caudal de efluente y la concentración de estrógenos en el efluente. Para el método 1, $F_e = Q_e (S_e + X_e * SST_e)$, para el método 2, $F_e = Q_e S_e (1 + K_D * SST_e)$. Este hecho está relacionado debido a que la concentración de SST en los efluentes de los bio-reactores se considera como cero ($SST_e = 0 \text{ mg.L}^{-1}$). Por lo tanto, la única diferencia que se pudiera encontrar en la comparación de ambos métodos trabajando con agua residual sintética, es en el flujo de estrógenos en la purga de lodos de los reactores. De acuerdo a los resultados del balance de masas en la cantidad máxica de estrógenos en la purga de lodos aplicando los dos métodos, se concluye que no existen diferencias significativas entre el método 1 y 2.

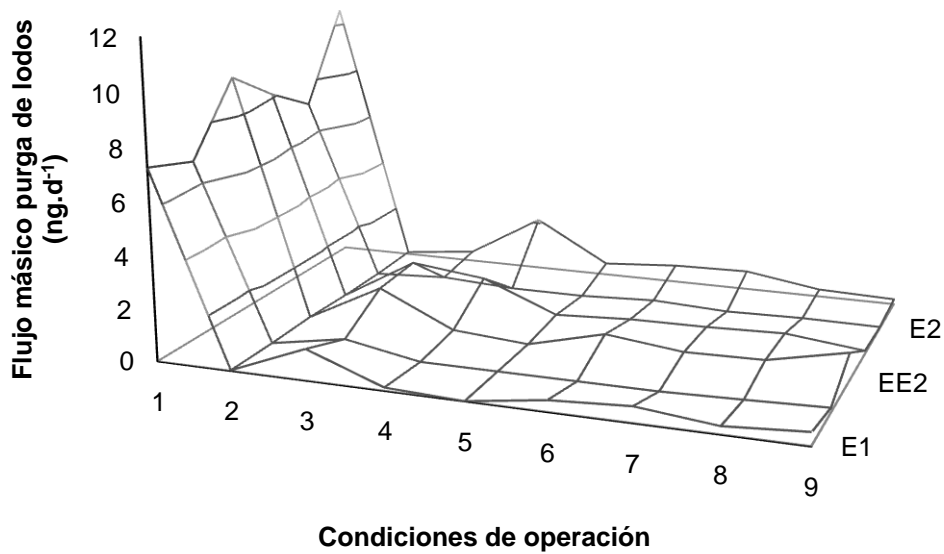
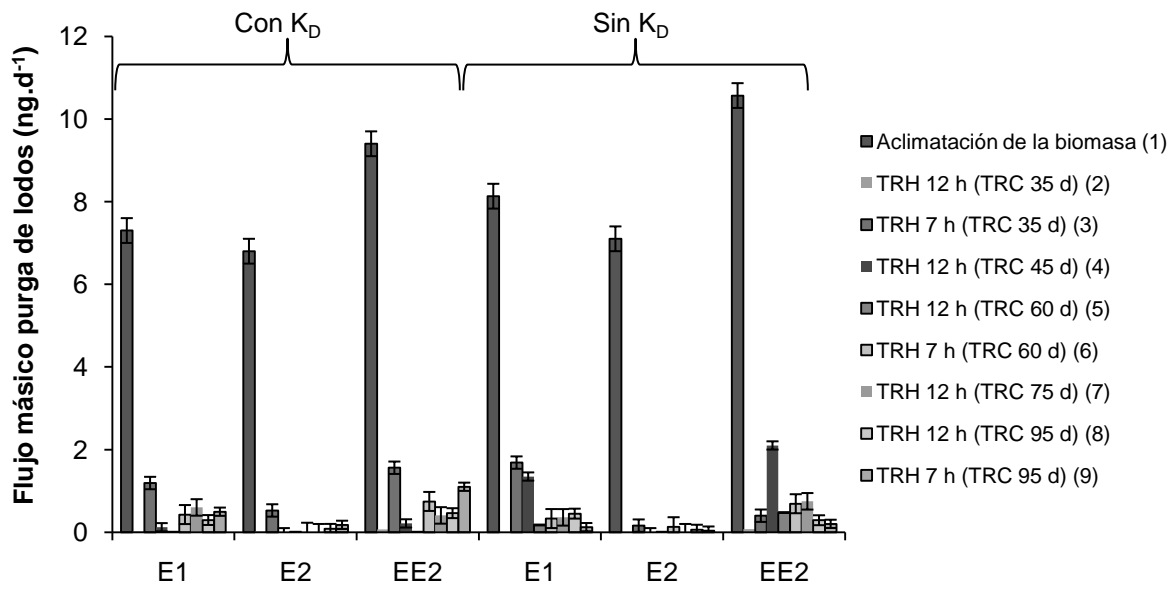


Figura 4.46. Flujo de estrógenos en la purga de lodos obtenidos mediante el método 1 y 2

De esta misma manera, se calcularon las remociones de los estrógenos por biodegradación y adsorción con la utilización de ambos métodos (Figura 4.47 y 4.48). De acuerdo con los resultados obtenidos, la remoción por biodegradación de los estrógenos utilizando el método 1 fueron mayores al 98%, es decir, mayores al 87%

respecto a la remoción global de los estrógenos. Aplicando el método 2, se presentaron resultados similares comparados con el método 1 para todas las fases de experimentación en los BRM y para cada compuesto, obteniendo desviaciones estándares menores a 2%. Igualmente con la utilización de método 2, la remoción de estrógenos por adsorción fue semejante respecto al método 1. Estas similitudes presentadas con el método 1 y 2 fue debido a que, al ser iguales los flujos de entrada y salida y al no existir diferencias significativas entre los flujos de los compuestos en la purga de lodos con los dos métodos aplicados, es de esperarse de que no existan diferencias en las remociones de los estrógenos debidas a la biodegradación y adsorción. El cálculo de la remoción por biodegradación de estrógenos, se obtiene a partir de la diferencia entre el flujo de entrada, salida y purga de lodos de los BRM ($Biodegradación = F_i - F_e - F_p$), por lo tanto, la remoción por adsorción es el resultado de dividir el flujo de estrógenos en la purga de lodos y el flujo másico de estrógenos en el influente. Los porcentajes de biodegradación y adsorción corresponden a las diferencias entre las remociones totales de estrógenos obtenidas en los reactores. Para calcular el porcentaje neto correspondiente a la remoción por biodegradación y/o por adsorción, hay que considerar como un 100% la remoción total del compuesto. De esta manera se obtiene el porcentaje neto debido ya sea, por biodegradación y/o por adsorción.

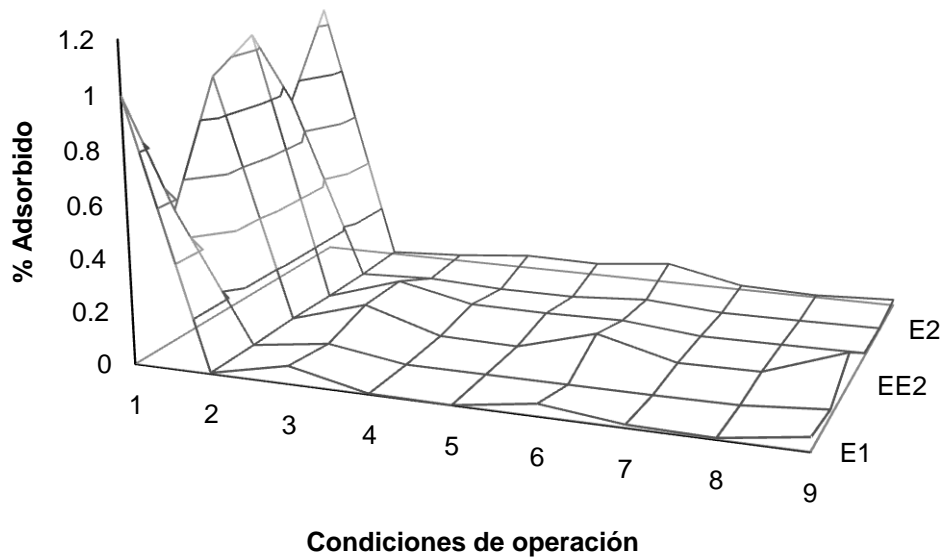
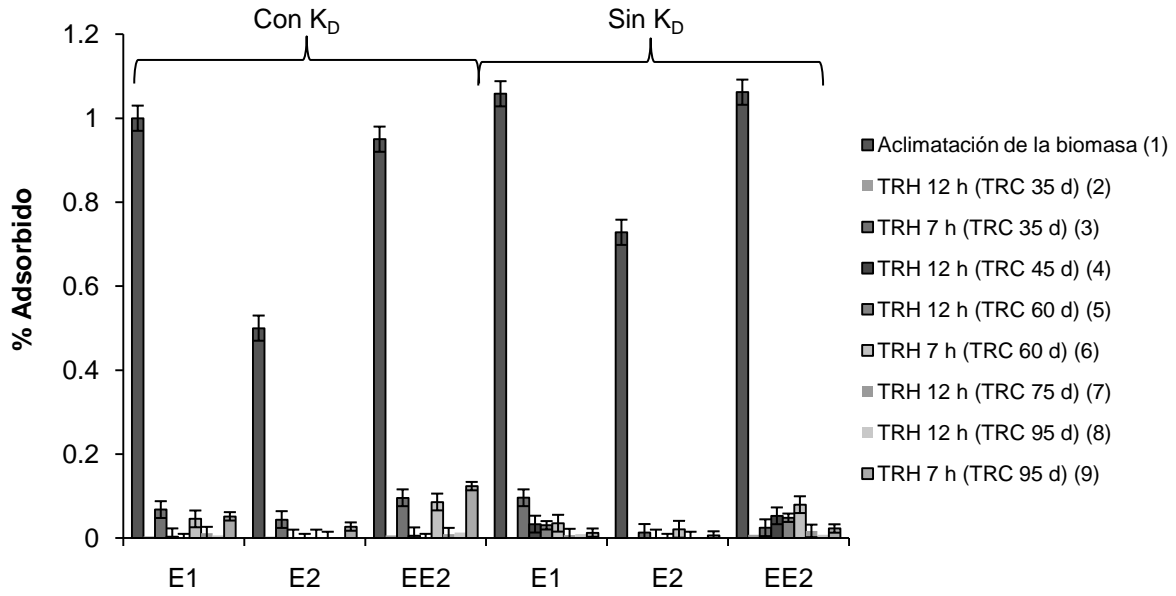


Figura 4.47. Remociones de E1, E2 y EE2 por adsorción obtenidos mediante el método 1 y 2

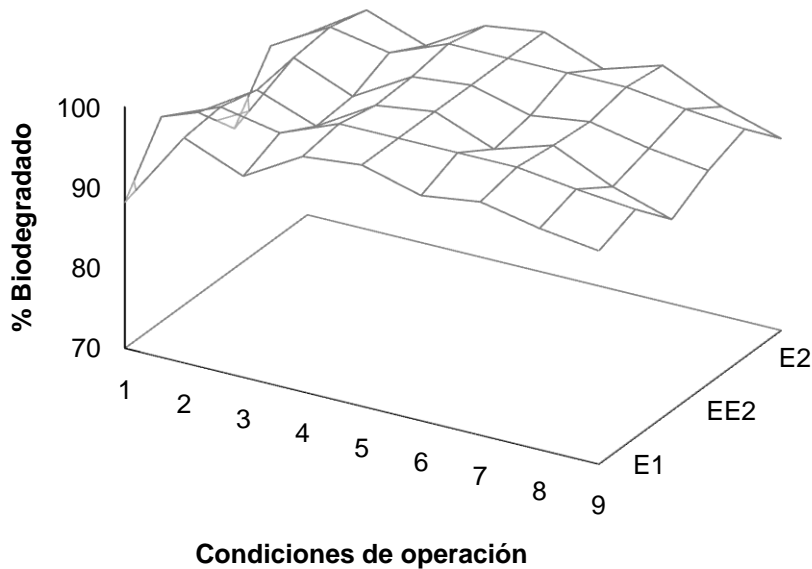
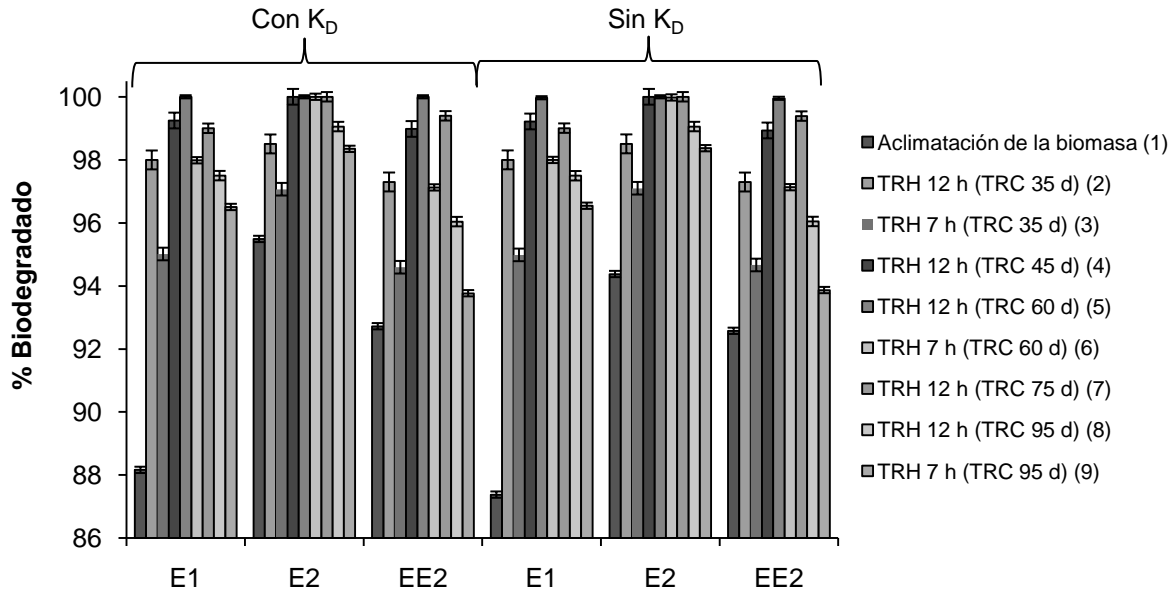


Figura 4.48. Remociones de E1, E2 y EE2 por biodegradación obtenidos mediante el método 1 y 2

Por lo tanto, la aplicación de un balance de masas introduciendo el coeficiente de adsorción K_D puede ser una herramienta muy útil para una determinación rápida de los mecanismos de remoción de los compuestos, generando información sobre el transporte y la distribución de los estrógenos en un BRM, evitando de esta manera los

análisis laboriosos en la fase sólida, el cual implica costos elevados en la determinación analítica de estos compuestos.

Los resultados de los balances de masas mostraron que los estrógenos fueron removidos por biodegradación y no por adsorción, quedando demostrado de esta manera que el principal mecanismo de remoción de los estrógenos naturales y el sintético es la biodegradación. De acuerdo con esto, el transporte y distribución de los estrógenos en un bio-reactor con membranas es el siguiente:

1. Biodegradación dentro de los flóculos biológicos y en la fase líquida.
2. Transporte y difusión de los estrógenos a través de flóculos
3. Retención de los compuestos en las membranas

4.2.2.2.5. Cinéticas de remoción

4.2.2.2.5.1. Contribución de los procesos de biodegradación, adsorción y volatilización sobre la remoción de los estrógenos en experimentos en batch

En la Figura 4.49 se muestran las cinéticas de remoción de los estrógenos. La concentración inicial de E1, E2 y EE2 en la fase acuosa fue de 170, 126 y 129 ng.L⁻¹ respectivamente. Mientras que las concentraciones iniciales de los estrógenos en la biomasa fueron de 4.3 ng.g⁻¹ para el E1, de 2.3 ng.g⁻¹ para el E2 y para el EE2 de 6.5 ng.g⁻¹. Se observa que durante los primeros 60-180 minutos de reacción, los 3 estrógenos fueron removidos rápidamente mediante procesos de biodegradación y adsorción y no por volatilización. El aumento en la concentración de los compuestos en la biomasa esta relacionada a la adsorción de los compuestos sobre la biomasa, sin embargo, en todos los casos, la concentración de E1, E2 y EE2 en la fase sólida fue disminuyendo a consecuencia de procesos únicamente de biodegradación, los cuales posiblemente fueron llevados a cabo dentro de los flóculos biológicos. Este hecho puede estar fundamentado ya que a partir de los 180 minutos (para el E1 y E2) y 360 minutos (para el EE2), las concentraciones en la fase líquida son bajas, las cuales permitieron que una menor cantidad de compuestos solubles en la fase líquida estuvieran disponibles para la adsorción de los compuestos sobre la biomasa, permitiendo que el material adsorbido en la biomasa fuera biodegradado. La disminución de los estrógenos en la biomasa no se debió a fenómenos de desorción, ya que, de acuerdo con los datos obtenidos, no observaron aumentos en las concentraciones de los compuestos en la fase líquida durante toda la experiencia.

Para el E1, se observa que los primeros 360 minutos de reacción, existe una disminución de E1 en la fase líquida pasando de 170 a 4.2 ng.L⁻¹ con una remoción del 97.5%. La concentración del compuesto en la fase sólida aumento de 4.3 hasta 23 ng.g⁻¹. De acuerdo a esto, el porcentaje removido por adsorción durante estos minutos fue del 11%. El 86.5% fue removido por biodegradación. Después de este tiempo, la

concentración del estrógeno en la biomasa disminuyó hasta 5 ng.g^{-1} (muy similar a la concentración inicial) como consecuencia de la biodegradación del E1 dentro de la biomasa. La remoción final del compuesto en la fase líquida fue del 98.7%. Por lo tanto, el porcentaje removido por biodegradación y adsorción fue del 87.7 y 11% respectivamente. La velocidad de adsorción fue de $0.04 \text{ ng.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ y la velocidad de biodegradación fue de $0.280 \text{ ng.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$.

Asimismo, el E2 fue removido hasta el 100% de la fase líquida, el cual solo el 4.6% fue removido por adsorción, mientras que un 95.4% fue removido por biodegradación. Las velocidades de adsorción y biodegradación para este compuesto fueron de $0.027 \text{ ng.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ y $0.374 \text{ ng.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ respectivamente. Se observa que la concentración de E2 en la biomasa fue disminuyendo a partir del minuto 180, indicando que el compuesto fue removido de la biomasa por procesos de biodegradación, esto debido a que no se presentó una desorción de E2 de la fase sólida hacia la fase líquida.

Por otro lado, la velocidad de adsorción para el EE2 fue de $0.081 \text{ ng.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$, mientras que la tasa de remoción por biodegradación fue de $0.2 \text{ ng.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$, el cual corresponde a una remoción por adsorción del 28% y de 62% de remoción por biodegradación. Por lo tanto, el EE2 fue removido de la fase líquida hasta un 90%.

Los resultados mostraron que los compuestos presentaron remociones mayores al 90% en un periodo de 24 h, siendo el proceso de biodegradación el principal mecanismo de remoción de los estrógenos. Esta biodegradación de los compuestos, indicó que la biomasa utilizada para el experimento estaba completamente aclimatada y estabilizada presentándose una actividad alta de los microorganismos presentes en el licor mezclado. Asimismo, la biodegradación de los compuestos en los BRM fue el principal mecanismo de remoción. Por lo tanto, se confirma de esta manera que la biodegradación juega un papel muy importante en la remoción de los compuestos a través de un reactor biológico con membranas.

La remociones de los estrógenos en los BRM operados en continuo fueron mayores que en las pruebas en batch, indicando que las membranas y las condiciones de operación tales como el TRC y TRH están intrínsecamente relacionados en la eliminación de E1, E2 y EE2.

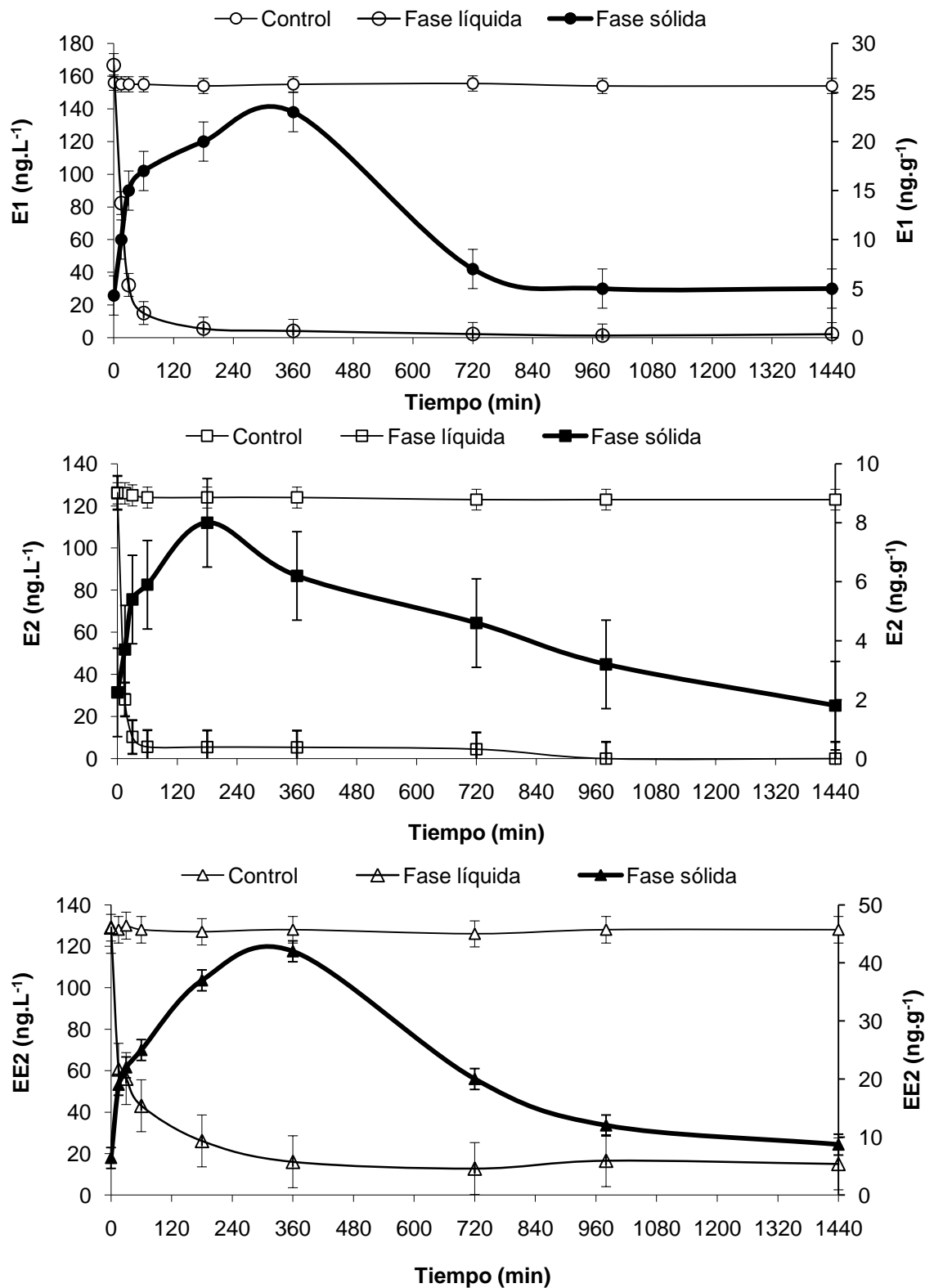


Figura 4.49. Remoción de E1, E2 y EE2 en pruebas batch.

En la Tabla 4.20 se presenta un resumen de las tasas de adsorción y biodegradación de los estrógenos obtenidas durante las pruebas en batch. De acuerdo a estos resultados, el E2 fue el compuesto más biodegradable, seguido del E1. El EE2 fue más difícil de remover. Resultados semejantes fueron determinados en los BRM.

Tabla 4.20. Tasas de biodegradación y adsorción de estrógenos obtenidas en los reactores batch

Compuesto	Tasa de biodegradación (ng.L ⁻¹ .min ⁻¹)	Remoción por biodegradación (%)	Tasa de adsorción (ng.g ⁻¹ .min ⁻¹)	Remoción por adsorción (%)
E2	0.374	95.4	0.027	4.6
E1	0.280	87.7	0.040	11
EE2	0.200	62	0.081	28

4.2.2.2.5.2. Modelos cinéticos

La velocidad a la cual el sustrato es consumido está generalmente relacionada con la velocidad de crecimiento microbiano. La ecuación que mejor describe este comportamiento es el modelo cinético tipo Monod, la cual representa la relación entre la velocidad de crecimiento de microorganismos y la concentración del sustrato que ocupan para su crecimiento. Con más alimento o sustrato, el crecimiento es más rápido hasta llegar a una tasa de crecimiento máximo (Clara *et al.*, 2005).

La degradación de contaminantes orgánicos puede proporcionar un aumento en la biomasa. Sin embargo, cuando un compuesto esta presente solo en niveles trazas, por ejemplo en ng.L⁻¹, la remoción de estas sustancias no da como resultado en un crecimiento de microorganismos (Clara *et al.*, 2005). Tales compuestos son usualmente removidos por cometabolismo y/o por variación en su concentración. Por lo tanto, hay que considerar otros modelos para describir la velocidad de remoción de estos compuestos.

Se utilizaron los modelos cinéticos de orden cero, de primer orden, pseudo primer orden, pseudo primer orden considerando el coeficiente de adsorción K_D y el modelo de Monod para determinar la constante de reacción o velocidad de remoción k de cada estrógeno.

El término de orden cero indica que la velocidad de reacción es independiente de la concentración del contaminante, mientras que el de primer orden se refiere a que la velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración del compuesto. El término pseudo se refiere a que la concentración del sustrato es proporcional a la

concentración de la biomasa X_{SST} , el cual se asume que es constante para cinéticas de corto tiempo (Joss *et al.*, 2006). El modelo de Monod tiene una forma hiperbólica en la que la tasa de eliminación tiende a un valor de saturación y representa la transición entre una reacción de orden cero y una reacción de primer orden.

Para aplicar el modelo de orden cero se graficaron los datos experimentales de S vs t y para el modelo de primer orden los datos de $\ln(S/S_0)$ vs t . Para el modelo pseudo primer orden se graficaron los mismos datos que el modelo de primer orden. En las Figuras 4.50 y 4.51 se muestran las cinéticas de biodegradación de E1, E2 y EE2 con estos modelos cinéticos. La Figura 4.50 se muestra el gráfico correspondiente al modelo de orden cero obteniéndose valores de R^2 entre 0.466 y 0.611. Los modelos cinéticos de primer y pseudo primer orden se muestran en la Figura 4.51, presentándose valores de R^2 entre 0.816 y 0.875. Para estos tres modelos, la pendiente de cada modelo para cada compuesto fue igual a la velocidad de remoción k de E1, E2 y EE2. Sin embargo, para calcular la velocidad de remoción k para cada compuesto en el modelo pseudo primer orden, la pendiente fue dividida entre la concentración de SST.

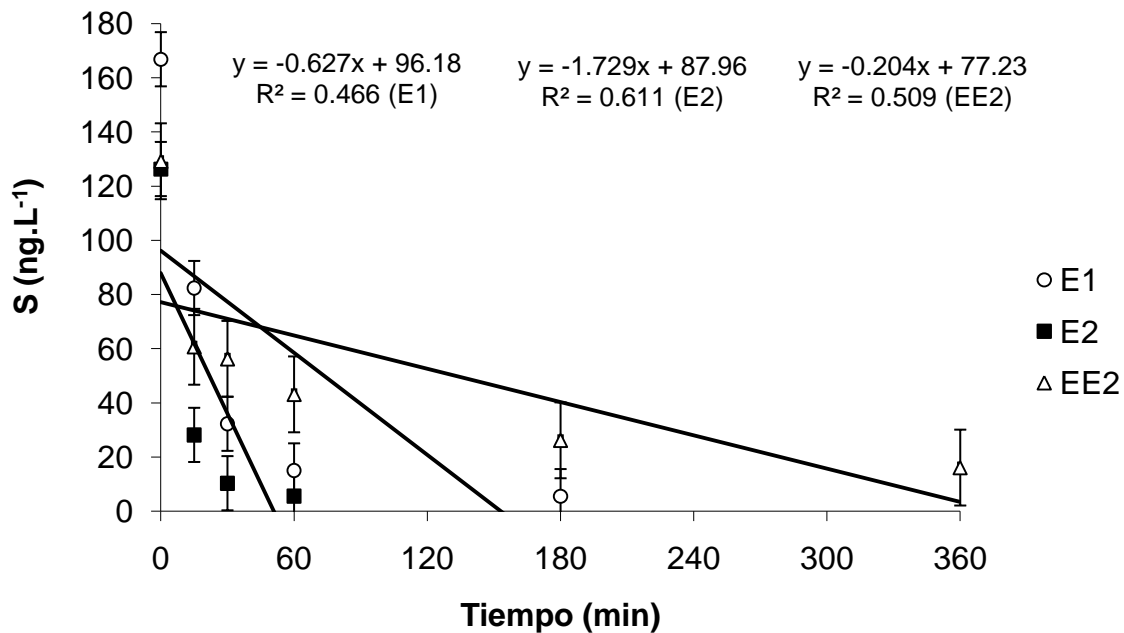


Figura 4.50. Cinética de reacción de E1, E2 y EE2 aplicando el modelo de orden cero

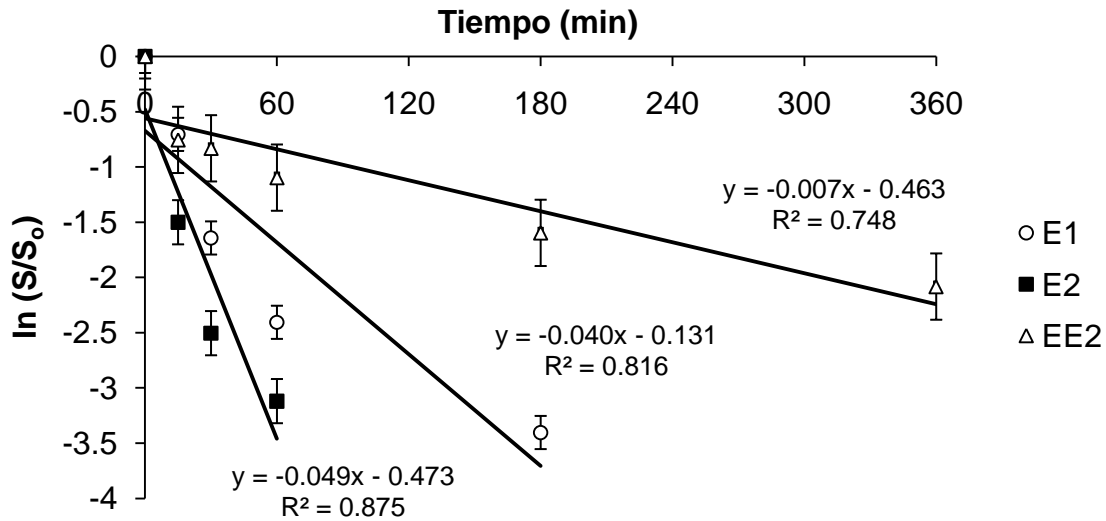


Figura 4.51. Cinética de reacción de E1, E2 y EE2 aplicando el modelo de primer y pseudo primer orden

Con relación a los modelos pseudo primer orden considerando el coeficiente de adsorción K_D y el modelo de Monod se graficaron los datos de $1/(-dS/dt)$ vs $1/S$. Para obtener la constante de reacción k , el valor del coeficiente de adsorción K_D fue dividido entre la pendiente. La linearización del modelo de Monod se hizo mediante el gráfico de Lineweaver-Burk (ecuación 4.4). El cálculo de $-dS/dt$ se realizó en cada tiempo de reacción con la ecuación $-dS/dt = (S_0 - S)/t$.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} = \frac{1}{-\frac{dS}{dt}} = \frac{K_s}{\mu_{\max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{\max}} \quad (4.4)$$

En la Figura 4.52 se presentan las cinéticas de reacción aplicando estos dos modelos, obteniéndose valores de R^2 entre un rango de 0.954 a 0.990.

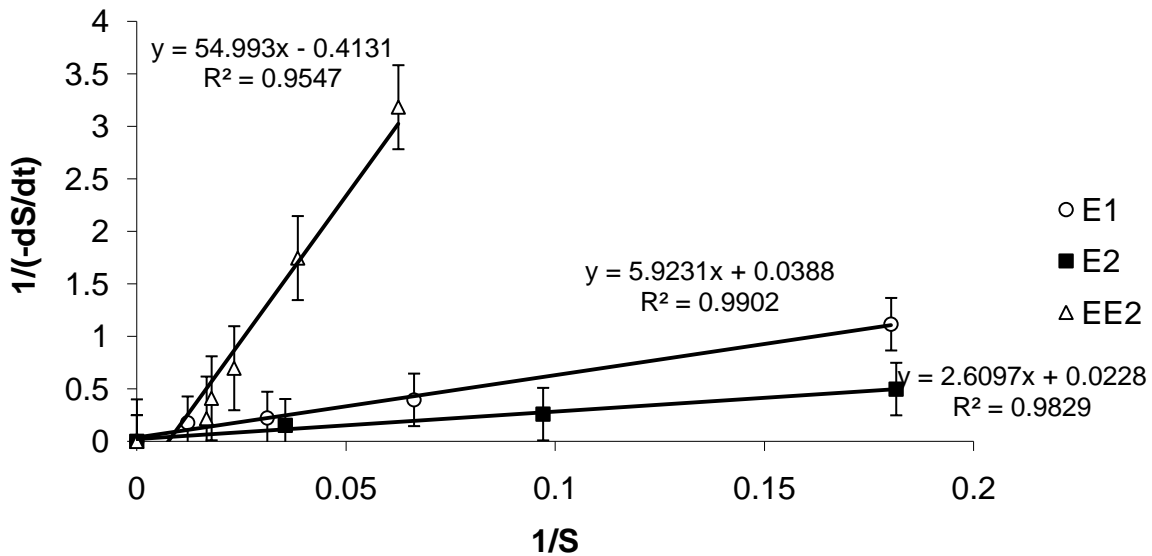


Figura 4.52. Cinética de reacción de E1, E2 y EE2 aplicando el modelo pseudo primer orden con K_D y al modelo de Monod

Los resultados al aplicar diferentes modelos cinéticos mostraron que las cinéticas de remoción de E1, E2 y EE2 se ajustaron al modelo pseudo primer orden (K_D) y al modelo de Monod. En la Tabla 4.21 se muestran los valores de las velocidades de remoción de los estrógenos obtenidos mediante diferentes modelos cinéticos.

Como se observa, introduciendo la variable K_D en el modelo pseudo primer orden, las velocidades de remoción de E1 y E2 se incrementan en comparación con las cinéticas de primer y pseudo primer orden ya que como se mencionó antes, la adsorción de los estrógenos se llevó a cabo rápidamente en los primeros 360 minutos en el orden de 4.6-28% permitiendo que el material adsorbido en la biomasa fuera biodegradado.

De acuerdo a Joss *et al.* (2006) y del proyecto nombrado como Poseidon (2005), dependiendo del valor de k se han propuesto las siguientes condiciones para la degradación de microcontaminantes en aguas residuales mediante procesos biológicos:

- $k < 0.1 \text{ L.g}_{\text{SS}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. La remoción vía biodegradación no es significativa y es menor de 20%;
- $0.1 < k < 10$. La remoción es parcialmente debida a la biodegradación (entre 20% y 90%);
- $k > 10$. Más del 90% de remoción es llevada a cabo por degradación biológica; la remoción específica depende de la configuración del reactor.

De acuerdo con estos autores y comparando con los resultados obtenidos el E1, E2 y EE2 presentaron más del 90% de remoción por biodegradación. El resultado del modelo pseudo primer orden (K_D) mostraron los mismos resultados que fueron obtenidos en el balance de materia en las pruebas en batch y en los BRM (remociones por biodegradación > 90%), indicando nuevamente que la remoción de E1, E2 y EE2 es mediante procesos de biodegradación.

Los resultados indicaron que el E2 es el compuesto más biodegradable ya que este presentó una k de $206.975 \text{ L.g}_{\text{SST}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ seguido por el E1 y el EE2 con valores de 78.527 y $12.412 \text{ L.g}_{\text{SST}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ respectivamente, por lo tanto, el $E2 > E1 > EE2$. Los valores de k para el E1 y E2 fueron más bajos que lo reportado por Gaulke *et al.* (2009) y Joss *et al.* (2004), sin embargo, el valor de k para el EE2 en este trabajo fue mucho más altos que lo reportado por estos autores. Estas diferencias en las velocidades de remoción de los estrógenos pueden estar relacionadas por varios factores tales como la concentración inicial de los estrógenos, la edad del lodo, la concentración de la biomasa y a los procesos de nitrificación.

Por otro lado, los parámetros cinéticos μ_{max} y K_S del modelo de Monod indican que esta biodegradación de los 3 estrógenos es llevada principalmente por cometabolismo. Se observa que el compuesto que presentó una mayor afinidad con la biomasa fue el E2 con valores de μ_{max} y K_S de 45.454 d^{-1} y $118.590 \text{ ng.L}^{-1}$ seguido por el E1 y EE2, lo que indica nuevamente que el E2 fue el compuesto más fácil de remover y el EE2 resultó ser más recalcitrante.

Tabla 4.21. Velocidades de remoción obtenidas por diferentes modelos cinéticos

Compuesto	Orden cero ($\text{ng.L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	Primer orden (d^{-1})	Pseudo primer orden ($\text{L.g}_{\text{SST}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	Pseudo primer orden (K_D) ($\text{L.g}_{\text{SST}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	Monod	
					μ_{max} (d^{-1})	K_S (ng.L^{-1})
E1	902.88 ± 56.365 ($R^2 = 0.466$)	57.60 ± 4.444 ($R^2 = 0.816$)	38.40 ± 3.601 ($R^2 = 0.816$)	78.527 ± 5.475 ($R^2 = 0.990$)	26.315 ± 3.643 ($R^2 = 0.990$)	155.868 ± 5.052
E2	2489.76 ± 226.234 ($R^2 = 0.611$)	70.56 ± 4.753 ($R^2 = 0.875$)	47.040 ± 3.924 ($R^2 = 0.875$)	206.975 ± 5.570 ($R^2 = 0.982$)	45.454 ± 5.630 ($R^2 = 0.982$)	118.590 ± 6.327
EE2	293.76 ± 23.890 ($R^2 = 0.509$)	10.08 ± 5.145 ($R^2 = 0.748$)	6.72 ± 4.101 ($R^2 = 0.748$)	12.412 ± 2.030 ($R^2 = 0.954$)	2.421 ± 6.764 ($R^2 = 0.954$)	133.147 ± 8.215

4.2.2.2.5.3. Identificación de los subproductos de la biodegradación de E1, E2 y EE2

El estudio de la identificación de los subproductos de la biodegradación fueron realizados en experimentos en batch siguiendo la misma metodología descrita para realización de la cinéticas de remoción. Sin embargo, la única diferencia en estas cinéticas fue que los compuestos fueron estudiados por separado. Los resultados mostraron que el E1 fue generado durante la biodegradación del E2, los cuales fueron removidos casi completamente a través del tiempo (Figura 4.53). Para el E1 y EE2, no se encontraron metabolitos intermedios en la biodegradación de estos compuestos. Esto sugiere dos hechos: 1) que otros microorganismos que existen en la biomasa, los cuales pueden degradar a los estrógenos no generan subproductos de biodegradación, y 2) que si se forman metabolitos intermedios en la biodegradación de E1 y EE2 mediante reacciones de hidroxilación, sin embargo, estos compuestos posiblemente se generen dentro de un corto periodo de tiempo (entre 0 y 15 minutos), como se mostró en la formación de E1 a partir de E2, el cual se formó durante los primeros 15 minutos de reacción. En este experimento, las muestras fueron tomadas en intervalos de tiempo de 0, 15, 30, 60, 180, 360, 720, 980 y 1,440 minutos. Por lo tanto, se recomienda que para la identificación de metabolitos intermedios generados por la biodegradación de E1 y EE2 sean identificados en un corto periodo de tiempo con intervalos de tiempo pequeños.

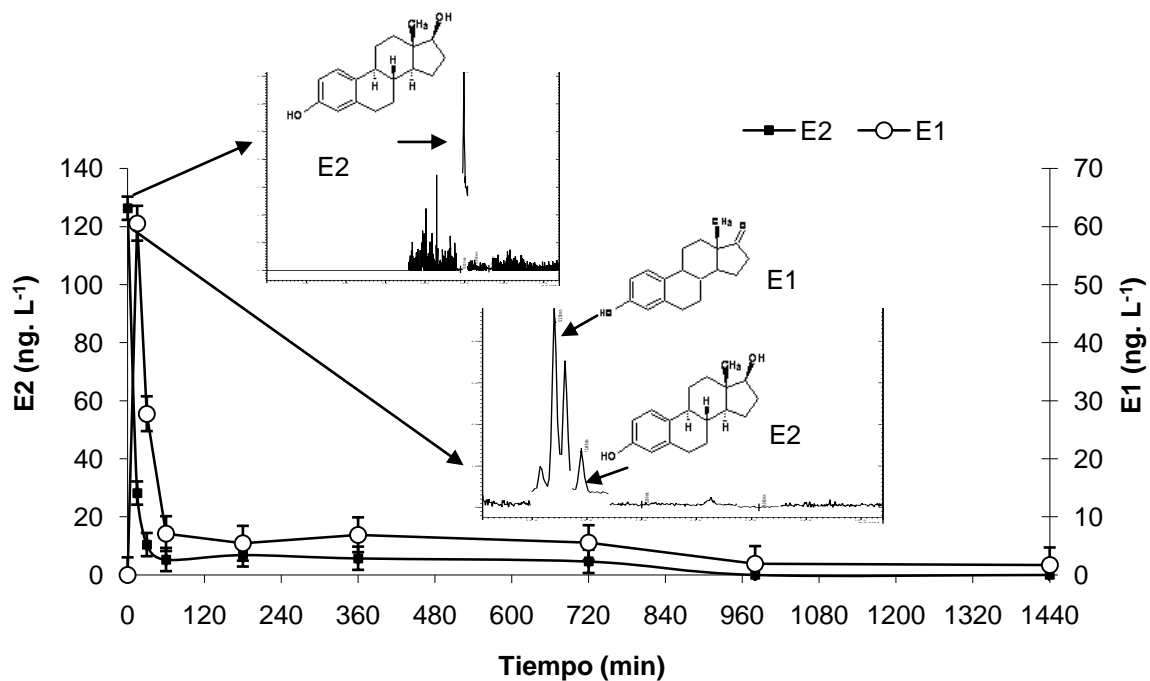


Figura 4.53. Biotransformación de E2 a E1

4.2.2.2.5.4. Remoción de materia orgánica y nitrógeno amoniacal en pruebas batch

Durante la realización de las pruebas para la determinación de las cinéticas de remoción de los estrógenos, conjuntamente se tomaron muestras de DQO y N-NH_4^+ . En la Figura 4.54 se muestra que la DQO fue removida hasta un 100%, indicando una alta actividad de los microorganismos para remover material carbonoso fácilmente biodegradable, en este caso metanol. Asimismo, en la Figura 4.55 se observa que el N-NH_4^+ fue disminuyendo a través del tiempo con la generación de N-NO_2^- y N-NO_3^- , (producto de la oxidación del N-NH_4^+), presentandose una actividad nitrificante de la biomasa. Este comportamiento indicó la posible presencia de microorganismos heterótrofos y autótrofos en la biomasa, lo cual indica que el E1, E2 y EE2 pueden ser biodegradados con la presencia de estos microorganismos. Se ha reportado que los estrógenos pueden ser biodegradados por microorganismos heterótrofos o por degradación cometabólica con bacterias nitrificantes (Pauwels *et al.*, 2008; Ren *et al.*, 2007; Yi y Harper, 2007; Shi *et al.*, 2004).

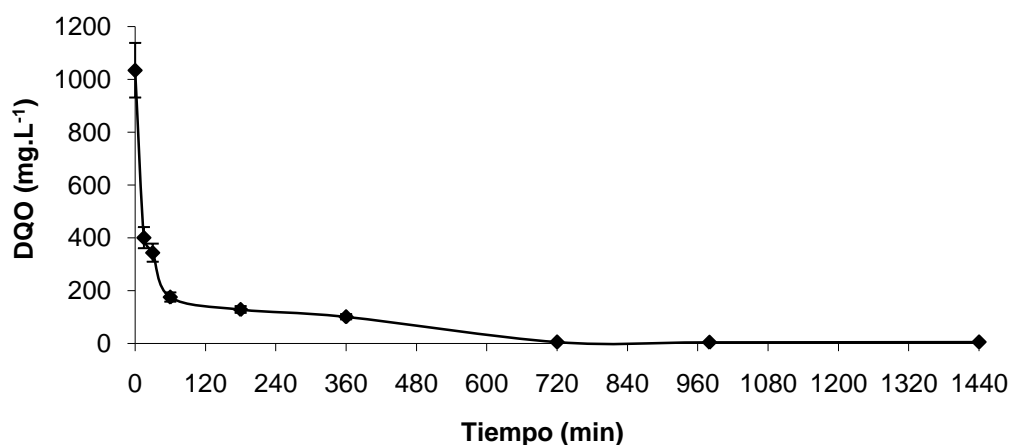


Figura 4.54. Remoción de la materia orgánica en experimentos en batch

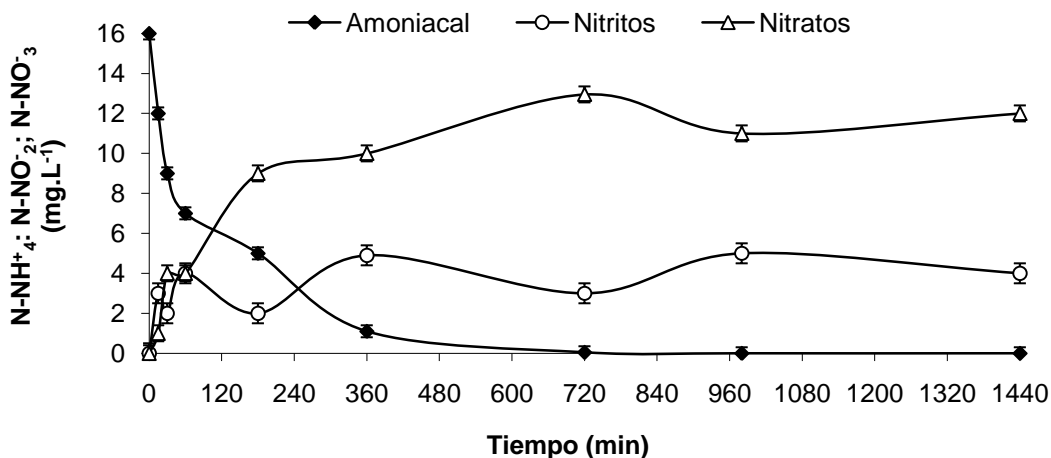


Figura 4.55. Remoción de N-NH_4^+ a través del tiempo con experimentos en batch

4.2.2.2.6. Desempeño de los reactores en la remoción de materia orgánica y otros parámetros

Para evaluar el desempeño de los reactores se siguió la evolución de materia orgánica mediada como DQO_T , turbiedad en el permeado, colmatación de las membranas, SST y SSV.

4.2.2.2.6.1. Materia orgánica

En la Tabla 4.22, se presenta un resumen de los resultados de remoción de materia orgánica medida como DQO (DQO_s) en los BRM operados con diferentes condiciones de operación. En la primera fase experimental, las remociones en todos los reactores durante este periodo fueron menores al 92% con una DQO_s en los efluentes hasta 61 mg.L^{-1} . Estas bajas remociones fueron el producto de una biomasa no aclimatada. A partir de las siguientes fases experimentales, las remociones de DQO_s permanecieron por arriba del 95% con concentraciones en el efluente menores a $28 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$, típico de un BRM (Metcalf y Eddy, 2003; Stephenson, 2000), indicando una buena actividad de los microorganismos para degradar al metanol. Se observa que cuando hay más disponibilidad de material carbono para los microorganismos, las remociones de DQO_s aumentan, lo que indica que al incrementarse la carga orgánica existe mayor remoción de materia orgánica. Los reactores trataron cargas de 1-3.4 con remociones de DQO_s de 95-99% (Figura 4.56). Los valores de cargas orgánicas típicas aplicadas a los BRM se encuentran en el rango de $1.2\text{-}3.2 \text{ kg DQO}.\text{m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ con concentraciones de DQO_s en los efluentes menores a 30 mg.L^{-1} (Metcalf y Eddy, 2003), por lo tanto, en este trabajo las cargas aplicadas a los reactores y las concentraciones de DQO en el efluente estuvieron en el rango reportados por otros autores, indicando un alto desempeño de

los sistemas. En este trabajo, la máxima remoción de DQO fue del 99% correspondiente a una carga orgánica aplicada de $3.4 \text{ kg DQO}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ para un TRH de 7 h y un TRC de 95 d.

Tabla 4.22. Resumen de operación de los reactores en la remoción de la materia orgánica

BRM	Fase experimental	Días de operación	DQO Influyente ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	DQO Efluente ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Remoción (%)
1	Aclimatación de la biomasa	1-49	588 ± 143	61 ± 28	89.5 ± 5
	TRH 12 h TRC 75 d	50-199	500 ± 83	20 ± 47	96 ± 8
	TRH 12 h TRC 35 d	200-277	841 ± 183	25 ± 6	97 ± 0.8
	TRH 7 h TRC 35 d	278-284	982 ± 57	20 ± 8	98 ± 0.7
2	Aclimatación de la biomasa	1-56	589 ± 135	47 ± 47	92 ± 9
	TRH 12 h TRC 45 d	57-149	518 ± 63	17 ± 16	96.7 ± 3
	TRH 12 h TRC 60 d	150-277	684 ± 257	16 ± 21	97.6 ± 0.4
	TRH 7 h TRC 60 d	278-284	983 ± 57	14 ± 2	98.5 ± 0.5
3	Aclimatación de la biomasa	1-56	589 ± 135	46 ± 26	92.2 ± 5
	TRH 12 h TRC 95 d	57-270	586 ± 184	28 ± 15	95.2 ± 0.3
	TRH 7h TRC 95 d	271-284	1028 ± 89	8 ± 3	99.2 ± 0.6

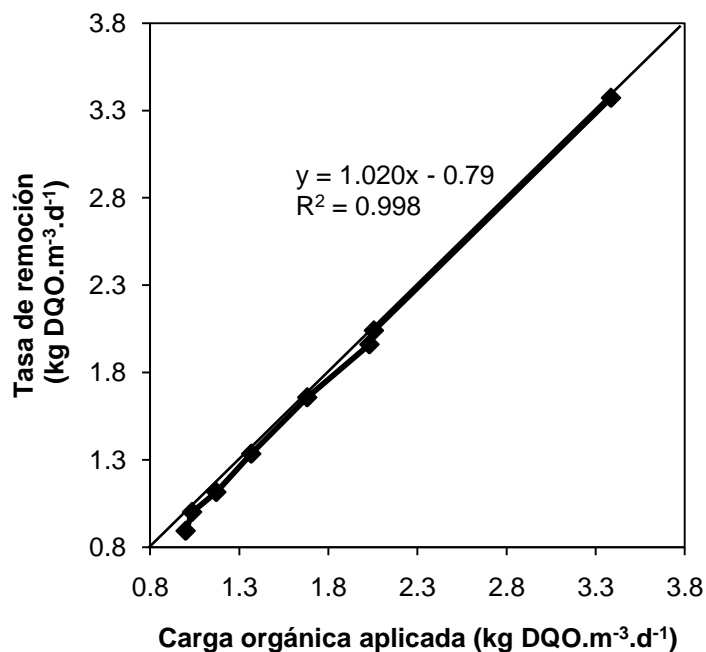


Figura 4.56. Tasas orgánicas aplicada y removidas en la operación de los BRM

Para seleccionar las mejores condiciones de operación de los BRM no solo hay que tomar en cuenta la remoción de microcontaminantes, sino también la remoción de materia orgánica y nutrientes con el objeto de tener una excelente calidad de agua tratada. En las secciones pasadas, las mejores condiciones para la remoción de N-NH₄⁺ se obtuvieron en general para un TRC de 60 d y un TRH de 7 y 12 h los cuales estuvieron relacionados con las mejores remociones de E1, E2 y EE2. En la Figura 4.57 se muestra las remociones de los estrógenos y DQO con diferentes condiciones de operación. Se observa que a pesar de tener ligeramente mejores remociones de DQO para un TRC de 95 d y TRH 7, la remoción de estrógenos es baja comparado con un TRC de 60 d y un TRH de 12 h, en las cuales se obtuvieron el 100% de remoción de los estrógenos. Con respecto a la DQO para estas últimas condiciones de operación se presentaron remociones de DQO del 97.5% con concentraciones en el efluente de 16 mg.L⁻¹, lo cual indica una remoción alta de materia orgánica. Por lo tanto, puede considerarse que con un TRC de 60 d y un TRH de 12 h se puede tener una agua tratada de excelente calidad.

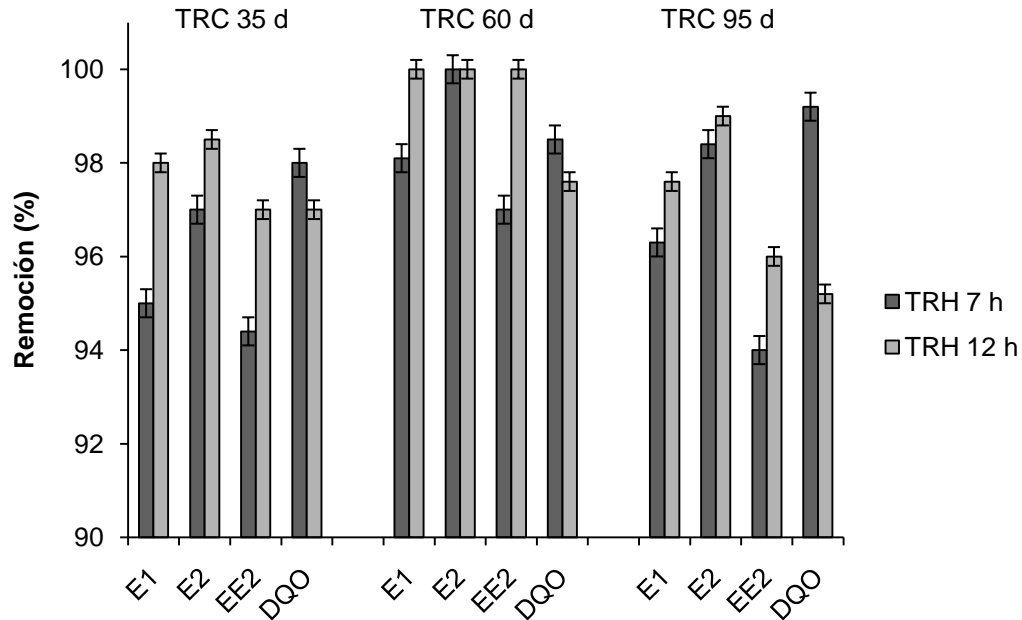


Figura 4.57. Remoción de materia orgánica y estrógenos bajo diferentes TRH y TRC

4.2.2.2.6.2. Determinación de coeficientes cinéticos

Los valores de los coeficientes cinéticos fueron determinados a partir de los datos obtenidos de los tres BRM en condiciones estacionarias mediante la siguiente expresión (ecuación 4.5) utilizando como sustrato el metanol (DQO).

$$\mu = \frac{k * SSV * S}{K_s + S} = \frac{S_o - S}{TRH} \quad (4.5)$$

Donde:

- μ = Tasa de crecimiento específico de los microorganismos (d^{-1})
- k = Tasa máxima de utilización del sustrato ($mg\ DQO \cdot mg\ SSV \cdot d^{-1}$)
- K_s = Constante de saturación ($mg \cdot L^{-1}$)
- SSV = Concentración de SSV ($mg \cdot L^{-1}$)
- S = Concentración final del sustrato ($mg \cdot L^{-1}$)
- S_o = Concentración inicial del sustrato ($mg \cdot L^{-1}$)
- TRH = Tiempo de residencia hidráulica (d)

Dividiendo la ecuación 4.5 por la concentración de SSV se obtiene la siguiente ecuación 4.6.

$$\frac{k * SSV * S}{K_s + S} = \frac{S_o - S}{TRH * SSV} \quad (4.6)$$

Linealizando la ecuación 4.6.

$$\frac{TRH * SSV}{S_o - S} = \frac{K_s}{k} * \frac{1}{S} + \frac{1}{k} \quad (4.7)$$

Los valores de k y K_s se determinaron representando gráficamente el término $(SSV*TRH)/(S_o-S)$ vs $1/S$ (Figura 4.58), donde k es el inverso de la ordenada al origen y K_s es la pendiente multiplicada por k .

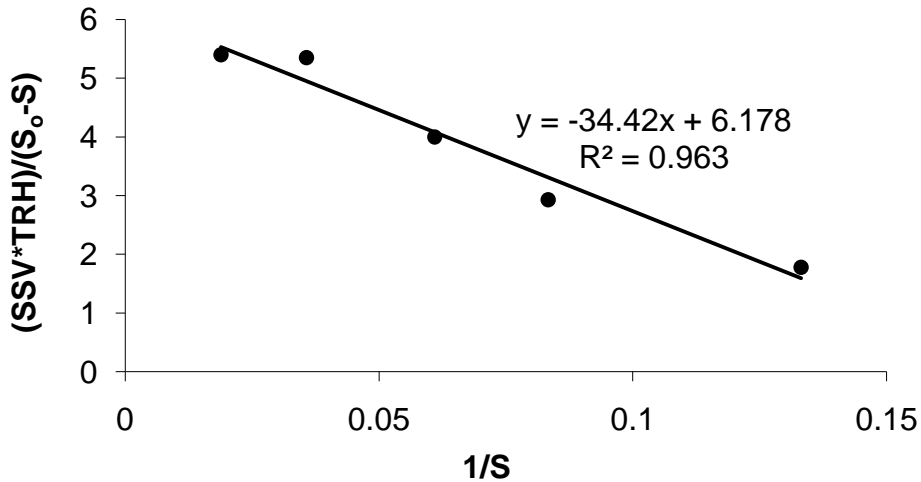


Figura 4.58. Determinación de los coeficientes cinéticos k y K_s

Los valores del coeficiente de producción celular Y y el coeficiente de decaimiento endógeno k_d se determinaron con la siguiente ecuación 4.8, representando $1/TRC$ vs $(S_o-S)/(SSV*TRH)$. La pendiente de la línea recta es Y y la ordenada al origen es k_d (Figura 4.59).

$$\frac{1}{TRC} = -Y \frac{\mu}{SSV} - k_d = Y \frac{S_o - S}{SSV * TRH} - k_d \quad (4.8)$$

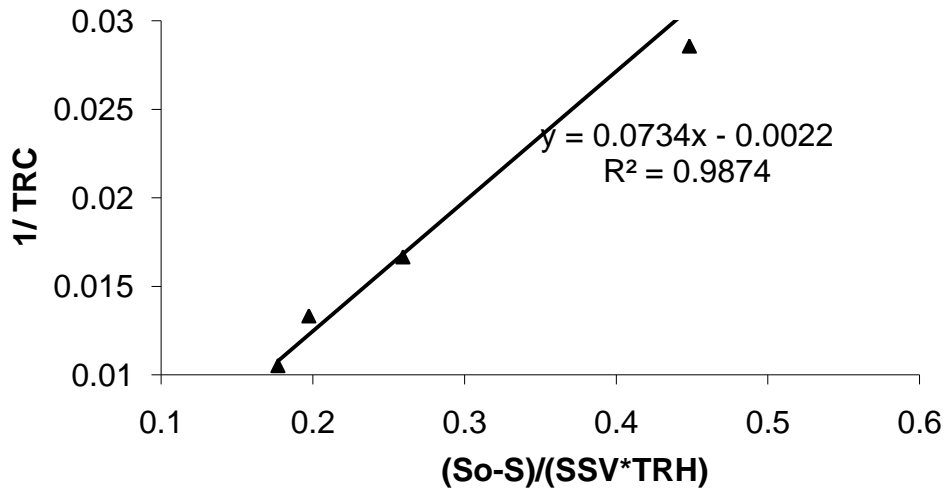


Figura 4.59. Determinación de los coeficientes cinéticos Y y k_d

El coeficiente de la tasa máxima de crecimiento específico de los microorganismos μ_{max} se obtuvo de la siguiente ecuación 4.9.

$$\mu_{max} = kY \quad (4.9)$$

En la Tabla 4.23 se presentan los coeficientes cinéticos determinados.

Tabla 4.23. Coeficientes cinéticos en los BRM a nivel laboratorio

Coeficiente cinético	Valor
k (mg DQO.mg SSV ⁻¹ .d ⁻¹)	0.161
K_s (mg DQO.L ⁻¹)	5.571
k_d (d ⁻¹)	0.002
Y (mg SSV.mg DQO ⁻¹)	0.073
μ_{max} (d ⁻¹)	0.011

Los valores de k y K_s fueron relativamente bajos respectivamente, indicando una alta afinidad del sustrato (sustrato altamente biodegradable) para los microorganismos. Los valores de K_s para el proceso convencional de lodos activados son de aproximadamente de 20 mg.L⁻¹, 4 veces más de lo obtenido en este trabajo (Metcalf y Eddy, 2003).

El coeficiente de rendimiento celular Y se determinó en 0.073 mg SSV.mg DQO⁻¹ y fue considerablemente bajo respecto a los coeficientes de rendimiento observados en el proceso convencional de lodos activados, los cuales son de 0.4 mg SSV.mg DQO⁻¹ (Metcalf y Eddy, 2003). Esta diferencia del coeficiente Y , fue el producto de los altos TRC operados en los sistemas, permitiendo un lento crecimiento de los microorganismos y por lo tanto menos generación de lodo residual, sugiriéndose de esta manera, que todo el sustrato consumido por los microorganismos fue solo para sus requerimientos de energía y no para su síntesis celular. Asimismo, el valor bajo del coeficiente Y hizo que disminuyera también la tasa máxima específica de crecimiento de los microorganismos μ_{max} y el coeficiente de respiración endógena k_d . El valor de μ_{max} , indicó una severa limitación de sustrato para los microorganismos generándose menos producción de biomasa. El μ_{max} en el proceso de lodos activados tiene valores de 6 d⁻¹ generándose mayores lodos residuales comparado con los BRM (Metcalf y Eddy, 2003; Stephenson, 2000). El coeficiente k_d obtenido en este trabajo fue muy bajo comparado con los valores de los procesos convencionales de lodos activados, los cuales se encuentran en 0.12 d⁻¹ (Metcalf y Eddy, 2003). Este valor muy pequeño de k_d nos puede indicar que la predación y lisis celular en los BRM fueron bajas. Asimismo valores altos de k_d indica un mayor consumo de biomasa en el sistema. Por lo tanto, en este trabajo no se observaron disminuciones en las concentraciones de los SSV.

Los coeficiente cinéticos determinados en este trabajo (Y , k_d y μ_{max}) se encontraron dentro de los valores típicos de los BRM (Stephenson, 2000), los cuales están en el rango de 0.01-0.34 mg SSV.mg DQO⁻¹ para Y , de 0.0025-0.08 d⁻¹ para k_d y para μ_{max} de 0.75 d⁻¹.

La Figura 4.60 se muestra que la relación de SSV/SST permanece constante en cada fase experimental con valores entre 0.6 y 0.8 $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$, lo cual implica que no hay una mineralización severa de la biomasa y/o acumulación de componentes inorgánicos, indicando de esta manera una respiración endógena baja para los microorganismos, excepto para los primeros 20 días de operación (aclimatación de la biomasa), los cuales fueron menores a 0.6 $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$ indicando una acumulación de material inerte en los reactores. Los valores de la relación de SSV/SST mayores a 0.6 $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$ corresponden a los encontrados en el proceso de lodos activados y BRM (Sun *et al.*, 2007; Orantes *et al.*, 2006; Pitter y Chudoba, 1990).

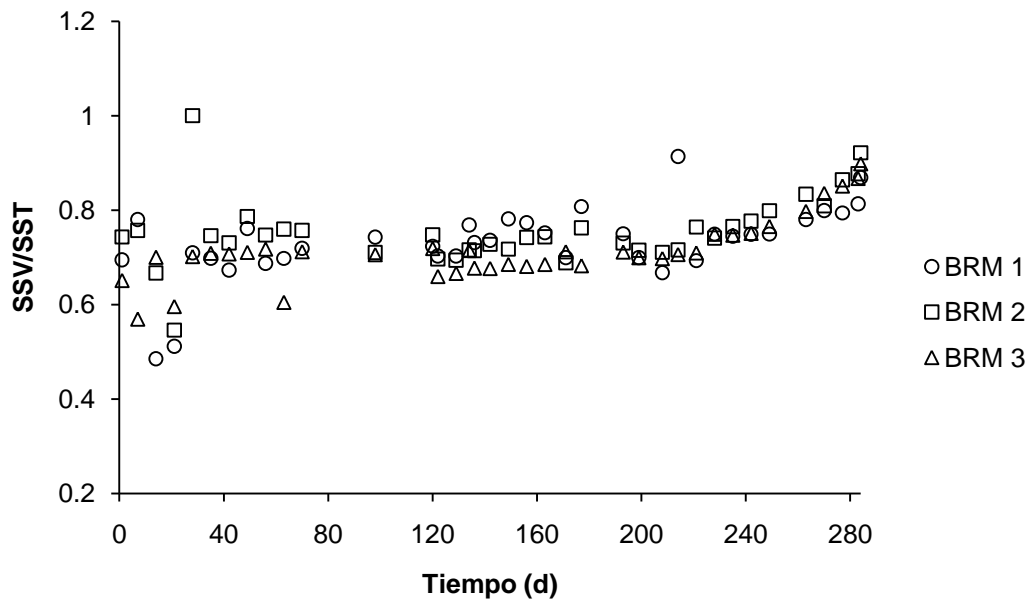


Figura 4.60. Relación SSV/SST en los BRM

4.2.2.2.6.3. Sólidos suspendidos volátiles

En la Figura 4.61 se muestran las concentraciones de las biomazas dentro de los reactores. Se observa que durante la aclimatación de la biomasa hay una disminución de estas durante los primeros 20 días producto de una aclimatación de la biomasa al agua residual sintética. Sin embargo, a partir del día 21, las concentraciones de las biomazas comenzaron a incrementarse producto a una aclimatación de la biomasa hacia el sustrato. Este comportamiento fue debido a que la cantidad de sustrato necesario para garantizar el mantenimiento celular de la suspensión biológica aumenta con el tiempo y tiene prioridad sobre el proceso de síntesis celular. Por lo tanto, las concentraciones de SSV se incrementaron de 4,000 a 5,400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ en el BRM 1, de 5,000 a 5,800 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ en el BRM 2 y para el BRM 3 de 6,000 a 7,200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. A medida

que avanzaron los días de operación de los reactores (hasta alcanzar las condiciones estacionarias para cada TRC) y el respectivo aumento en la concentraciones de las biomosas, generó que la disponibilidad de sustrato para los microorganismos disminuyera y la síntesis celular bajara hasta alcanzar niveles aparentemente nulos, consecuentemente, la concentración de biomasa permaneció constante. A partir de ese momento, el sustrato fue consumido únicamente para asegurar los requerimientos de mantenimiento y energía de las células presentes, dando como resultado un coeficiente de respiración endógena bajo. Durante las fases en las cuales se incrementaron los TRC puede existir lisis celular, el cual puede inducir una acumulación de material en suspensión y de liberación de compuestos solubles producto de esta lisis y a su vez pueden ser utilizados como un pseudosustrato por las bacterias presentes en los sistemas, asegurándose de esta manera, una estabilización de la biomasa. Los resultados obtenidos de la relación SSV/SST indicó que posiblemente no existe acumulación de compuestos solubles.

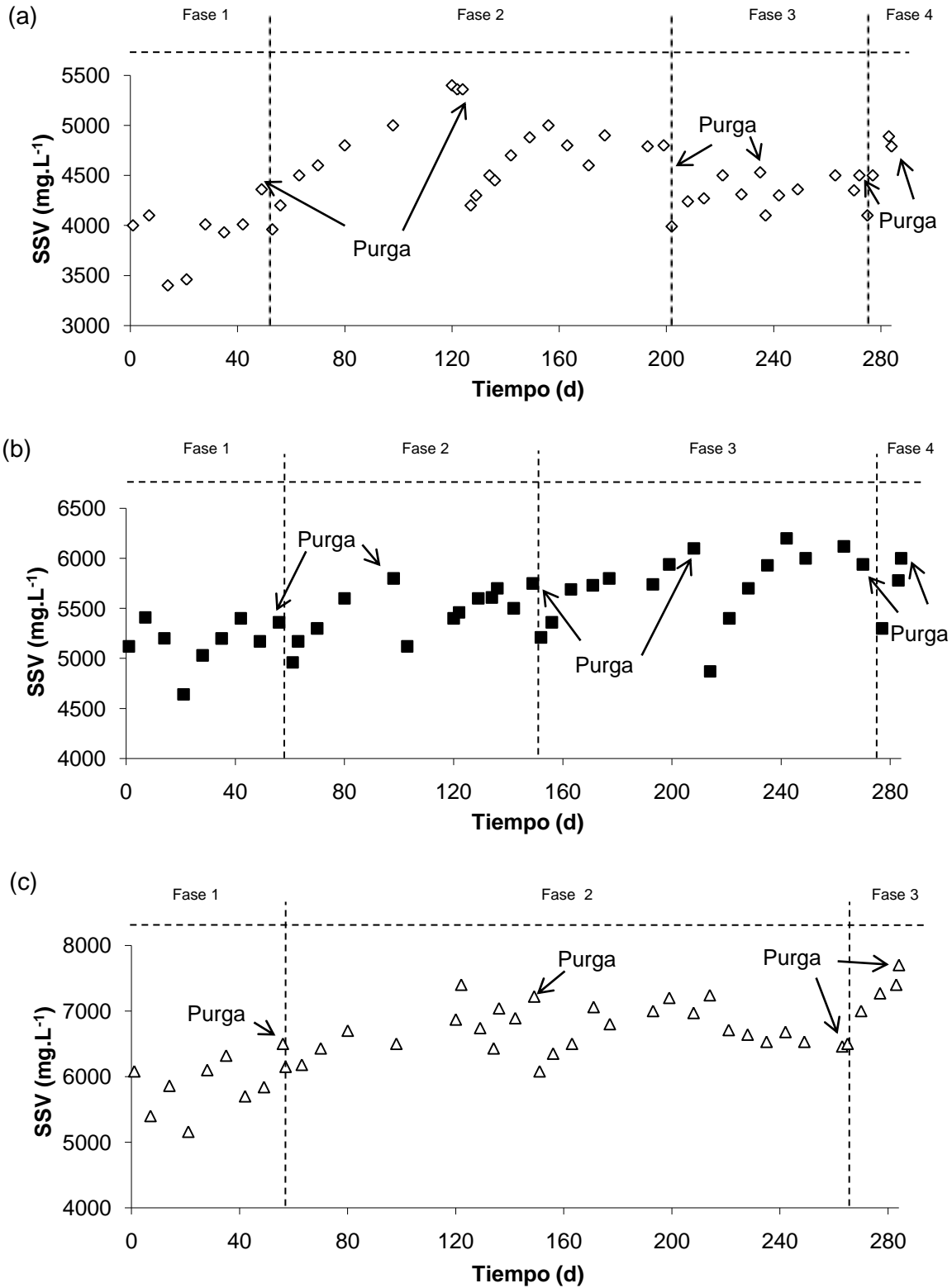


Figura 4.61. Evolución de la biomasa en los BRM. a) BRM 1, b) BRM 2 c) BRM 3

4.2.2.6.4. Seguimiento de la colmatación de las membranas

Con el objeto de observar el comportamiento de los BRM en cuanto a la colmatación de las membranas con diferentes condiciones de operación, los sistemas fueron evaluados en términos del flux, presión transmembrana (PTM), permeabilidad (K) y resistencia hidráulica total (R_T). En las Figuras 4.62 y 4.63 se muestra la evolución del flux, PTM, K, SST y R_T a través los reactores. Se observa que aún cuando la filtración se llevó a cabo bajo condiciones sub-críticas y con retrolavados, se observó un incremento continuo de la PTM resultado de la saturación progresiva de las membranas. De acuerdo a Field *et al.* (1995), la superficie de filtración puede ser reducida debido a un bloqueo progresivo de los poros de la membrana. Consecuentemente hay un incremento en la cantidad de flujo en cada uno de los poros que permanecen abiertos, así, se pueden llegar a alcanzar condiciones de flujo crítico y se empieza a presentar un depósito en la superficie externa de la membrana, el cual induce un abrupto incremento en la PTM. Generalmente, se observa este comportamiento de saturación en los BRM operando con un flujo constante y operando durante largos periodos experimentales (Ognier *et al.*, 2002).

Durante la aclimatación de la biomasa (fase 1), se observó que el flux fue reducido alrededor del 23% en todos los reactores con un aumento en la PTM, esto debido por una cantidad de material inerte presente en los reactores y por un aumento subsecuente en la concentración de la biomasa, el cual posiblemente se acumuló en la superficie de las membranas presentándose la reducción del flux y el aumento de la PTM. El material inerte formado en esta fase puede corresponder a un aumento en los SST y disminución de los SSV durante los primeros 20 días de operación producto de la aclimatación de la biomasa generándose de esta manera, una acumulación de material inerte en los sistemas. Este comportamiento se vió reflejado con las relaciones SSV/SST, las cuales fueron menores a 0.6 mg.mg^{-1} . Aunado con este material inerte y el posterior incremento en la concentración de la biomasa, dió como resultado la disminución del flux y la permeabilidad y un aumento de la PTM y R_T .

Las altas PTM y resistencias mostradas en la fase 2, 3 y 4 en los reactores, fueron consecuencia del crecimiento de la biomasa, indicando que una cierta cantidad de los poros de las membranas se encontraban obstruidos por la acumulación constante de sólidos sobre la superficie externa de las membranas, el cual se vió reflejada en un decremento de las permeabilidades. Sin embargo, a pesar de las variaciones de estos parámetros, se observó que el flux en todos los reactores con diferentes fases experimentales no fue reducido considerablemente y permanecieron casi constantes en todas las fases. Este comportamiento indicó posiblemente una colmatación reversible. El resultado del flux pudo estar relacionado con los retrolavados continuos aplicados a las membranas, los cuales permitieron una constante apertura de los poros.

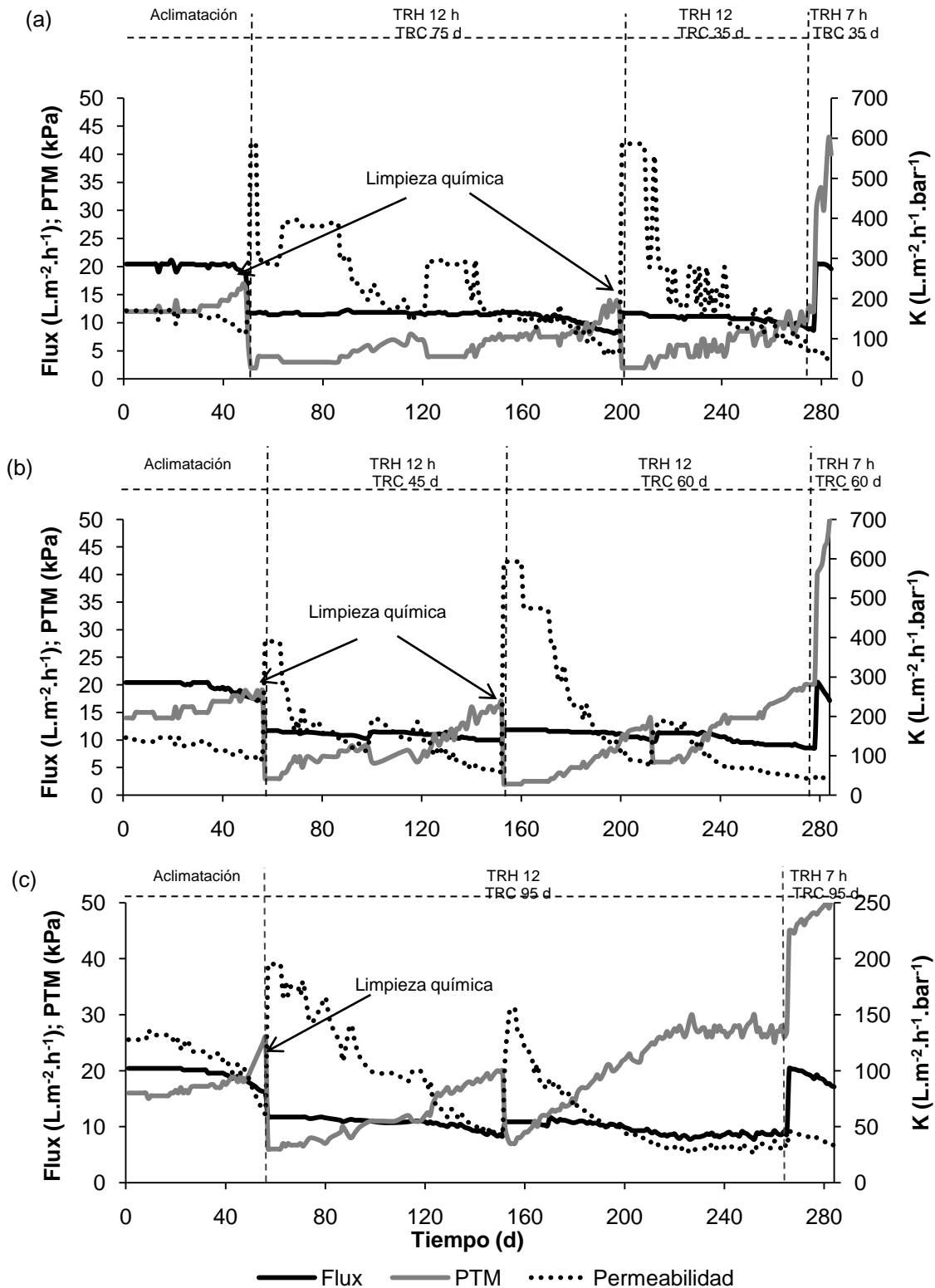


Figura 4.62. Evolución de la colmatación de las membranas en los reactores. a) BRM 1, B) BRM 2 y c) BRM 3

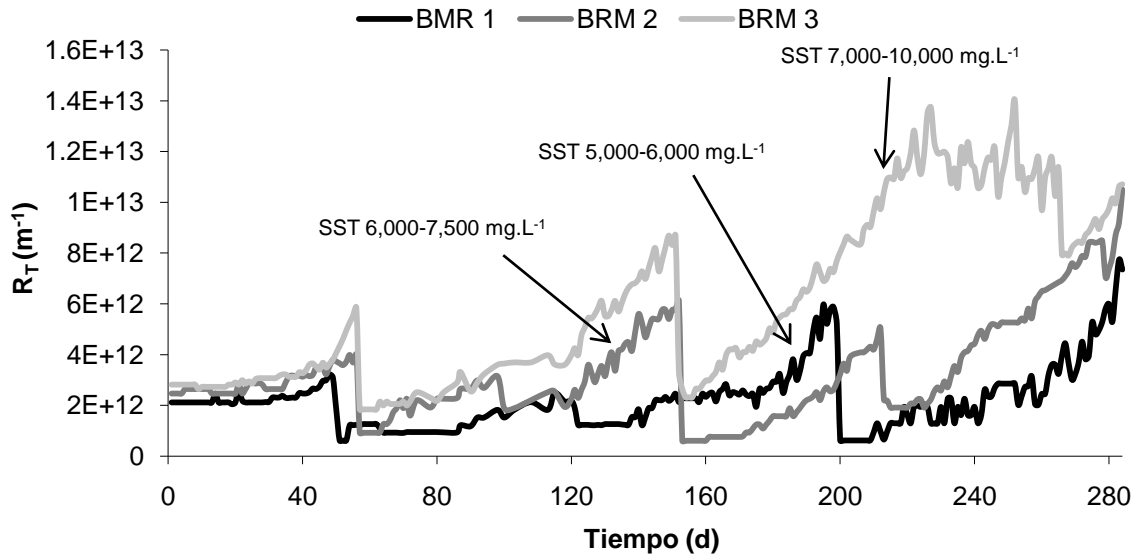


Figura 4.63. Evolución de las resistencias en los reactores

Se ha reportado que con altos TRC, la PTM aumenta, pero el flux permanece constante generándose bajas tasas de colmatación debido solamente a una deposición de sólidos sobre la superficie de las membranas generados por altas concentraciones de biomasa y no por la adsorción de productos microbianos solubles (PMS_s) sobre las membranas (colmatación irreversible) (Judd, 2008). Cabe mencionar que cuando se incrementa el TRH, tanto el flux como la PTM y la R_T disminuyen y la permeabilidad aumenta y viceversa.

Para mostrar este hecho, en la Figura 4.64 se muestra la relación del TRC y el TRH sobre las tasas de colmatación de las membranas $dPTM/dt$ obtenidas en este trabajo. Se observa que para un TRH de 7 h con diferentes TRC las tasas de colmatación son altas con valores entre 0.330 y 1.833 $kPa \cdot d^{-1}$ en relación con TRH de 12 h las cuales se encontraron por debajo de 0.180 $kPa \cdot d^{-1}$. Se observa que para un TRH de 7 h, al incrementarse el TRC de 35 a 95 d, las tasas tienden a disminuir pasando de 1.833 a 0.330 $kPa \cdot d^{-1}$. Asimismo, para un TRH de 12 h, cuando se aumentan los TRC la tasa de colmatación disminuye de 0.180 a 0.11 $kPa \cdot d^{-1}$ para un TRC de 60 d. La tasa de colmatación para un TRC de 75 y 95 d fueron similares respecto un TRC de 60 d.

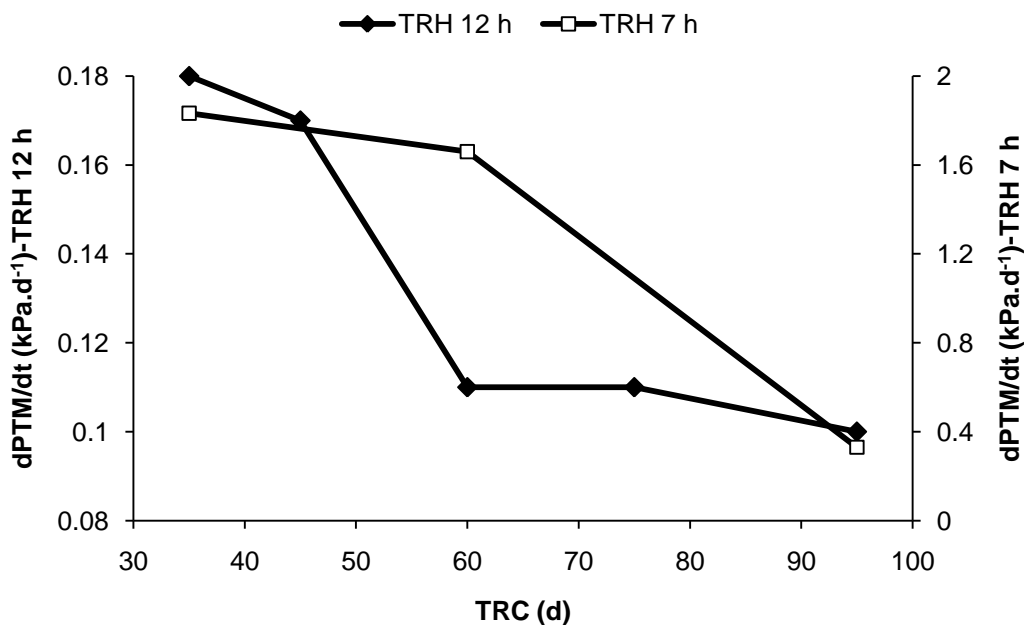


Figura 4.64. Evolución de la tasa de colmatación de las membranas con diferentes condiciones de operación

El comportamiento de las tasas de colmatación con diferentes condiciones de operación indicaron que el TRC y TRH sí influyen sobre el taponamiento de las membranas. Cuando se incrementaron los TRC y los TRH se redujeron las velocidades de ensuciamiento de las membranas, viéndose más afectadas para TRH de 7 h con TRC menores a 60 d.

Se ha reportado que TRH bajos ($TRH < 10$ h) influye más sobre la colmatación de las membranas, debido a una mayor presencia de sustancias poliméricas extracelulares (SPEs) en el sistema y a una rápida deposición de lodos sobre la superficie de las membranas producto de un crecimiento de la biomasa (Meng *et al.*, 2009; Chae *et al.*, 2006; Cho *et al.*, 2005a). La formación de SPEs están relacionadas con un aumento en el crecimiento de los microorganismos y son producidos en proporción con la utilización del sustrato (Laspidou y Rittmann, 2002). De esta manera, con cortos TRH se incrementan las cargas orgánicas y las relaciones F/M, la cual puede inducir la generación de SPEs. Se sabe que los procesos biológicos operados con cortos TRH existe una mayor disponibilidad de sustrato y nutrientes permitiendo que los microorganismos disponga de esta fuente de carbono y nutrientes incrementándose de esta manera la concentración de la biomasa. Se ha visto, que al aumentar el TRH en un BRM se disminuyen estos fenómenos (Jiang *et al.*, 2008; Judd, 2008). Se ha reportado que la colmatación de las membranas se puede reducir con TRH altos ($TRH > 12$ h) (Jiang *et al.*, 2008). Desde el punto de vista sobre el control de la colmatación de las membranas y los aspectos económicos, el TRH no debe ser muy alto. Se ha considerado que operando con TRH de 12 h, puede ser un valor adecuado para la

operación de los BRM (Tay *et al.*, 2003). En este trabajo, las mejores condiciones de operación en la remoción de los estrógenos fue para un TRH de 12 h, por lo que se comprueba esta hipótesis.

Por otro lado, varios autores reportan que la colmatación de las membranas es atribuido también por las variaciones en los tiempos de retención celular. Cuando se incrementan los TRC en un BRM se incrementan los productos microbianos solubles (PMSs) o SPEs solubles producidos por la lisis celular principalmente, generando una posible colmatación de las membranas. Sin embargo, estos PMSs tienden a ser altamente activos y por lo tanto son tomados como sustrato por los microorganismos con la finalidad de mantener una población de microorganismos constante después de que el material orgánico (DQO) disponible dentro del reactores se ha agotado, disminuyéndose de esta manera la cantidad de PMS en el reactor. Se ha reportado que los PMS disminuyen cuando se incrementan los TRC (Masse *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2003) y aumentan cuando los TRC son disminuidos (Judd, 2008; Drews *et al.*, 2007; Trussell *et al.*, 2007; Cho *et al.*, 2005b). Asimismo, los PMSs son removidos con la presencia de nitratos en los reactores (Drews *et al.*, 2007). Cuando los BRM son operados con cortos TRC (< 20 d) existe un incremento y acumulación de los PMS (Liang *et al.*, 2007; Rosenberger *et al.* 2006). Los PMSs han sido recientemente reconocidos como uno de los principales agentes que provocan la colmatación en las membranas en los BRM (Meng *et al.*, 2009). Así, se ha reportado que la colmatación de las membranas se reducen cuando los reactores son operados con altos TRC (Ahmed *et al.*, 2007). De acuerdo a Meng *et al.* (2009), los mejores TRC en donde se pueden generar una menor colmatación de las membranas se encuentran con TRC entre 20 y 60 d. En el presente estudio, las condiciones en donde se determinaron las máximas remociones de E1, E2 y EE2 fue para un TRC de 60 d.

También, cuando se incrementa el TRC existe un aumento en la concentración de los SSV. Por lo tanto, se ha concluido que la colmatación de las membranas operados con altos TRC en los BRM no puede ser atribuidos a ninguno de los componentes que se encuentran en la biomasa (PMSs o SPEs solubles principalmente), sino que la intesidad de la colmatación de las membranas se ve influenciado más por una acumulación sucesiva de material colmatante sobre la superficie de las membranas y viscosidad del lodo generandos por las concentraciones altas de biomasa (Judd, 2008; Drews *et al.*, 2007; Han *et al.*, 2005;.Lee *et al.*, 2003).

Los resultados obtenidos en esta trabajo sugieron que las colmataciones de las biomasa fueron influenciados principalmente por las concentraciones de las biomasa y no por la acumulación y/o formación de PMSs o SPEs solubles excepto para la aclimatación de las biomasa (Fase 1).

Cuando se extrajeron los módulos de membranas para realizar las limpiezas químicas de las membranas se observó una acumulación y deposición de sólidos en las superficies de las membranas (Figura 4.65). Debido a esta formación de sólidos se incrementó la resistencia de la membrana y disminuyó la permeabilidad, por lo tanto, existió una ligera disminución del flux y un incremento de la PTM en todas las fases

experimentales. Los parámetros tales como el flux y la PTM no influyeron en ningún momento sobre la remoción del E1, E2 y EE2. Resultados similares son reportados por Chang *et al.* (2006).

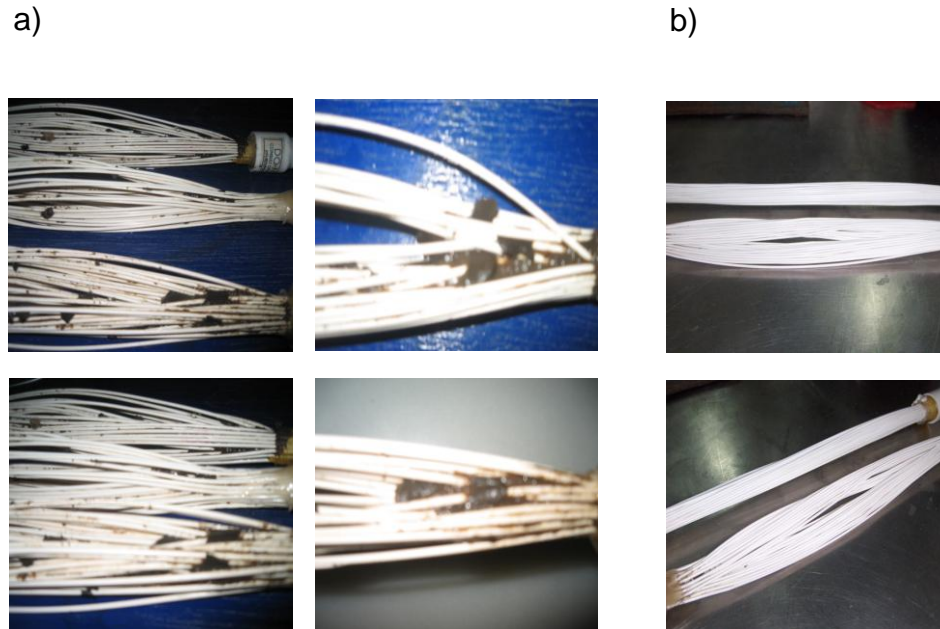


Figura 4.65. a) Acumulación de sólidos en la superficie de las membranas de ultrafiltración; b) membranas después del baño químico

4.2.2.2.6.5. Turbiedad en los permeados de los BRM

Los SST y la turbiedad en el permeado de los reactores son parámetros que nos pueden informar de forma indirecta sobre el funcionamiento del módulo de las membranas ya que indican si existe una fuga o daño en las membranas. Los resultados mostraron que los módulos de ultrafiltración trabajaron con un alto desempeño ya que, como se pueden observar en la Figura 4.66, la turbiedad en los permeados permaneció entre 0 y 1 unidades NTU. La concentración de los SST en los efluentes fue por debajo de 3 mg.L⁻¹.

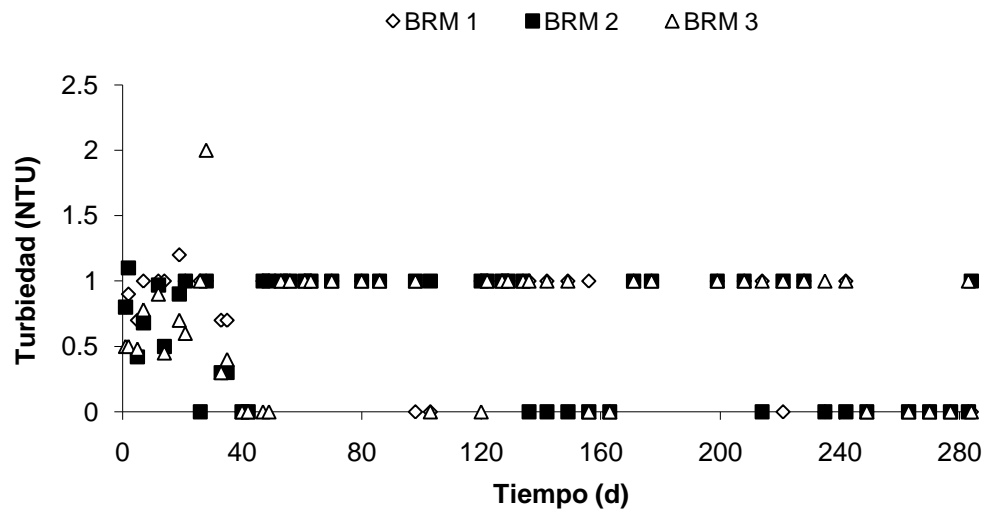


Figura 4.66. Comportamiento de la turbiedad en los permeados de los BRM

4.2.3. Bio-reactor con membranas a nivel piloto para el tratamiento de un agua residual municipal real

4.2.3.1. Arranque y operación del bio-reactor con membranas

Para el arranque del sistema, se realizó una prueba preliminar para la determinación de las condiciones sub-críticas, la cual se detalla en el capítulo 3. Se determinó que con un flux menor a $46 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, la velocidad de taponamiento es lenta con PTM por debajo de 30 kPa. De acuerdo a estos valores, se seleccionaron los parámetros de operación del proceso aplicando cuatro tiempos de residencia hidráulica de 7, 9, 10 y 12 h con TRC de 34, 46, 60 y 88 d. El reactor operó en modo continuo durante 476 días.

4.2.3.2. Agua residual municipal

El agua residual que se utilizó para la alimentación del bio-reactor fue de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México, en dos puntos de muestreo: Emisor Central y Gran Canal del Desagüe. Se seleccionó esta zona ya que allí se descarga la gran parte de las aguas residuales generadas en la Ciudad de México.

El Valle de México tiene una población cercana a los 20 millones de habitantes, con una cobertura de $1,450 \text{ km}^2$. Todas las aguas residuales domésticas, municipales, industriales y de escurrimientos pluviales de esta área se mezclan y son conectadas a tres salidas artificiales del Valle: los túneles del Gran Canal del Desagüe, Interceptor del Poniente y el Emisor Central, las cuales desalojan las aguas que capta el sistema de Drenaje Profundo de 165 km de longitud. Actualmente, la red de drenaje de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México recibe un promedio de $43 \text{ m}^3/\text{s}$ de aguas residuales (CONAGUA, 2006). En la Figura 4.67 se muestran los puntos de muestreos seleccionados.

Por mencionar, el Valle de Mezquital, dentro de la Cuenca del Río Tula, es un valle con suelos salinos que hacían muy difícil su desarrollo agrícola. Este valle actualmente recibe las aguas residuales de los tres túneles de captación mencionados anteriormente. El riego con las aguas residuales de la Ciudad de México propició la formación de suelos aptos para la agricultura, siendo posible observar hoy estratos de suelo fértil.

La superficie actualmente bajo cultivo es de más de 100,000 ha, de las cuales 84,500 ha se riegan con aguas residuales y dan empleo y sustento a más de 66 mil familias de mexicanos, incluyendo zonas con alta presencia de población indígena.

Las aguas residuales que se emplean en riego agrícola no reciben ningún tipo de tratamiento, lo que representa un riesgo sanitario y un riesgo potencial de contaminación ambiental.



Figura 4.67. Localización de puntos de muestreo del agua residual municipal

4.2.3.2.1. Muestreo y caracterización del agua residual municipal

Primeramente se seleccionó el punto de muestreo del Emisor Central (sálida), de donde se tomaron aproximadamente 10 m³ de agua residual cada 20 días. El reactor fue alimentado con esta agua durante 109 días. Entre los meses de Noviembre y Febrero el reactor fue alimentado con agua residual proveniente del Gran Canal. La caracterización fisicoquímica del agua residual y la detección de los estrógenos se realizó en muestras simples (por triplicado) de los muestreos realizados entre los meses de Julio y Octubre con un total de muestreos de 10. En todos los muestreos, las muestras de agua residual fueron almacenadas en frascos de vidrio de ambar de 1 L, las cuales fueron acondicionadas con metanol (2% v/v) a pH de 3 con ácido sulfúrico (98%). Las muestras fueron almacenadas a 4°C. Posteriormente, las muestras fueron transportadas hacia el laboratorio para su análisis al siguiente día. Los parámetros fisicoquímicos y la detección de los estrógenos se presentan en las Tablas 4.24, 4.25 y Figura 4.68. La variación del agua residual entre un muestro y otro fue diferente presentándose una carga baja de materia orgánica y nitrógeno amoniacal en el Emisor

Central debido a la temporada de lluvias (Julio-Octubre) cuando se presentaba una dilución del agua residual. En el agua residual del Emisor Central, los compuestos E1 y E2 fueron detectados con concentraciones entre 14 y 54 ng.L⁻¹ y entre 12 y 27 ng.L⁻¹ respectivamente. El EE2 fue detectado con concentraciones menores a 8 ng.L⁻¹ y hasta por debajo del límite de detección. En el agua residual del Gran Canal el E1, E2 y EE2 fueron encontrados con concentraciones entre 4 y 93 ng.L⁻¹. Se puede notar que las concentraciones de los estrógenos en el agua residual del Gran Canal fueron más altas que las determinadas en el Emisor Central.

Tabla 4.24. Características fisicoquímicas del agua residual Emisor Central

Parámetro	21-jul-08	13-ago-08	3-sep-08	9-oct-08	30-oct-08
DQO _T (mg.L ⁻¹)	144	123	193	132	390
N-NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	20	15	21	25	36
N-NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)	-	-	-	-	-
N-NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)	-	-	-	-	-
Fosforo total (mg.L ⁻¹)	15	21,9	14,7	18	21
SST (mg.L ⁻¹)	-	-	-	-	-
SSV (mg.L ⁻¹)	-	-	-	-	-
pH	7.5	7.3	7.7	7.4	7.5
Color (Pt-Co)	326	985	845	287	2,940
Turbiedad (NTU)	28	42	70	19	286
Conductividad eléctrica (mS.cm ⁻¹)	-	-	-	-	-

Tabla 4.25. Características fisicoquímicas del agua residual del Gran Canal

Parámetro	27-Nov-08	23-Dic-08	09-Ene-09	05-Feb-09	19-Feb-09
DQO _T (mg.L ⁻¹)	410	450	314	520	550
N-NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	64	57	60	50	41
NTK (mg.L ⁻¹)	-	-	46	49	55
N-NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)	-	0	0.05	0.1	0.5
N-NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)	-	1	0.4	0.8	0.2
Fosforo total (mg.L ⁻¹)	49	12	32	-	-
SST (mg.L ⁻¹)	27	176	72	230	250
SSV (mg.L ⁻¹)	16	124	64	189	170
pH	7.2	7.8	7.5	7.3	7.6
Color (Pt-Co)	1,790	1,170	1,105	3,570	2,390
Turbiedad (NTU)	132	118	143	560	152
Conductividad eléctrica (mS.cm ⁻¹)	1,521	1,500	1,456	1,471	1,478

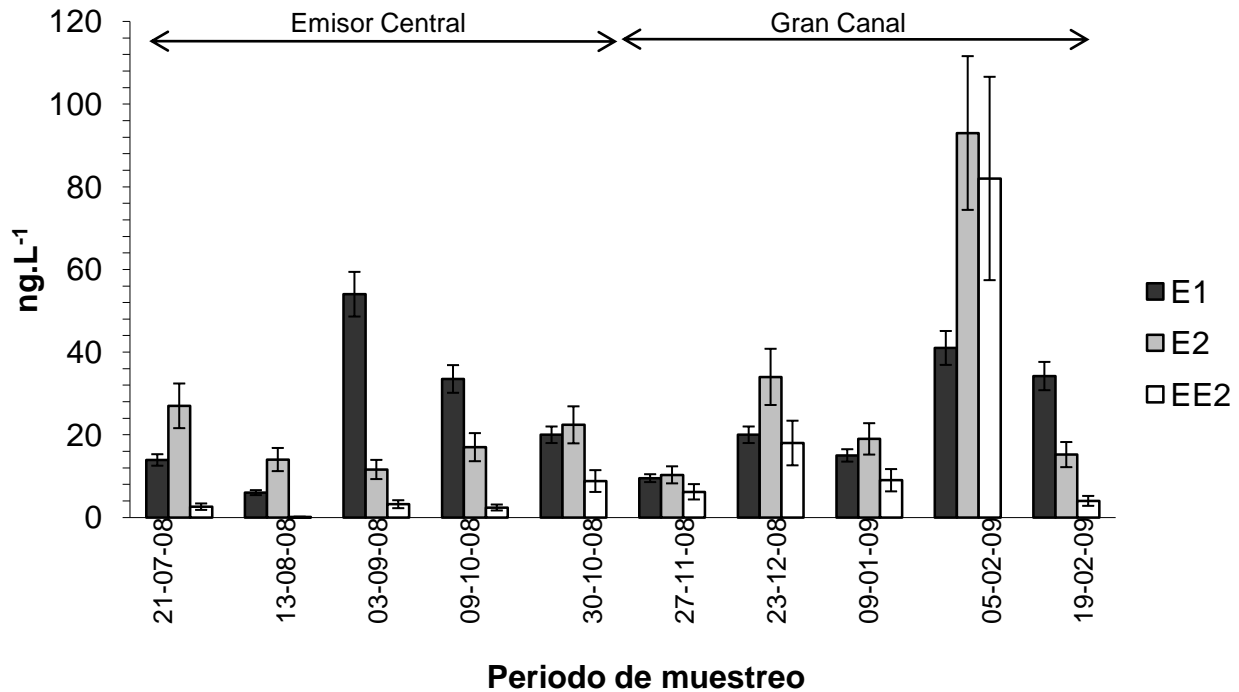


Figura 4.68. Detección de estrógenos encontrados en el agua residual provenientes del Emisor Central y Gran Canal

En la Tabla 4.26, se muestran concentraciones de estrógenos encontrados en aguas residuales crudas en algunos países. Se observa que las concentraciones de los estrógenos encontradas en las aguas residuales de la Cd. de México están dentro del rango reportado para otros países e incluso México. Las variaciones de las concentraciones de los estrógenos entre uno y otros países pueden radicar en muchos factores tales como el tipo de muestreo realizado (muestra simple o compuesta), factor de dilución, densidad de población, método analítico por mencionar otros.

Tabla 4.26. Concentraciones de E1, E2 y EE2 en aguas residuales crudas

Compuesto (ng.L ⁻¹)			País	Referencia
E1	E2	EE2		
30	22	-	Singapore	Hu <i>et al.</i> (2007)
-	19 - 26	-	Taiwán	Chia-Yang <i>et al.</i> (2007)
5 - 66	-	1- 24	Japón	Hashimoto <i>et al.</i> (2007)
73	20	<LDD	México	Gibson <i>et al.</i> (2007)
29 - 670	35 - 125	3 - 70	Austria	Clara <i>et al.</i> (2005)
7- 75	5 - 11	0.7 - 5	Suecia	Joss <i>et al.</i> (2004)
55- 76.6	12 - 20	6 – 10	Alemania	Andersen <i>et al.</i> (2003)
40	21	7	Brasil	Ternes <i>et al.</i> (1999)
9- 34	10- 93	< LDD - 82	México	Este estudio

4.2.3.3. Evaluación del BRM piloto sobre la remoción de E1, E2 y EE2 presentes en el agua residual municipal

Se observó que las concentraciones de los compuestos en el influente al reactor no fueron iguales a las concentraciones detectadas en los muestreos realizados (Tabla 4.27). Las concentraciones de E2 determinados en el influente del reactor en toda la fase experimental fueron menores a las concentraciones detectadas en los muestreos de las aguas residuales, obteniéndose remociones de este compuesto entre el 11 y 24%. Sin embargo, para el E1 y EE2 no se observó este mismo efecto, ya que las concentraciones determinadas en el influente del reactor fueron mayores a las cuantificadas en los muestreos. Esta conducta puede ser debido a varias razones: error en la determinación analítica de los compuestos, biodegradación y/o desconjugación de los compuestos inactivos. Las dos últimas razones pueden estar relacionadas a que durante el periodo de almacenamiento del agua residual (tanque de alimentación) existen procesos de degradación anaerobia, lo que puede dar origen a posibles biodegradaciones de los compuestos, obteniéndose ciertas variaciones en sus concentraciones. Hay que recordar que estos compuestos son liberados mayormente en una forma biológica inactiva como conjugaciones de sulfatos y glucuronidas. Una cantidad de estas conjugaciones son biotransformadas o desconjugadas a su forma activa mediante la acción de microorganismos que se encuentran de manera natural en el agua residual durante su transporte en el sistema de alcantarillado, sin embargo, ciertas cantidades de estos compuestos en su forma inactivas quedan latentes a su posterior biodegradación. Joss *et al.* (2004) han reportado que el E2 puede ser removido en condiciones anaerobias y el E1 y EE2 resultan ser recalcitrante bajo estas

condiciones. De acuerdo a esto, la disminución del E2 pudo ser debida a una biodegradación y el aumento del E1 y EE2 pudo estar más relacionado a la biotransformación de sus formas conjugadas.

Tabla 4.27. Variación de las concentraciones de estrógenos en los muestreos y en el influente de BRM piloto

	Emisor Central			Gran Canal		
	E1	E2	EE2	E1	E2	EE2
Muestreo (ng.L⁻¹)	25 ±19	19 ±6	4 ±3	24 ±13	34 ±34	24 ±33
Influente BRM (mg.L⁻¹)	29 ±21	17 ±4	9 ±9	31 ±29	26 ±24	27 ±31
Remoción (%)	-16 ± 11	11± 33	-125 ± 200	-29 ± 123	24± 29	-13 ± 6

Las concentraciones de E1 en el influente del reactor en toda la fase experimental variaron entre 1 y 70 ng.L⁻¹, para el E2 entre 2 y 50 ng.L⁻¹ y para el EE2 menores al límite de detección y 60 ng.L⁻¹.

4.2.3.3.1. Influencia del TRC y TRH sobre la remoción de los estrógenos

En la Figura 4.69 se muestran las remociones de E1, E2 y EE2 con los 4 TRC estudiados. Las mayores remociones de E1, E2 y EE2 obtenidas para estas condiciones fueron con TRC entre 46 y 60 d con remociones de los tres compuestos por arriba del 95%. Con un TRC 88 días las remociones de los tres estrógenos fueron disminuidas pasando del 100% hasta porcentajes del 87%. El mismo comportamiento fue observado para un TRC de 35 d, en donde se obtuvieron hasta un 67% de remoción para el E1. Se muestra que el compuesto que no presentó variaciones considerables en su remoción bajo diferentes TRC fue el E2, mismas que fueron observadas en los BRM experimentales a nivel laboratorio. Este hecho, indica que el compuesto más fácil de remover en un bio-reactor con membranas es el estradiol. Como se mencionó en las conclusiones de los resultados presentados en los BRM a nivel laboratorio que cuando estos son operados con TRC por arriba de 70 d y por debajo de 45 d se reduce la remoción de los estrógenos, resultados similares fueron obtenidos en el BRM piloto alimentado con un agua residual real.

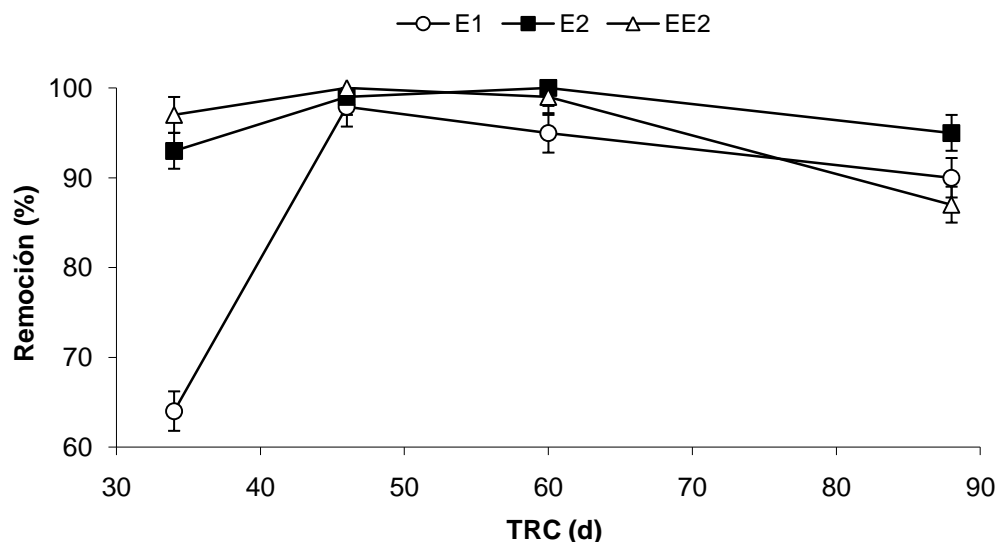


Figura 4.69. Remoción de estrógenos operados con diferentes TRC en el BRM piloto

Por otro lado, en la Figura 4.70 se presentan las remociones de los estrógenos obtenidas con TRH de 7, 9, 10 y 12 h manteniéndose un TRC de 60 d constante. Se observa que para un TRH de 7 h, las remociones de E1, E2 y EE2 fueron entre un 87 y 98%. Para TRH mayores de 7 h, las remociones de los tres estrógenos tienden a incrementarse por arriba del 96% alcanzando valores hasta un 100%. La variación del TRH si afectó la eliminación de los compuestos especialmente para el E1. Para el E2, el aumento del TRH no afectó su eliminación, determinándose remociones por arriba del 98% bajo estas condiciones. Asimismo, en la Figura 4.71 se presentan las concentraciones de los compuestos en el efluente del reactor con estas mismas condiciones de operación. Para un TRH de 7 h, las concentraciones de E1 y EE2 en el efluente del reactor piloto fueron de 3 y 2.3 ng.L^{-1} respectivamente. Estas concentraciones se consideran altas, las cuales posiblemente puedan causar disrupción endocrina en los organismos vivos (Palace *et al.*, 2006; Thorpe *et al.*, 2003; Larsson *et al.*, 1999; Ternes *et al.*, 1999b; Stumpf *et al.*, 1996). Mientras que para el E2 se observó que la concentración se mantuvo por debajo de 0.5 ng.L^{-1} . Este comportamiento en las concentraciones de los estrógenos en el efluente del reactor esta correlacionado con las remociones obtenidas para un TRH de 7 h. Con el aumento del TRH, las concentraciones de los tres estrógenos fueron menores a 1 ng.L^{-1} , indicando también de esta manera que con TRH superiores a 7 h se pueden obtener eliminaciones considerablemente altas con una concentración baja de E1, E2 y EE2 en el efluente del reactor piloto. Similares resultados fueron obtenidos en los BRM a nivel laboratorio.

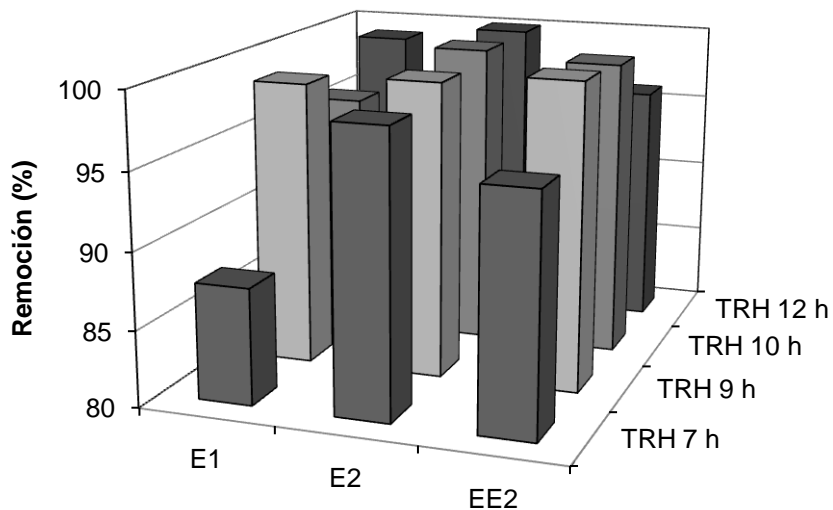


Figura 4.70. Remociones de estrógenos con diferentes TRH en el BRM piloto

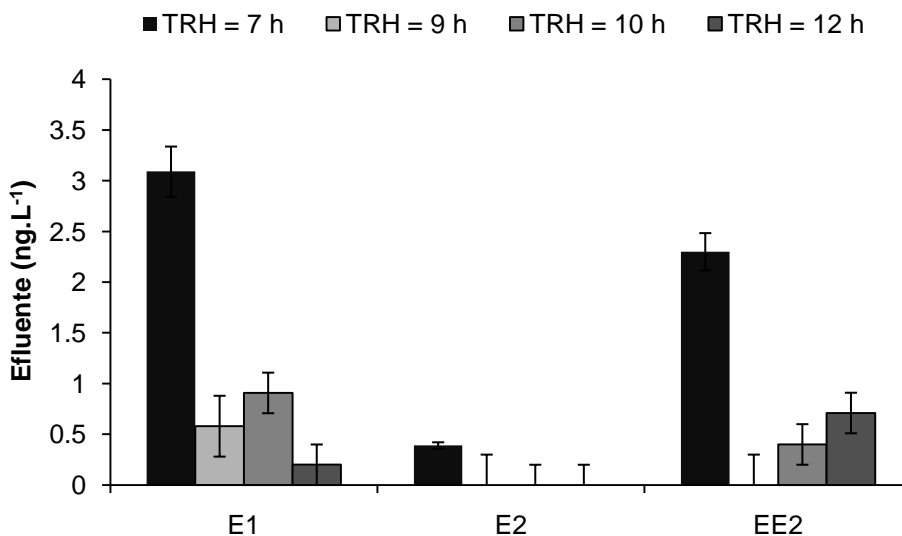


Figura 4.71. Concentraciones de lo estrógenos con diferentes TRH en el efluente del BRM piloto

De los resultados obtenidos en los BRM a nivel laboratorio y del BRM piloto operados con diferentes condiciones de operación, se pueden recomendar que trabajando con TRC entre 45 y 60 d y con TRH entre 9 y 12 h en bio-reactores con membranas

sumergidas se pueden alcanzar muy altas remociones de los estrógenos que están presentes en los influentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales asegurándose concentraciones de E1, E2 y EE2 en los efluentes menores a 1 ng.L^{-1} , disminuyéndose posiblemente el efecto disruptivo que presentan estos compuestos sobre los organismos vivos que viven en los cuerpos receptores que reciben estas descargas.

Se ha reportado que mediante la tecnología de bio-reactores con membranas que utilizan principalmente módulos de membranas de microfiltración y ultrafiltración no es posible remover remover contaminantes disueltos con pesos moleculares menores a $1,000 \text{ g.mol}^{-1}$.

Sin embargo, parece ser que partículas, tales como coloides, material particulado y materia orgánica natural que se encuentran de forma natural en las aguas residuales, tienen la capacidad para adsorber contaminantes, las cuales pueden significativamente incrementar el potencial de la MF y UF para remover contaminantes trazas tales como el E2 (Shafer *et al.*, 2002; Cho *et al.*, 2000). Junto con esto y la concentración de biomasa dentro del BRM generan un obstrucción de los poros de las membranas reduciendo su tamaño, haciendo que las membranas funjan como una barrera física para los estrógenos, impidiendo el paso de estos a través de las membranas. En los sistemas biológicos convencionales, tales como los lodos activados en sus diferentes modificaciones y/o otros procesos biológicos para el tratamiento de aguas residuales, estas partículas se escapan y están presentes en sus efluentes. Los compuestos adsorbidos en estas partículas pueden desorberse hacia la fase líquida, generando la presencia de compuestos disruptores endocrinos en los efluentes de los procesos biológicos.

Holbrook (2003), investigó la influencia que presenta el material coloidal y particulado en la eliminación y transporte del compuestos disruptores endocrinos durante el tratamiento de aguas residuales. Los resultados de este estudio revelaron que existe una fuerte interacción entre el E2 y EE2 con el material disuelto presente en las aguas residuales sugiriendo que el transporte coloidal puede ser una ruta de eliminación de los estrógenos.

4.2.3.3.2. El proceso de nitrificación en la remoción de los estrógenos

Como en los reactores a nivel laboratorio, se evaluó el proceso de nitrificación con relación a la remoción del E1, E2 y EE2 en la operación del reactor piloto.

En la Figura 4.72 se muestra la evolución del nitrógeno amoniacal en el influente y efluente del bio-reactor. La concentración promedio del N-NH_4^+ en el influente del bio-reactor fue $24 \pm 5 \text{ mg.L}^{-1}$ cuando el agua provenía del Emisor Central (día 1-109). A partir del día 110, el reactor fue alimentado con agua residual proveniente del Gran Canal con concentraciones promedios de N-NH_4^+ de $42 \pm 3 \text{ mg.L}^{-1}$. El reactor fue capaz de remover el N-NH_4^+ por arriba del $97 \pm 3\%$ con una concentración promedio el efluente

de $0.9 \pm 0.6 \text{ mg.L}^{-1}$ durante toda la experimentación. Se observa que durante los primeros 10 días la formación de N-NO_2^- y N-NO_3^- fue baja ($< 4 \text{ mg.L}^{-1}$) y la remoción de N-NH_4^+ fue menor al 90%. A partir del día 15 se incrementó la remoción del amoníaco y se aumentó la formación de N-NO_3^- lo cual indicó que mejoró el proceso de nitrificación. De esto se puede deducir que con el tiempo en el licor mezclado se desarrollaron bacterias nitrificantes. Durante esta etapa, la concentración de oxígeno se mantuvo ligeramente por arriba de los 3 mg.L^{-1} y el pH dentro del reactor osciló entre 7.2 y 7.8. A pesar de que se generó una nitrificación en el reactor, no se presentó una acidificación del proceso, esto debió a que posiblemente las características del agua amortiguó el pH en el proceso de nitrificación.

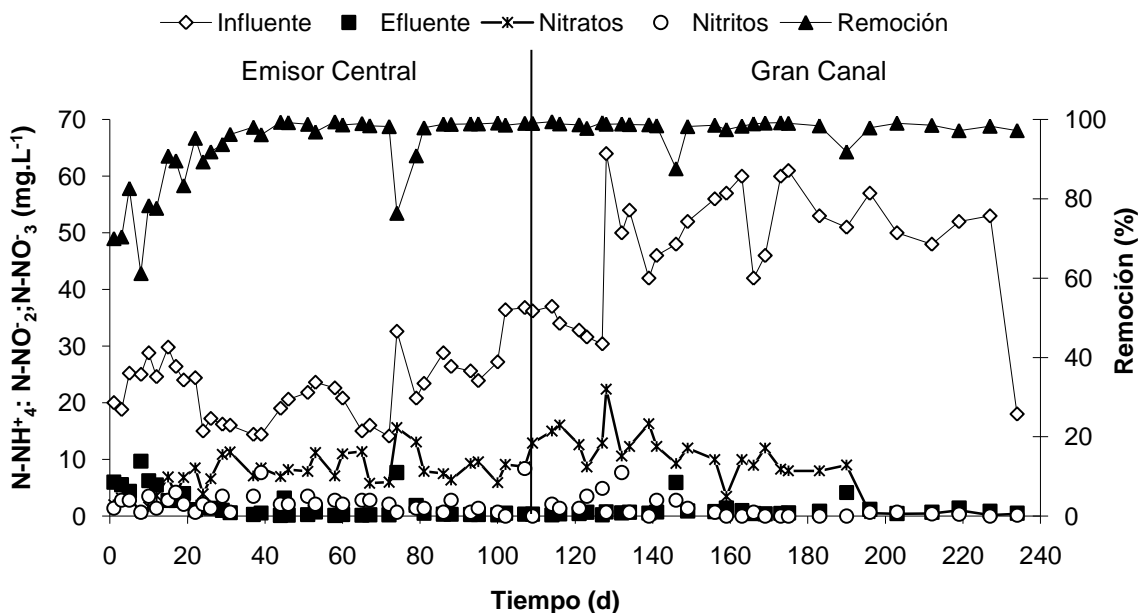


Figura 4.72. Evolución del N-NH_4^+ y formación de N-NO_2^- y N-NO_3^- en el BRM.

Cuando se aumentó la concentración de N-NH_4^+ a partir del día 110 generado por las características del agua residual del Gran Canal, la concentración del oxígeno disuelto bajó, pasando de 3 a 0.9 mg.L^{-1} . Esto se debe a que cuando aumenta la concentración de N-NH_4^+ el consumo de oxígeno es mayor. De acuerdo con la estequiometría del proceso de nitrificación indica que por cada gramo de N-NH_4^+ oxidado es requerido 4.57 g O_2 (Metcalf y Eddy, 2003). La remoción del nitrógeno amoniacal se incrementó por arriba del 98% con el aumento en la concentración del N-NH_4^+ en el influente del reactor.

En la Tabla 4.28 se presenta el balance del nitrógeno en el reactor piloto. En los primeros 109 días de operación, la diferencia entre el nitrógeno total en el efluente e

influyente (ΔN) no fue grande y gran parte del $N-NH_4^+$ fue consumida por la biomasa aerobia autótrofa para sus requerimientos de crecimiento. En el balance se observa que la remoción del nitrógeno total en los tres primeros 110 días fue de 7-20%, indicando solo un proceso de nitrificación. Sin embargo, se observó que a partir del día 110 hasta el día 234, una diferencia grande de ΔN generándose una disminución del nitrógeno total en el efluente producto del consumo de $N-NO_3^-$ y $N-NO_2^-$ dentro del BRM piloto. Para comprobar estas pérdidas del nitrógeno, se tomó la decisión de determinar el nitrógeno total (N_T) en la entrada y salida del reactor a partir del nitrógeno total Kjendahl (NTK). Mediante un balance de masas producto del análisis del nitrógeno total Kjendahl, $N-NH_4^+$ y $N-NO_2^-$ más $N-NO_3^-$ fue determinado el N_T . Los análisis de NTK se realizaron a partir del día 184 hasta el final de la experimentación. La concentración promedio de N_T en el influente y efluente del bio-reactor fue 46.8 ± 23 y 2.7 ± 1.9 $mg.L^{-1}$ respectivamente. De acuerdo a estos valores durante los últimos 125 días de operación, se presentaron condiciones de nitrificación-desnitrificación, producto de la alta carga de nitrógeno amoniacal, dando como resultado un abatimiento del oxígeno disuelto en el reactor, generando condiciones anóxicas y por lo tanto una disminución en la concentración de $N-NO_2^- + N-NO_3^-$ en el efluente del reactor. De esta manera, la remoción del N_T aumentó hasta un 95%.

Tabla 4.28. Balance de nitrógeno en la operación del BRM piloto

Días de operación	Influente $N-NH_4^+$ ($mg.L^{-1}$)	Efluente $N-NH_4^+$ ($mg.L^{-1}$)	NTK Influyente ($mg.L^{-1}$)	NTK Efluente ($mg.L^{-1}$)	Influente $N-NO_2^- + N-NO_3^-$ ($mg.L^{-1}$)	Efluente $N-NO_2^- + N-NO_3^-$ ($mg.L^{-1}$)	N_T Influyente ($mg.L^{-1}$)	N_T Efluente ($mg.L^{-1}$)	ΔN ($mg N_T.L^{-1}$)
1-44	21	3	-	-	0.2	9.3	21.2	12.3	-8.9
45-86	22	1	-	-	0.1	17	22.1	18	-4.1
87-109	30.3	0.3	-	-	0.1	28	30.4	28.3	-2.1
110-141	43	0.5	-	-	0.4	18	43.4	18.5	-24.9
142-183	43	1	-	-	0	9	43	10	-33
184-234	39.8	1	60.7	2.3	0.5	0.6	61.2	2.9	-58.3

Para el cálculo del N_T en los primeros 110 días de operación fue en base a la concentración del $N-NH_4^+$ y $N-NO_2^-$ más $N-NO_3^-$ en el influente y efluente del reactor.

Por otro lado, en la Figura 4.73 se muestra la correlación entre las cargas de $N-NH_4^+$ aplicadas y las tasas de remoción en el BRM. La máxima carga $N-NH_4^+$ aplicada fue de 0.13 $kg N-NH_4^+.m^{-3}.d^{-1}$. El sistema mostró un excelente desempeño ya que las eficiencias de remoción promedios del $N-NH_4^+$ fueron del $97 \pm 3\%$.

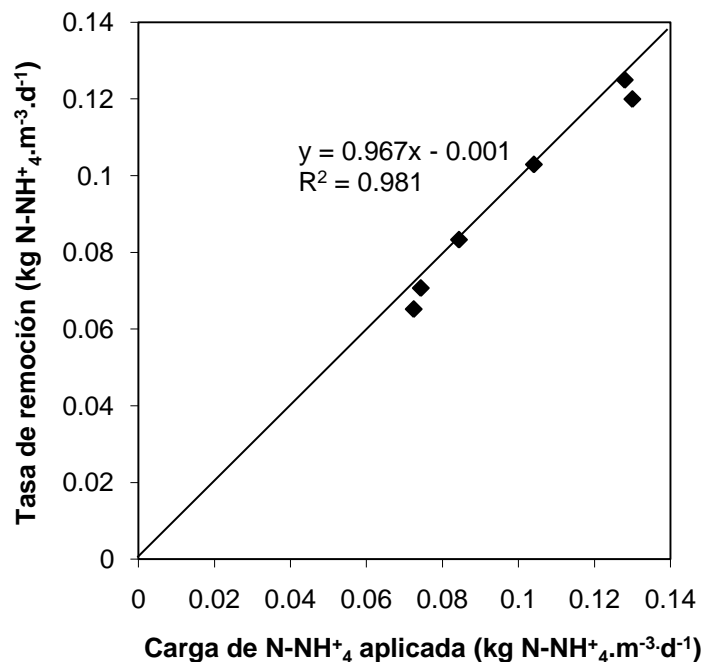


Figura 4.73. Cargas de N-NH₄⁺ aplicada y removida en el tratamiento del agua residual

En la Figura 4.74 se muestra el comportamiento de las remociones de los compuestos E1, E2 y EE2, así como la concentración de N-NO₃⁻ durante todo el periodo experimental. Se observa que durante los primeros 44 días, las remociones de los estrógenos oscilaron entre un 15 y 90% con concentraciones en los efluentes entre 0.1 y 13 ng.L⁻¹. Este comportamiento estuvo asociado con una baja remoción de materia orgánica y una baja producción de N-NO₃⁻ con una tasa de formación de nitratos de 7 mg N-NO₃⁻.g SSV⁻¹.d⁻¹. Durante esta etapa, la remoción promedio del E1 fue de 70 ± 27.4% y las de E2 y EE2 fueron 89.2 ± 14.4% y 83.1 ± 37.7%. Conforme se incrementaba la formación de nitratos, la remoción de E1, E2 y EE2 aumentó. A partir del día 45 hasta el 109, la formación de nitratos aumentó y las concentraciones de N-NH₄⁺ en el efluente del reactor fueron debajo de 1 mg.L⁻¹. Las remociones de los estrógenos se incrementaron por arriba del 86%. Este comportamiento fue producto de un incremento en la actividad de nitrificación y posiblemente a la formación de bacterias nitrificantes. La formación de nitratos fue disminuyendo a partir del día 120 y hasta el final de la experimentación debido a un proceso de nitrificación-desnitrificación como se demostró anteriormente. La remoción de los estrógenos no se vio afectada por este proceso, determinándose remociones para el E1 y EE2 de 99% y 100% respectivamente. Para el E2, las remociones obtenidas fueron por arriba del 99%. El aumento en la remoción de los estrógenos puede estar asociado también al aumento en los TRH y los TRC. En esta gráfica solo se muestran resultados de 234 días de operación, sin embargo, el experimento siguió continuando hasta alcanzar los estados estacionarios para cada TRC probados en el reactor. Por lo que solamente fueron

tamadas las muestras para la determinación de los tres estrógenos cuando los TRC alcanzaron su estado estacionario (2 veces el TRC).

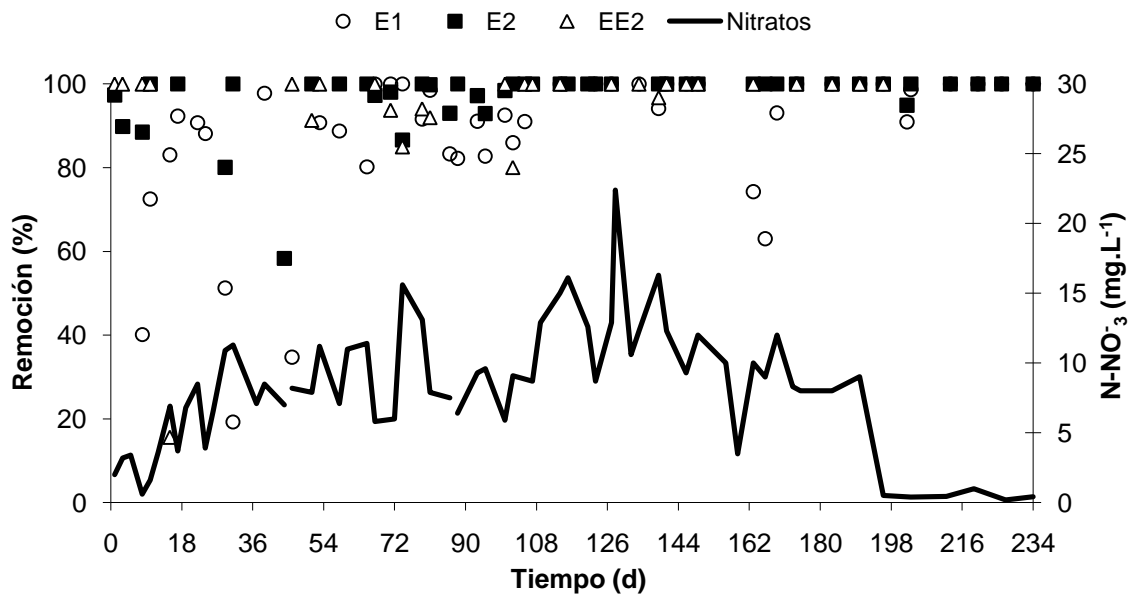


Figura 4.74. Evolución del proceso de nitrificación en la remoción de los estrógenos

En la Tabla 4.29 se resumen las tasas de formación de nitratos en diferentes días de operación. Se observa que los primeros 44 días de operación, las tasas fueron bajas de $7 \text{ mg N-NO}_3\text{-g SSV}^{-1}\text{-d}^{-1}$, sin embargo, la actividad de nitrificación aumentó a partir del día 45 con tasas mayores a $13.5 \text{ mg N-NO}_3\text{-g SSV}^{-1}\text{-d}^{-1}$. Se muestra que a partir del día 110 las tasas de nitrificación disminuyeron hasta $0.42 \text{ mg N-NO}_3\text{-g SSV}^{-1}\text{-d}^{-1}$, debido a un proceso de nitrificación-desnitrificación.

Tabla 4.29. Tasa de nitrificación específica

Días de operación	Carga aplicada ($\text{kg N-NH}_4^+\text{-m}^{-3}\text{-d}^{-1}$)	Tasa de remoción ($\text{kg N-NH}_4^+\text{-m}^{-3}\text{-d}^{-1}$)	Tasa de nitrificación específica ($\text{mg N-NO}_3\text{-g SSV}^{-1}\text{-d}^{-1}$)
1-44	0.072	0.065	7
45-86	0.074	0.07	13.5
87-109	0.1	0.1	18
110-141	0.08	0.08	5.5
142-183	0.12	0.11	3.3
184-234	0.13	0.12	0.42

En la Figura 4.75 se muestra la relación entre las tasas de formación de nitratos y las tasas específicas de remoción de los estrógenos. Los resultados obtenidos mostraron una relación completamente lineal entre la nitrificación y la remoción de E1, E2 y EE2. Se observa que para una tasa baja de nitrificación de 7 mg N-NO₃.g SSV⁻¹.d⁻¹ se generaron tasas de remoción de los compuestos entre 2.5 y 8 ng.g SSV⁻¹.d⁻¹. Cuando las tasas de nitrificación aumentaron de 7 hasta 18 mg N-NO₃.g SSV⁻¹.d⁻¹, las tasas específicas de remoción de los estrógenos se incrementaron por arriba de 9.6 ng.g SSV⁻¹.d⁻¹. Como se demostró en los sistemas a nivel laboratorio, el proceso de nitrificación está directamente influenciado en la remoción de E1, E2 y EE2. Las tasas de formación de nitratos obtenidas en el BRM piloto fueron 3 veces más altas que las determinadas en los reactores a nivel laboratorio. Este comportamiento fue debido a que la carga del N-NH₄⁺ en el influente del reactor piloto fue más alta. Sin embargo, las tasas específicas de remoción de los compuestos fueron más altas en los BRM a nivel laboratorio, esto debido a que las concentraciones de los estrógenos en el influente de los reactores fueron más altas que en el BRM piloto.

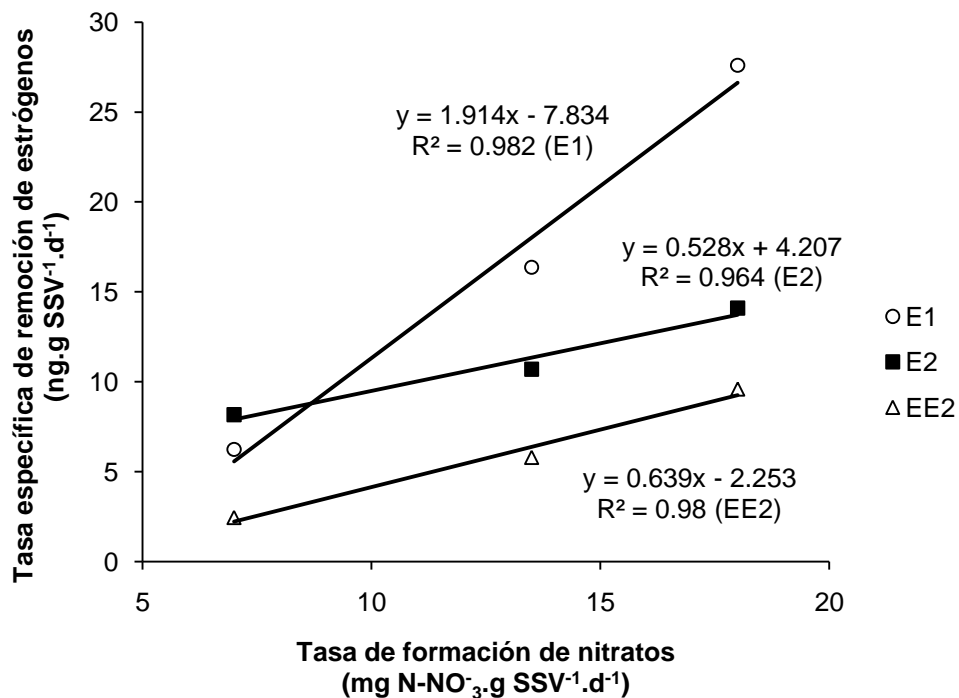


Figura 4.75. Relación entre la nitrificación y la remoción de E1, E2 y EE2

4.2.3.3.3. Concentración de estrógenos en la biomasa del BRM piloto

Durante los 234 días de operación del BRM piloto se determinaron concentraciones de los estrógenos en la biomasa activa (Figura 4.76a). Como es de esperarse, los

resultados mostraron que los estrógenos son adsorbidos en la biomasa. Se observa que las máximas concentraciones de E1, E2 y EE2 fueron encontradas los primeros 94 días de operación, las cuales estuvieron entre los límites de detección (LDD) y hasta valores de 70 ng.g^{-1} . Un menor efecto sobre la concentración de los estrógenos en la biomasa se vio reflejado en el BRM piloto comparado con los BRM a nivel laboratorio, esto debido posiblemente a las variaciones en las concentraciones de los estrógenos determinadas en las aguas residuales de la Cd. de México. A partir de este día, existió una disminución de los compuestos en la biomasa, indicando una mayor actividad de los microorganismos para degradar a los estrógenos dentro y fuera de los flóculos biológicos. Las concentraciones de E1, E2 y EE2 en la biomasa se encontraron con valores hasta por debajo del límite de detección.

Asimismo, en la Figura 4.76b se indican las tasas de biodegradación y adsorción de los compuestos determinados en cada periodo de muestreo de la biomasa. Durante los primeros 94 días se obtuvieron tasas de biodegradación entre 1 y $14 \text{ ng.g SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$ mientras que las tasas de adsorción se encontraron por debajo de $3.5 \text{ ng.g}^{-1}.\text{d}^{-1}$, indicando que los procesos de biodegradación fueron más altas que los procesos de adsorción. Este hecho, mostró que alrededor del 15% de los compuestos encontrados en la fase líquida fueron removidos por adsorción. A partir del día 94, las tasas de biodegradación se mantuvieron con valores entre 1 y $12 \text{ ng.g SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$ muy semejantes a las determinadas durante los primeros días de operación, mientras que las tasas fueron menores a $0.7 \text{ ng.g}^{-1}.\text{d}^{-1}$, indicando que el proceso de biodegradación durante los 234 días de operación fue el que prevaleció en el reactor piloto. Asimismo, se observa que las tasas de biodegradación se incrementaban o disminuían cuando las tasas de adsorción se reducían y se aumentaban. Esto demuestra que la remoción de los estrógenos en el BRM piloto fueron llevados a cabo por una combinación de procesos de biodegradación-adsorción simultánea siendo la biodegradación el principal mecanismo de remoción de los estrógenos. Resultados semejantes fueron observados en los BRM a nivel laboratorio indicando que el principal mecanismo de remoción de los tres compuestos es la biodegradación.

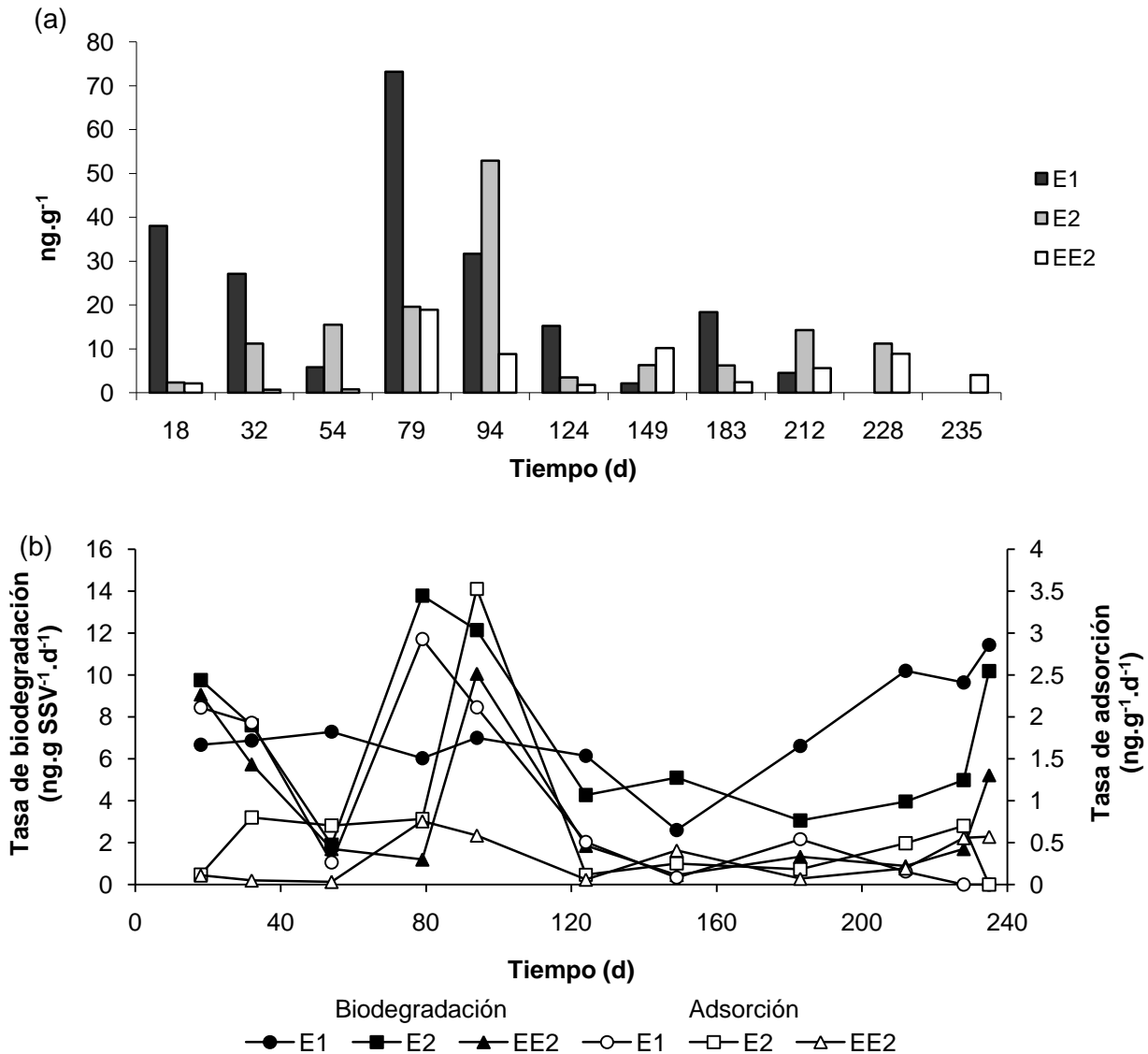


Figura 4.76. a) Detección de E1, E2 y EE2 en la biomasa del BRM piloto, b) Tasas de biodegradación y adsorción

4.2.3.3.4. Balance de masas

En la Tabla 4.30 se muestran las concentraciones de estrógenos detectadas en los sólidos presentes en el influente del reactor. Las concentraciones determinadas de E1, E2 y EE2 en los SST fueron entre 3 y 10 ng.g⁻¹, indicando de esta manera, que estos compuestos son adsorbibles en cualquier matriz sólida. En la Tabla 4.31 se muestran los resultados del cálculo del balance de masas utilizando las mediciones de las concentraciones de los compuestos en la fase sólida, líquida, SST y caudales. Con este

balance de masas, se obtuvo el flujo másico del influente, efluente y purga de lodos en diferentes días de operación del BRM piloto. La cantidad másica de estrógenos aplicada al reactor fueron entre 2,000 y 30,000 ng.d⁻¹. Esta variación fue asociada principalmente a los caudales operados en el BRM para obtener TRH entre 7 y 12 h, concentraciones de estrógenos en el influente y a las concentraciones de estrógenos presentes en los sólidos (SST) que se encontraron en las aguas residuales crudas. La cantidad de SST presentes en el influente del reactor fueron entre 30 y 120 mg.L⁻¹.

Tabla 4.30. Concentraciones de estrógenos detectadas en los SST presentes en el influente del BRM piloto

Días de operación	E1 (ng.g ⁻¹)	E2(ng.g ⁻¹)	EE2 (ng.g ⁻¹)
1-18	6	3	5
19-94	8	5	4
95-124	10	6	5
125-149	5	4	3
150-183	4	4	6
184-234	6	3	4

Se observa que los flujos másicos de estrógenos en el efluente del reactor fueron menores a 1,000 ng.d⁻¹, indicando que las remociones de E1, E2 y EE2 fueron mayores al 88% a partir del día 95. Para determinar la remoción de E1, E2 y EE2 para el proceso de biodegradación y adsorción, se realizó una diferencia entre el flujo másico del influente, efluente y purga de lodos. De acuerdo a esta diferencia, la remoción de los compuestos por biodegradación fue el proceso que predominó durante los 234 días de operación, las cuales fueron mayores al 84%. Estos resultados coincidieron con los datos obtenidos en las tasas de biodegradación y adsorción, las cuales fueron más altas para la biodegradación que para la adsorción. El compuesto que presentó menor adsorción sobre la biomasa fue el E2, indicando que este compuesto es más susceptible al ataque por los microorganismos.

Tabla 4.31. Flujos máxicos de estrógenos a través de los BRM y remociones mediante procesos de biodegradación y adsorción en diferentes fases experimentales utilizando las concentraciones de E1, E2 y EE2 en la fase líquida y sólida

Días de operación	Flujo máxico (ng.d ⁻¹)						Remoción total (%)			Remoción por biodegradación (%)			Remoción por adsorción (%)		
	Influyente			Efluente											
	E1	E2	EE2	E1	E2	EE2	E1	E2	EE2	E1	E2	EE2	E1	E2	EE2
1-18	7,303	12,348	2,478	2,606	831	66	64	93	97	54	92	96	10	1	1
19-94	28,769	7,668	2,730	2,952	381	343	90	95	87	87	90	80	3	5	7
95-124	8,401	11,222	11,341	1,030	294	695	88	97	94	87	96	92	1	1	2
125-149	3,872	3,270	2,259	73	0	145	98	100	94	83	99	90	15	1	4
150-183	7,409	6,536	4,303	850	0	29	89	100	99	83	96	93	6	4	6
184-234	29,517	24,788	27,908	448	269	0	98	99	100	98	97	99	0	1	0

El balance de masas presentado en la Tabla 4.31 esta basado en la determinación de los compuestos tanto en la fase líquida como en la sólida (método 1). El método 2 indicado en la metodología experimental y en los resultados de los balances de masas en los BRM a nivel laboratorio, relaciona solo la concentración de los compuestos en la fase líquida y el coeficiente de adsorción K_D sin la determinación de estrógenos en la biomasa. En la Figura 4.77 se muestran los resultados del balance de masas obtenidos mediante el método 1 y 2 para la obtención del flujo máxico de estrógenos en la entrada del reactor. Se observa que aplicando ambos métodos, no existen diferencias significativas entre los resultados del balance de masas obtenidos con ambos métodos. El flujo máxico calculado con el método 1 (sin la introducción de K_D) para el E1, E2 y EE2 fueron de 7,303, 12,348 y 2,478 ng.d⁻¹ respectivamente durante los primeros 18 días, mientras que con el método 2 (con la introducción de K_D), los flujos fueron de 7,198, 12,614 y 2,304 ng.d⁻¹ para el E1, E2 y EE2 respectivamente, obteniéndose una desviación estándar entre los dos métodos menor al 2%. El mismo comportamiento fue observado para los flujos obtenidos en los siguientes días de operación. El gráfico de superficies muestra que no existen diferencias entre el método 1 y 2.

El gráfico de los flujos máxicos en el efluente del reactor piloto no se ilustra ya que, al no existir la presencia de SST en el efluente del BRM piloto ($SST_e = 0 \text{ mg.L}^{-1}$), el cálculo del flujo máxico en el efluente aplicando los dos métodos, es el resultado de la multiplicación del caudal y la concentración de los estrógenos en la salida del reactor, dando como resultado flujos iguales entre un método y otro. Para el método 1, $F_e = Q_e (S_e + X_e * SST_e)$ y para el método 2 $F_e = Q_e S_e (1 + K_D * SST_e)$.

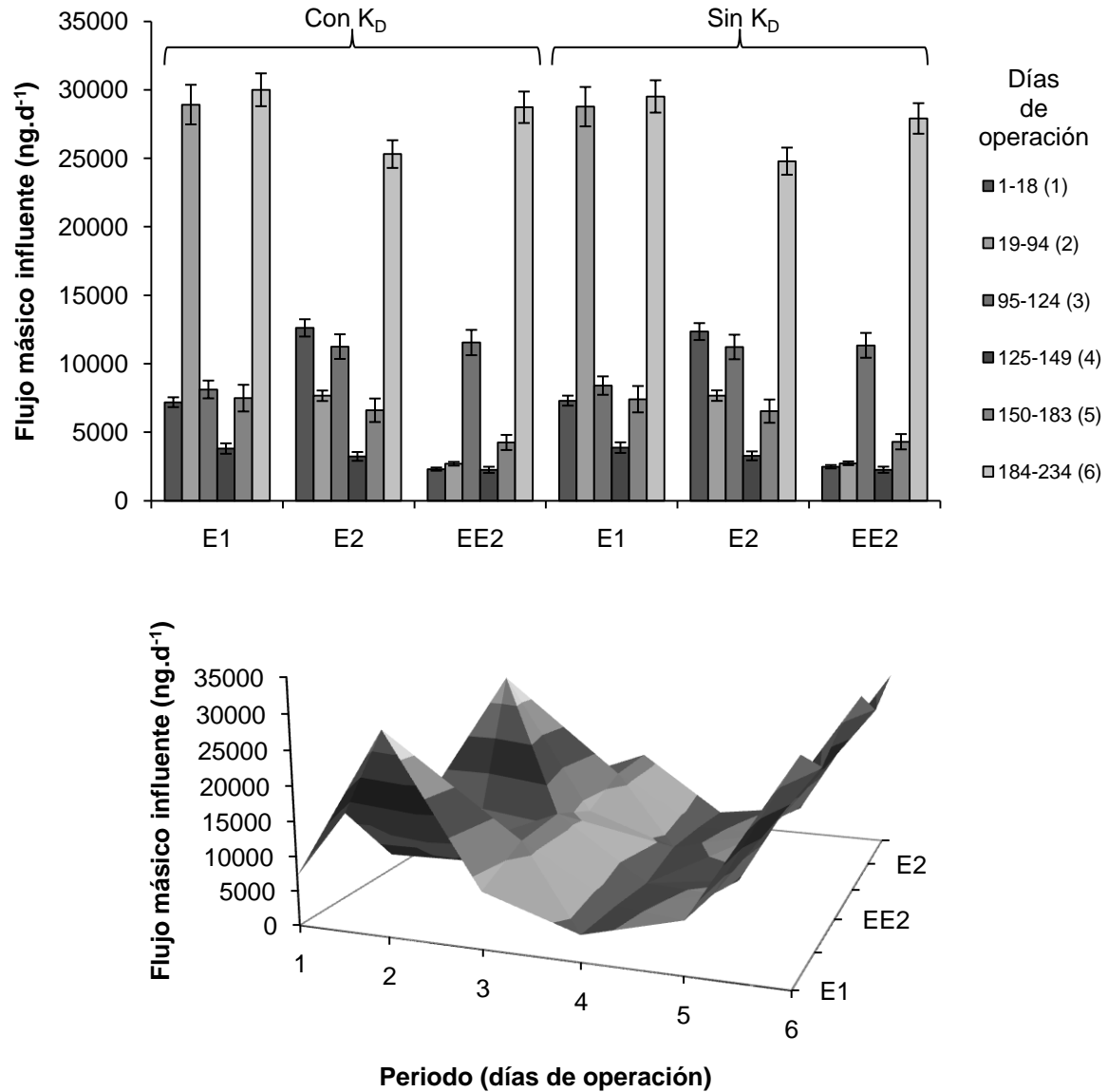


Figura 4.77. Flujo de estrógenos en la entrada de BRM piloto mediante el método 1 y 2

En la Figura 4.78 se muestran los resultados del balance de masas obtenidos mediante el método 1 y 2 para la obtención del flujo másico de estrógenos en la purga de lodos del reactor. Se observa que aplicando ambos métodos, también no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos con ambos métodos. El flujo másico calculado con el método 1 para el E1, E2 y EE2 fueron de 718, 152 y 31 ng.d⁻¹ respectivamente durante los primeros 18 días, mientras que con el método 2, los flujos fueron de 700, 145 y 38 ng.d⁻¹ para el E1, E2 y EE2 respectivamente, obteniéndose una desviación estándar entre los dos métodos menor al 5%. Este mismo comportamiento

fue observado para los flujos obtenidos en los siguientes días de operación. El gráfico de superficies muestra que no existen diferencias entre el método 1 y 2.

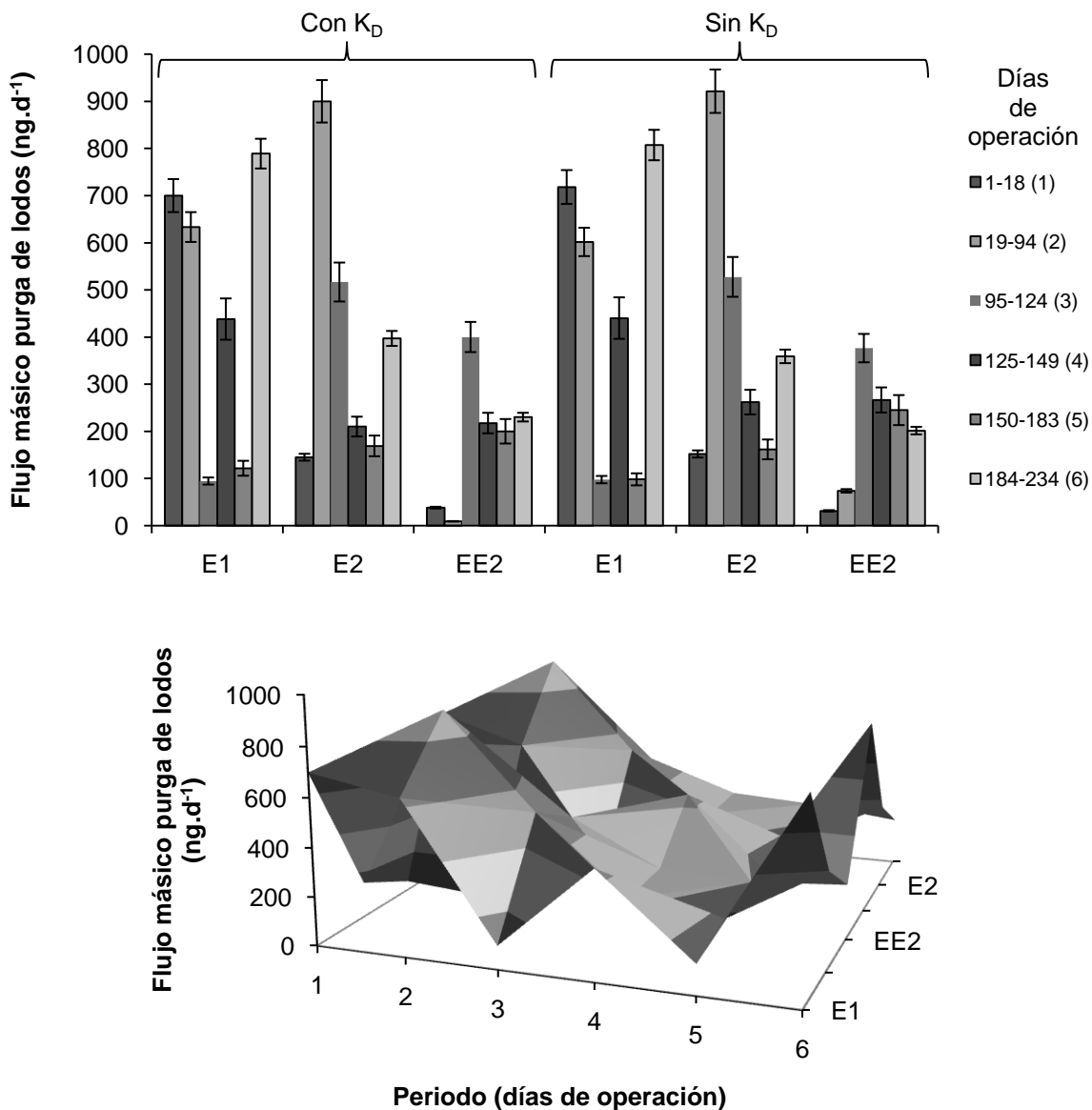


Figura 4.78. Flujo de estrógenos en la purga de lodos obtenidos mediante el método 1 y 2

En la Figura 4.79 y 4.80 muestran los resultados obtenidos en la determinación de los porcentajes de remoción debida a la biodegradación y adsorción. Los porcentajes de biodegradación y adsorción corresponden a la diferencia entre la remoción total de

estrógenos obtenida en el reactor. Para calcular el porcentaje neto correspondiente a la remoción por biodegradación y/o por adsorción, hay que considerar como un 100% la remoción total del compuesto. De esta manera, se obtiene el porcentaje neto debido a la biodegradación y/o adsorción.

Los cálculos para determinar la remoción debida al proceso de biodegradación utilizando el método 1, indicaron que los compuestos fueron removidos por arriba del 84% por este proceso como se indicó anteriormente. Mientras que, con el método 2, indicó que los compuestos son removidos por arriba del 89% por biodegradación. Esta diferencia entre un método y otro, corresponde a la diferencia mostrada en la determinación del flujo másico de los compuestos en la purga de lodos. En los BRM a nivel laboratorio, se demostró que el proceso de biodegradación fue el responsable de la remoción de los estrógenos. Asimismo, se mostró que la aplicación de ambas metodologías en la determinación del balance masas pueden ser aplicadas para determinar el transporte de los compuestos en el proceso biológico. Resultados similares fueron obtenidos en el BRM a nivel laboratorio.

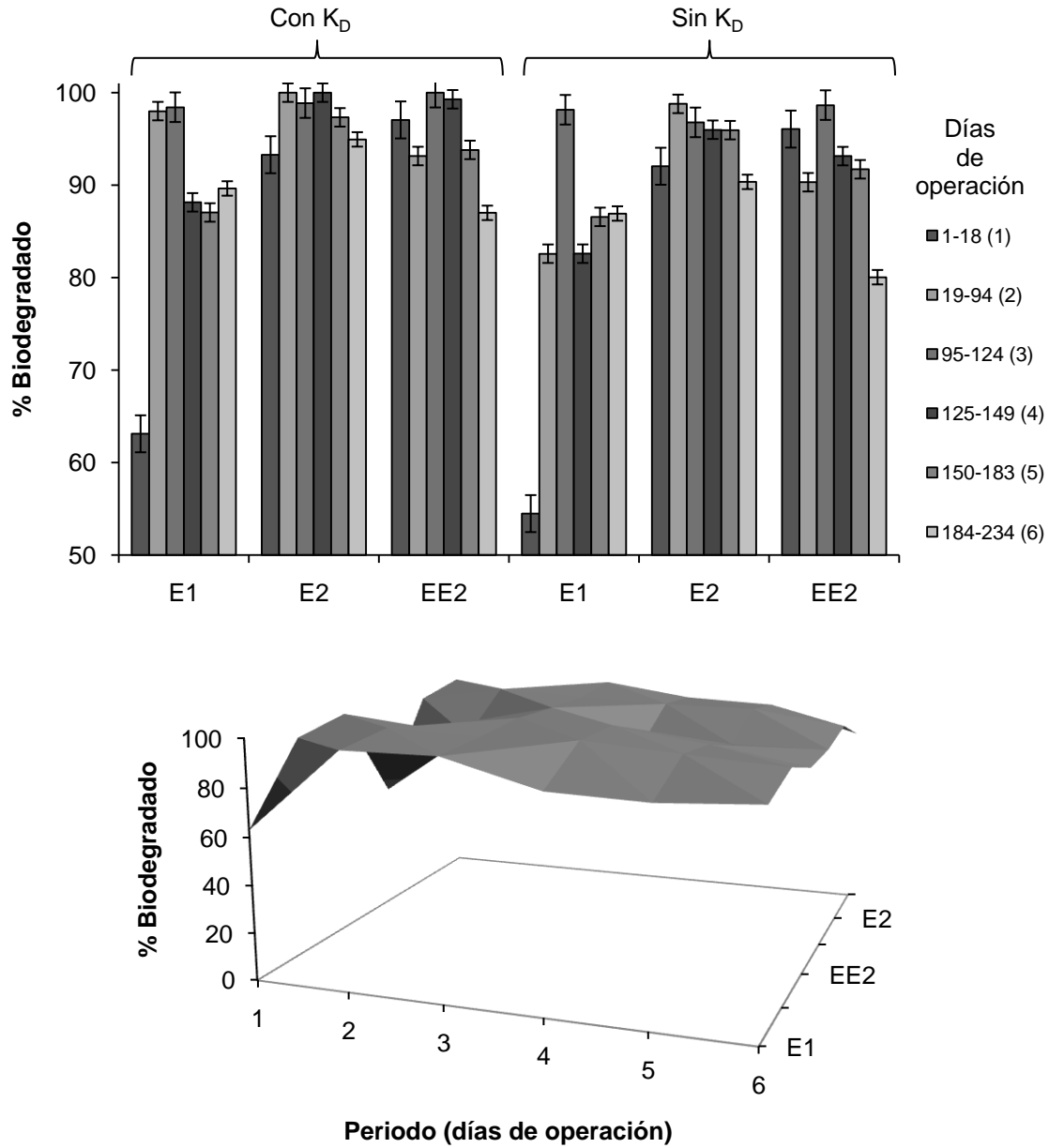


Figura 4.79. Remociones de E1, E2 y EE2 por biodegradación obtenidos mediante el método 1 y 2

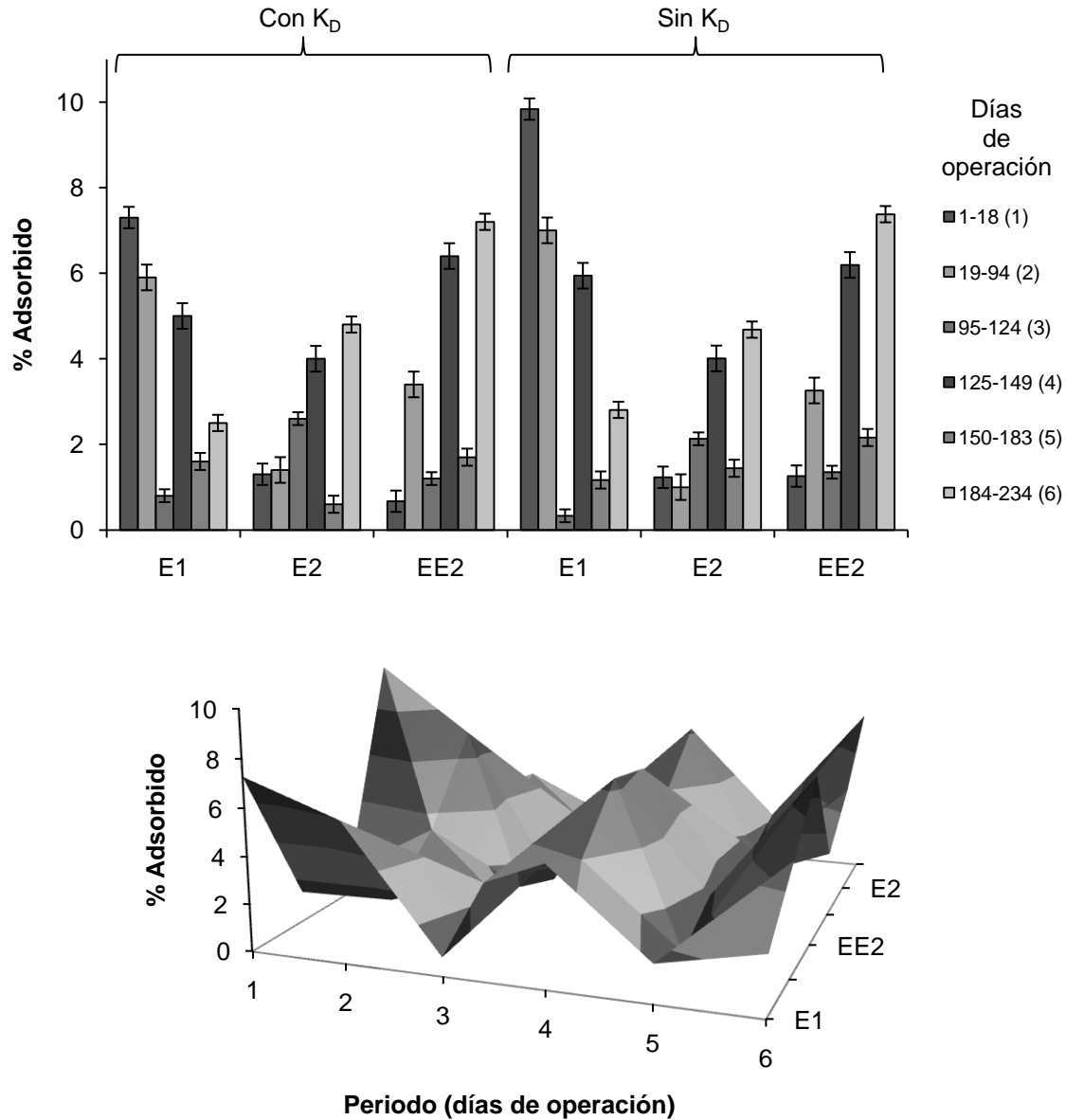


Figura 4.80. Remociones de E1, E2 y EE2 por adsorción obtenidos mediante el método 1 y 2

La aplicación de un balance de masas es una herramienta ingenieril muy útil e importante en la rama ambiental (tratamiento de aguas residuales) ya que, indica el comportamiento y desempeño de plantas de tratamientos de aguas residuales.

El balance de masas tomando solo en cuenta la cantidad del compuesto presente en la fase soluble y el coeficiente de adsorción K_D , mostró al igual que en los BRM a nivel laboratorio, que es una herramienta fácil y sencilla en la cual se puede determinar de una forma rápida los procesos que intervienen en la remoción de los estrógenos,

arrojando datos confiables y proporcionando información sobre el transporte y distribución de estos compuestos en un BRM, evitando de esta manera, factores analíticos y económicos en la determinación de los tres estrógenos en la fase sólida.

4.2.3.3.5. Desempeño del BRM en la remoción de materia orgánica

El arranque del bio-reactor se efectuó con un TRH de 7 h y una concentración de biomasa de $4,580 \pm 440 \text{ mg SSV.L}^{-1}$. En la Figura 4.81 se muestra la remoción de la materia orgánica en el BRM piloto en términos de la DQO_T . Se observa que la remociones de DQO fueron menores al 80% durante los primeros 75 días de operación, las cuales bajas para un BRM. Metcalf y Eddy (2003) indican que las eficiencias de eliminación de materia orgánica en un BRM son mayores al 95%, por lo tanto las remociones de DQO obtenidas durante estos días no corresponde con lo reportado por estos autores. Este comportamiento pudo ser debido a que posiblemente a la presencia en el agua residual de compuestos tóxicos y/o material orgánico de difícil degradación los cuales pudieron afectar el desempeño del BRM o a una aclimatación de la biomasa al agua residual. Este hecho, puede ser reflejado sobre la concentración de los SSV, ya que durante los primeros 75 días no se observó un crecimiento de la biomasa. Asimismo, los valores de la relación SSV/SST fueron entre 0.4 y 0.7 mg.mg^{-1} , indicando una acumulación de material inerte producto de la muerte de los microorganismos (Figura 4.82). Para confirmar esto, se determinó la respiración de la biomasa en el reactor piloto durante estos días. Los resultados de la tasa de consumo de oxígeno indicaron que la actividad de la biomasa disminuyó de 3.2 a $2.3 \text{ mg O}_2.\text{h}^{-1}$, indicando que el agua residual del Emisor Central si fue difícil de degradar o que la biomasa se encontraba en una etapa de aclimatación. La remoción de DQO comenzó a incrementarse a partir del día 87, indicando una adaptación de la biomasa al agua residual. La concentración de DQO_T se aumentó por arriba de los 350 mg.L^{-1} a partir del día 110, obteniéndose una remoción global de DQO del 91%. Este efecto fue debido al cambio de agua residual, ya que durante los primeros 109 días el reactor era alimentado con agua residual del Emisor Central y a partir de día 110 hasta el final de la experimentación, el reactor fue alimentado con agua residual del Gran Canal, la cual presentaba una mayor carga de materia orgánica. La concentración de SSV comenzó a aumentarse con el aumento de la DQO siendo más activa la biomasa durante este periodo, efectuándose una mayor remoción de DQO. Las concentración de DQO en el efluente del BRM piloto, fueron menores a 39 mg.L^{-1} . La tasa de consumo de oxígeno en este periodo indicaron una buena actividad de la biomasa al agua residual del Gran Canal.

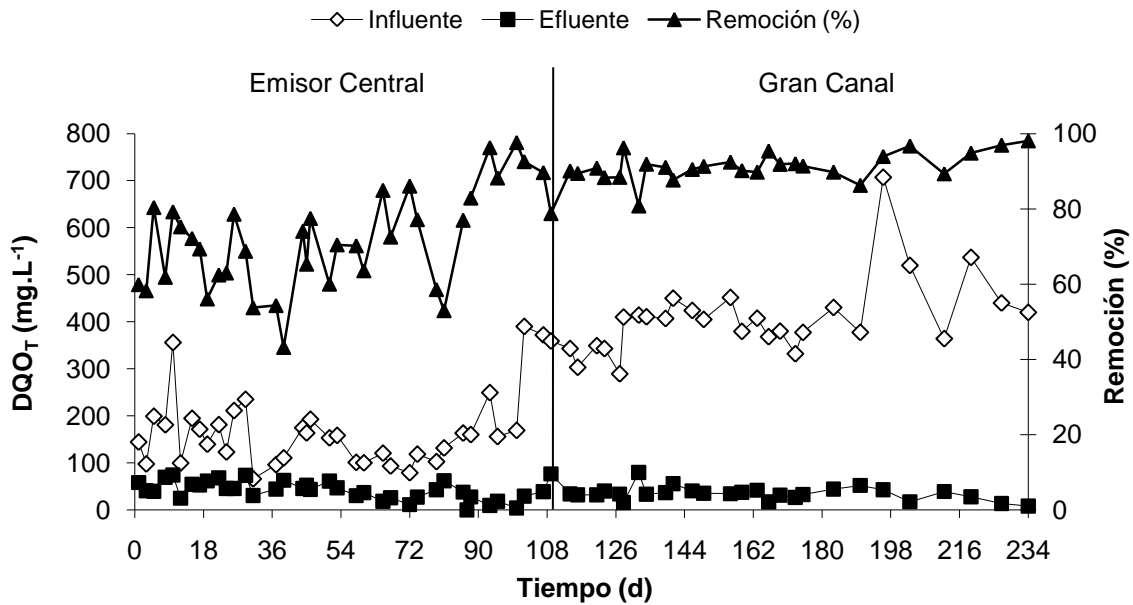


Figura 4.81. Desempeño del BRM piloto en el tratamiento del agua residual real

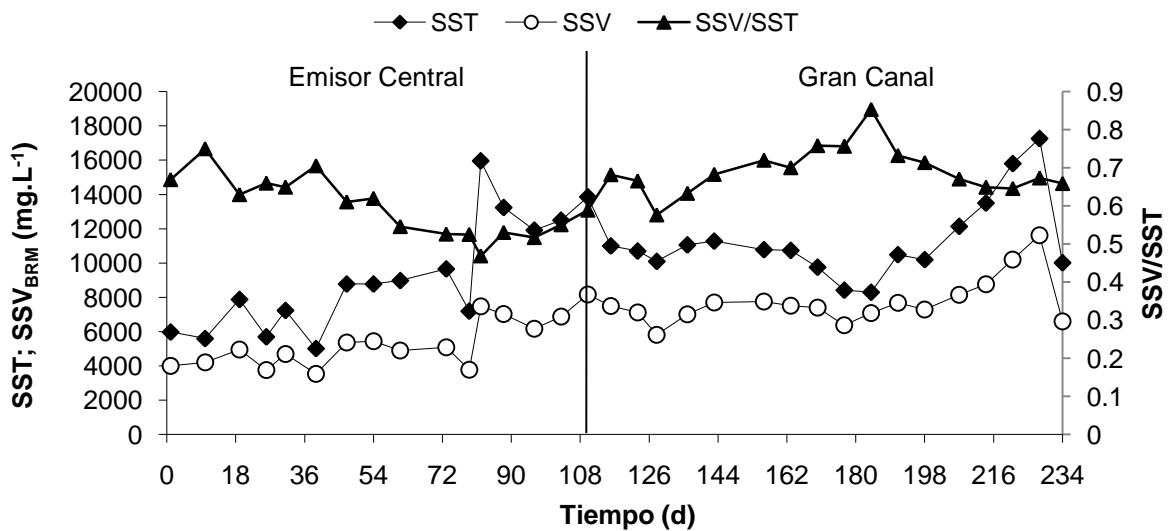


Figura 4.82. Evolución de los sólidos suspendidos en el BRM piloto

Por otro lado, la máxima carga aplicada al BRM piloto fue de $1.4 \text{ kg DQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. Este valor se encuentra dentro de los datos típicos para los bio-reactores con membranas para el tratamiento de aguas residuales municipales que van de 1.2 a $3.2 \text{ kg DQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. (Metcalf y Eddy, 2003; Gander *et al.*, 2000; Stephenson *et al.*, 2000).

Las cargas aplicadas y las tasas de remoción obtenidas en el reactor en el tratamiento del agua residual municipal se muestran en la Figura 4.83 observándose que la máxima tasa de remoción alcanzada en el BRM fue de 1.3 kg DQO.m⁻³.d⁻¹ la cual esta asociada a las altas remociones de DQO (94%). En esta investigación, el reactor trató cargas orgánicas de 0.43-1.4 kg DQO.m⁻³.d⁻¹ con remociones de DQO entre 68 y 94% con la ventaja de tratar cargas más altas.

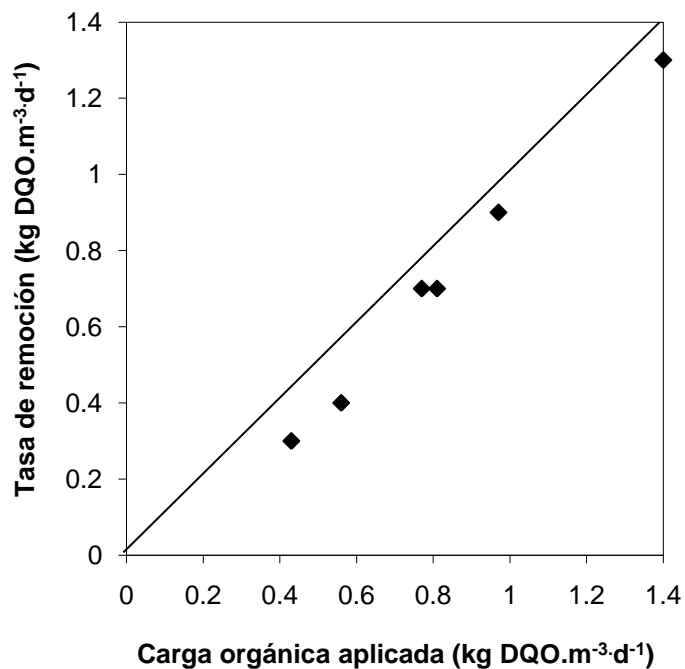


Figura 4.83. Cargas orgánicas aplicadas al reactor en el tratamiento del agua residual municipal

4.2.3.3.5.1. Evolución de las tasas de remoción

En la Figura 4.84 se muestra la evolución de las tasas de remoción en el tratamiento del agua residual real. En términos generales, las tasas de remoción fueron mayores a medida que se incrementaba la concentración de DQO. Los valores de las tasas de remoción se incrementaron de 0.3 hasta 1.3 kg DQO.m⁻³.d⁻¹. Mientras que las tasas específicas aumentaron de 0.06 a 0.14 kg DQO.kg SSV⁻¹.d⁻¹, lo que muestra la buena adaptación de la biomasa en la degradación del agua residual. Las bajas tasas de remoción indicaron que la biomasa no se encontraba aclimatada.

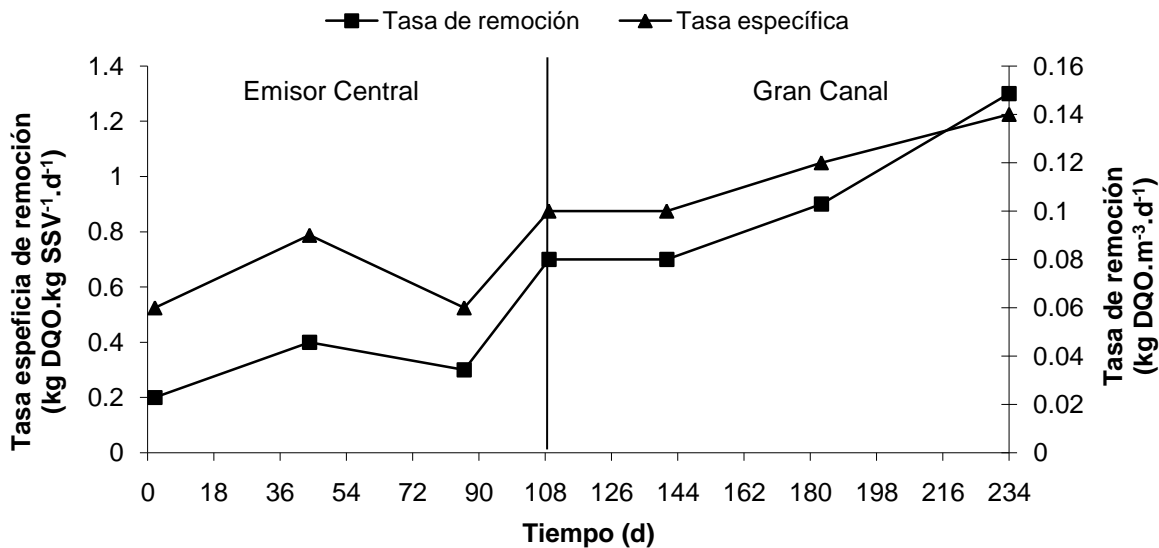


Figura 4.84. Evolución de las tasas de remoción en el tratamiento del agua residual municipal

4.2.3.3.6. Determinación de los coeficientes cinéticos

De igual manera como en el caso los BRM a nivel laboratorio, en el BRM piloto se determinaron los coeficientes cinéticos en condiciones de estado estacionario (Tabla 4.32). El valor del coeficiente de la velocidad máxima de consumo de sustrato por unidad de masa de microorganismos k obtenido en el BRM a nivel laboratorio es un 81% mayor que el obtenido con el BRM piloto. El valor de la concentración del sustrato que corresponde a un medio de la velocidad específica máxima de crecimiento K_s fue 4.1 veces menor en el reactor a nivel laboratorio, lo cual indica una afinidad mucho menor de los microorganismos del BRM piloto al sustrato utilizado, indicando que el metanol (sustrato utilizado en los BRM a nivel laboratorio) es fácilmente biodegradable comparado con un agua residual real.

Sin embargo, los coeficientes cinéticos k_d , Y y μ_{max} en ambos sustratos fueron bajos comparados con el proceso de lodos activados, indicando un lento crecimiento de los microorganismos debido posiblemente a la presencia de microorganismos nitrificantes en los BRM a nivel laboratorio y piloto. Los coeficiente cinéticos determinados en el BRM piloto se encontraron dentro de los valores típicos de los BRM (Stephenson, 2000), los cuales están en el rango de 0.01-0.34 mg SSV.mg DQO⁻¹ para Y de 0.0025-0.08 d⁻¹ para k_d y para μ_{max} de 0.75 d⁻¹.

Tabla 4.32. Coeficientes cinéticos obtenidos en el BRM piloto

Coeficiente cinético	Valor
k (mg DQO.mg SSV ⁻¹ .d ⁻¹)	0.033
K_s (mg DQO.L ⁻¹)	22.72
Y (mg SSV.mg DQO ⁻¹)	0.073
k_d (d ⁻¹)	0.017
μ_{max} (d ⁻¹)	0.0024

4.2.3.3.7. Turbiedad y color

Durante el tratamiento del agua residual se siguió el desempeño del reactor en cuanto a la turbiedad y color. En la Figura 4.85 se muestra la evolución de la turbiedad en el influente y efluente del reactor. La turbiedad en el permeado del bio-reactor durante toda la experimentación fue menor de 0.5 unidades NTU con remociones promedios del 99.5 ±0.3%. La turbiedad promedio en el influente del reactor alimentado con agua residual del Emisor Central fue de 86 ±72 unidades NTU y de 145 ±95 unidades NTU para el agua residual proveniente del Gran Canal.

El color en el influente fueron de 826 ±551 y 1,524 ±850 unidades de Pt-Co para el agua residual del Emisor Central y Gran Canal respectivamente (Figura 4.86). En general, la remoción promedio de color fue del 92 ±2%. El agua tratada presento 84 ±31 unidades Pt-Co. La concentración de SST en el efluente del reactor permaneció por debajo de 1 mg.L⁻¹. Los resultados mostraron que el módulo de membranas trabajó con un alto desempeño durante toda la fase experimental.

Los resultados obtenidos de la turbiedad y color mejoraron notablemente los resultados obtenidos por procesos convencionales.

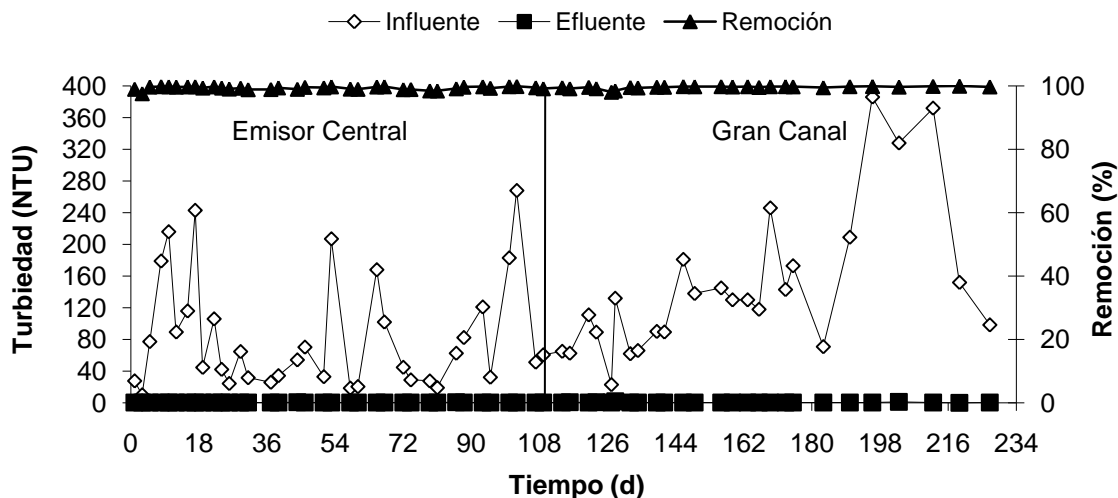


Figura 4.85. Comportamiento de la turbiedad durante el tratamiento del agua residual municipal en el BRM piloto

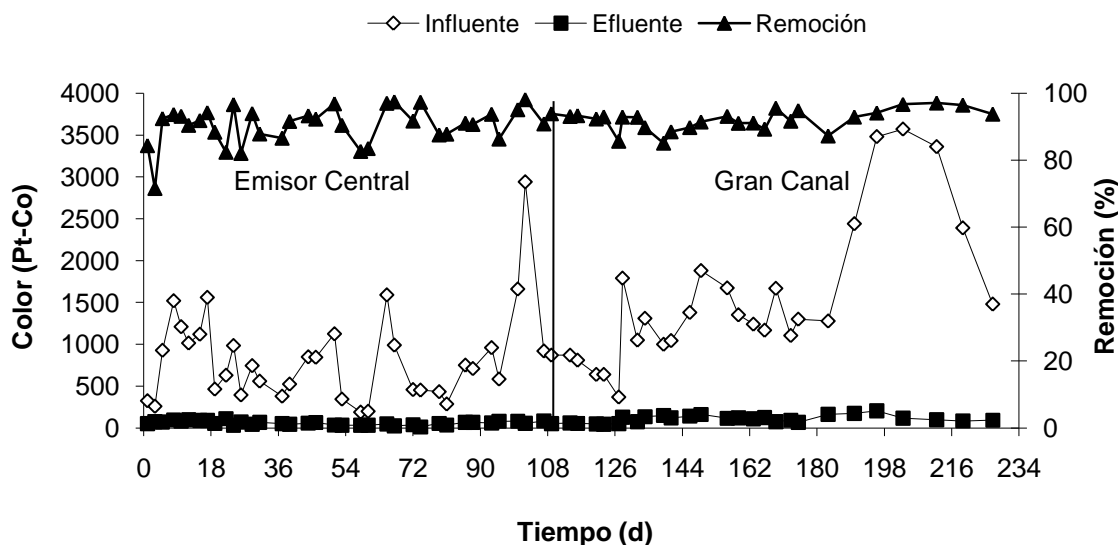


Figura 4.86. Comportamiento de la turbiedad durante el tratamiento del agua residual municipal en el BRM piloto

4.2.3.3.8. Seguimiento de la colmatación de las membranas en el tratamiento del agua residual municipal

El desempeño de la colmatación de las membranas fue evaluado diariamente mediante el seguimiento del flux, PTM y la permeabilidad (Figura 4.87). El flux y la PTM inicial fueron de $32 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ y 62 kPa respectivamente. Se observó que desde los primeros

días de operación existió una disminución del flux debido posiblemente una acumulación rápida de sólidos sobre superficie de las membranas pasando de 32 a 26 $L.m^{-2}.h^{-1}$. Sin embargo, a partir del día 10 hasta el día 45, el flux se estabilizó y permaneció constante con valores de 25 $L.m^{-2}.h^{-1}$ obteniéndose PTM entre 60 y 65 kPa. La permeabilidad se mantuvo por encima de 100 $L.m^{-2}.h^{-1}.bar^{-1}$.

Después de 45 días de operación del BRM piloto, se presentó una disminución ligera del flux, sin embargo, la PTM se incrementó hasta 69 kPa y la permeabilidad decayó por debajo de 100 $L.m^{-2}.h^{-1}.bar^{-1}$ indicando un taponamiento irreversible. Este hecho se fundamenta debido a que se presentó un acumulación alta de material inerte en reactor de acuerdo a la relación SSV/SST. Por lo tanto, en el día 81 se realizó una limpieza química de las membranas. Después de este lavado químico, la PTM disminuyó hasta valores de 42 kPa incrementándose la permeabilidad hasta 160 $L.m^{-2}.h^{-1}.bar^{-1}$ con un flux de 26 $L.m^{-2}.h^{-1}$. Sin embargo, ocho días después del lavado químico, la PTM comenzó a incrementarse hasta 58 kPa. La rápida velocidad de taponamiento de las membranas estuvo principalmente asociada a un alto flux, correspondiente a bajos TRH (7 h). Este hecho, se puede corroborar con los resultados presentados en los BRM a nivel laboratorio, en el cual se indicó que las tasas de colmatación tienden a incrementarse con TRH bajos.

A partir del día 120 cuando se aumentó el TRH a 12 h, el flux disminuyó de 26 a 17 $L.m^{-2}.h^{-1}$ con PTM de 24 kPa. Se observa que el flux fue constante, sin embargo, la PTM se fue incrementando a través del tiempo, indicando que la colmatación de las membranas es inevitable aún con TRH altos.

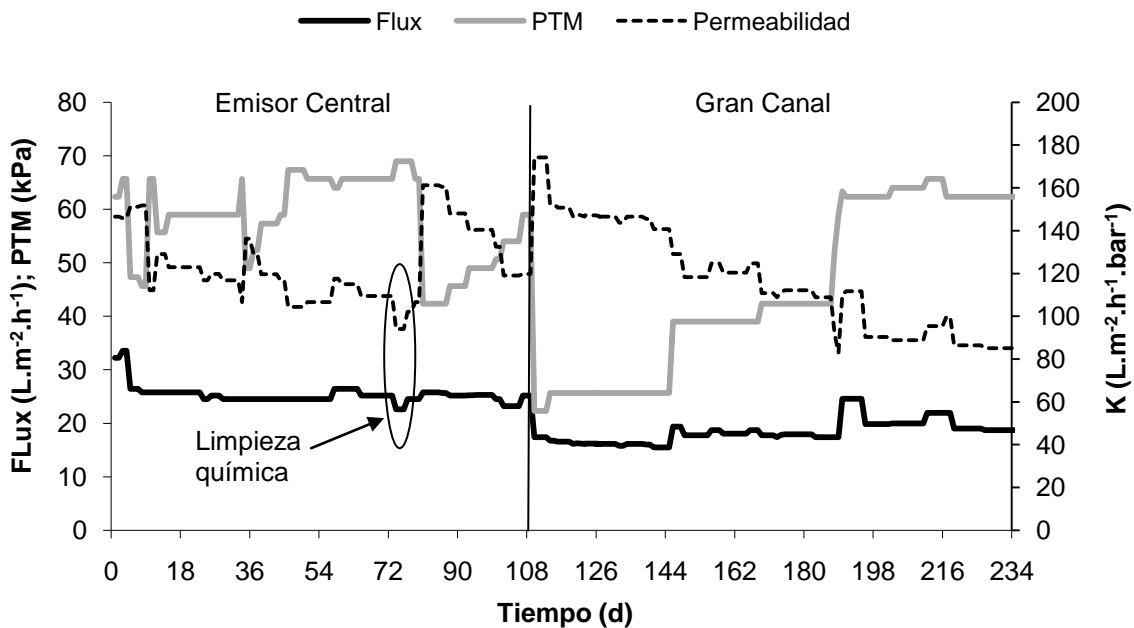


Figura 4.87. Evolución de la colmatación de la membrana en el tratamiento del agua residual municipal

5. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados al inicio de la investigación, con la implementación de bio-reactores con membranas con configuración sumergida en condiciones aerobias a nivel laboratorio y piloto fue posible obtener altas remociones de 2 estrógenos naturales (estróna (E1) y 17 β -estradiol (E2)) y un estrógeno sintético (17 α -etinilestradiol (EE2)) con concentraciones en el efluente de los reactores por debajo de 1 ng.L⁻¹. Asimismo, se determinaron los mecanismos principales de eliminación de los estrógenos así como su destino en un bio-reactor con membranas. Además, se establecieron cuales son los parámetros y procesos principales que influyen sobre la remoción de los tres estrógenos en un BRM. La hipótesis de trabajo fue comprobada, ya que el principal mecanismo de remoción de los tres estrógenos aplicando la tecnología de bio-reactores con membranas es la biodegradación.

Las principales conclusiones a las que se llegó son las siguientes:

Se desarrollaron y validaron 2 métodos analíticos para la detección y cuantificación de E1, E2 y EE2 en aguas residuales y la biomasa mediante la aplicación de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas/masas con trampa iónica. Se estableció un procedimiento para el tratamiento de las muestras en la fase líquida y sólida, las cuales fueron constituidas por los siguientes pasos: filtración, extracción en fase sólida, limpieza con sílica gel y derivatización para el agua residual; extracción sólido-líquido, filtración, limpieza con sílica gel, extracción en fase sólida, limpieza con sílica gel y derivatización para la biomasa. El desarrollo de los métodos permitió obtener límites de detección en el agua residual por debajo de 0.05 ng.L⁻¹ y en la biomasa por debajo de 2 ng.g⁻¹. Esta alta sensibilidad de detección de los compuestos en ambas fases fue debido a las técnicas efectivas en el tratamiento de las muestras y a la correcta selección de los parámetros de operación del cromatógrafo de gases y al espectrómetro de masas-masas.

Se encontró que los tres estrógenos presentaron retenciones entre el 46 y 96% en las membranas de ultrafiltración de polisulfona y PVDF, debida a mecanismos de adsorción por establecimiento de puentes de hidrógeno en el exterior y/o interior de las membranas. Las membranas de ultrafiltración de material polimérico (polisulfona y PVDF) presentaron retenciones altas de E1, E2 y EE2. La adsorción de los compuestos en las membranas fue llevada a acabo mediante fuerzas intermoleculares entre los grupos funcionales de los estrógenos y el material de construcción de las membranas (formación de puentes de hidrógeno) originadas en la superficie y en los poros de las membranas.

Los resultados obtenidos en la determinación de los estrógenos en una biomasa activa e inactiva, indicaron que los compuestos se adsorben más fácilmente en una biomasa sin actividad microbiana.

Se necesitaron de dos a tres meses para adaptar la biomasa a los estrógenos. Entonces, diferentes condiciones de operación fueron probados en los BRM con el objeto de evaluar la remoción de los tres estrógenos bajo diferentes TRH y TRC.

Las variables que influyen sobre la remoción de los estrógenos fueron el TRC y TRH así como el proceso de nitrificación. En términos generales, con TRH y TRC relativamente altos en un rango operativo combinados con un proceso de nitrificación presentaron mejores remociones de E1, E2 y EE2.

El mejor desempeño de los BRM a nivel laboratorio para la remoción de los estrógenos fue cuando se operó con un TRC 60 d y con un TRH de 12 h. Las eficiencias de eliminación para estas condiciones de operación fueron del 100% con concentraciones en el efluente menores a 0.1 ng.L^{-1} .

Las mayores remociones de E1, E2 y EE2 obtenidas en el BRM piloto fueron con TRC entre 46 y 60 d con remociones de los tres compuestos por arriba del 95%. Con el aumento del TRH, las concentraciones de los tres estrógenos fueron menores a 0.1 ng.L^{-1} , indicando de esta manera que con TRH superiores a 7 h se pueden obtener eliminaciones considerablemente altas de estrógenos.

Los altos TRC que fueron operados en los BRM a nivel laboratorio y piloto, generaron una actividad alta de nitrificación de la biomasa sugiriendo la presencia de microorganismos autótrofos (bacterias nitrificantes), las cuales, incrementaron las remociones de los tres estrógenos. En los BRM a nivel laboratorio, para una biomasa con baja actividad nitrificante, las tasas de formación de nitratos se encontraron entre 1.7 y $2.4 \text{ mg N-NO}_3\text{.g SSV}^{-1}\text{.d}^{-1}$, obteniéndose bajas tasas específicas de remoción de los estrógenos menores a $30 \text{ ng.g SSV}^{-1}\text{.d}^{-1}$ correspondiente a remociones entre el 88 y 97%. Con una biomasa con alta actividad nitrificante, la remoción de los compuestos fueron determinadas hasta el 100% aumentándose las tasas hasta $88 \text{ ng.g SSV}^{-1}\text{.d}^{-1}$. En el BRM piloto en el periodo con baja actividad de nitrificación las tasas de formación de nitratos fueron de $7 \text{ mg N-NO}_3\text{.g SSV}^{-1}\text{.d}^{-1}$ obteniéndose remociones de los tres estrógenos menores al 89%. Con tasas mayores a $13.5 \text{ mg N-NO}_3\text{.g SSV}^{-1}\text{.d}^{-1}$, la remoción de los estrógenos fueron incrementados por arriba del 89%. Los resultados observados en todos los reactores experimentales demostraron que el proceso de nitrificación influye sobre la eliminación de E1, E2 y EE2.

La introducción de un balance de masas en los reactores considerando las fracciones de estrógenos en la fase líquida y en la fase sólida (método 1), ayudó a dilucidar los procesos que intervienen en la remoción de E1, E2 y EE2 y la distribución de los compuestos a través de un bio-proceso aerobio con membranas. De acuerdo al balance de masas, la remoción de los estrógenos fue llevada a cabo por procesos de biodegradación-adsorción simultánea, siendo el proceso de biodegradación la principal vía de remoción de E1, E2 y EE2. La remoción de los compuestos por biodegradación fue el proceso que predominó en todas las fases experimentales, las cuales fueron mayores al 98%, en los BRM a nivel laboratorio y mayores al 84% en el BRM piloto.

Este hecho se comprobó mediante las tasas de biodegradación y adsorción, las cuales siempre fueron más altas las tasas de biodegradación.

Se realizó un balance de masas en los BRM tomando solo en cuenta la concentración de estrógeno en la fase soluble y el coeficiente de adsorción K_D de cada estrógeno (método 2), mostrando resultados similares con la aplicación del método 1. Los resultados arrojados por ambos métodos demostraron que existió una diferencia menor al 5% entre un método y otro.

El balance de masas mediante el método 2, mostró que es una herramienta fácil y sencilla en la cual se puede determinar de una forma rápida los procesos que intervienen en la remoción de los estrógenos, arrojando datos confiables y proporcionando información sobre la distribución de estos compuestos en un BRM, evitando de esta manera, factores analíticos y económicos en la determinación de los tres estrógenos en la fase sólida.

Los resultados de los balances de masas mostraron que los estrógenos fueron removidos por biodegradación y no por adsorción, quedando demostrado de esta manera que el principal mecanismo de remoción de los estrógenos naturales y el sintético es la biodegradación. De acuerdo con esto, el destino de los estrógenos en un bio-reactor con membranas es el siguiente:

1. Biodegradación dentro de los flóculos biológicos y en la fase líquida.

-Debido a a la presencia de microorganismos nitrificantes capaces de remover estrógenos, esto debido a que se observó una alta actividad de nitrificación en el proceso con altos TRC y TRH.

-Bajo estas condiciones de operación, los microorganismos dentro del reactor estuvieron sujetos a condiciones extremas de alimentación previniendo el proceso anabólico y permitiendo solo condiciones metabólicas, forzando de esta manera a los microorganismos a metabolizar a los tres estrógenos.

2. Adsorción de los compuestos sobre la biomasa.

3. Retención de los compuestos en las membranas.

-Cuando los reactores estuvieron en operación, se formó una biopelícula y una deposición de sólidos sobre la superficie de las membranas, fomentando una posible reducción del tamaño del poro de las membranas del tamaño original. Por lo tanto, después de aproximadamente 3 meses de operación, se puede esperar una disminución del tamaño del poro, por lo que las membranas pudieron estar actuando como una barrera física para los compuestos adsorbidos dentro de los floculos biológicos, permitiendo una completa retención de estos compuestos en los reactores y experimentándose más los procesos de biodegradación.

De acuerdo a las cinéticas de remoción de E1, E2 y EE2 tomando muestras simultáneas en la fase líquida y sólida, mostraron que los estrógenos son removidos por biodegradación. Los resultados de las cinéticas se ajustaron a un modelo pseudo primer orden introduciendo el coeficiente de adsorción K_D y al modelo tipo Monod, sugiriéndose que los compuestos son biodegradados por vías co-metabólicas.

El compuesto más fácilmente de remover por procesos de biodegradación en los BRM fue el E2, seguido del E1 y EE2. Mientras que por procesos de adsorción, el compuesto que presentó mayor afinidad con el lodo fue el EE2, seguido por el E1 y E2.

Los reactores mostraron un buen funcionamiento en la remoción de materia orgánica presentándose remociones de DQO mayores al 95%. El reactor a nivel piloto trató cargas orgánicas volumétricas hasta de $1.4 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ con tasas de remoción entre 0.4 y $1.3 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ y tasas específicas de remoción entre 0.06 y $0.14 \text{ kg DQO.kg SSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$.

Concentraciones de E1, E2 y EE2 fueron detectadas en dos tipos de aguas residuales municipales provenientes de la Cd. de México en el rango de $9\text{-}34 \text{ ng E1.L}^{-1}$, $10\text{-}93 \text{ ng E2.L}^{-1}$ y $0.14\text{-}82 \text{ ng EE2.L}^{-1}$.

El comportamiento de las tasas de colmatación en los BRM con diferentes condiciones de operación indicaron que el TRC y TRH sí influyeron sobre el taponamiento de las membranas. Cuando se incrementaron los TRC y los TRH se redujeron las velocidades de ensuciamiento de las membranas, viéndose más afectadas para un TRH de 7 h con TRC menores a 60 d.

De los resultados obtenidos en los BRM a nivel laboratorio y del BRM piloto operados con diferentes condiciones de operación, se pueden recomendar que trabajando con TRC entre 45 y 60 d y con TRH entre 9 y 12 h en bio-reactores con membranas sumergidas se pueden generar condiciones de nitrificación y se pueden alcanzar altas remociones de los estrógenos que están presentes en los influentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales, asegurándose concentraciones de E1, E2 y EE2 en los efluentes menores a 1 ng.L^{-1} , disminuyéndose posiblemente el efecto disruptivo que presentan estos compuestos sobre los organismos vivos que viven en los cuerpos receptores que reciben estas descargas.

La tecnología de bio-reactores con membranas puede ser potencialmente considerada como una tecnología prometedora para la remoción simultánea de compuestos disruptores endocrinos, materia orgánica y nutrientes, generando un agua tratada de excelente calidad para su reúso.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abegglen C., Joss A., McArdell C.S, Fink G., Schlüsener M.P., Ternes T.A., Siegrist H. 2009. The fate of selected micropollutants in a single-house MBR. *Water Research*. 43, 2036-2046.
- Adham S., Trussell R.S. 2001. Membrane Bio-reactors: Feasibility and Use in Water Reclamation. San Diego, CA: *Water Environment Research Foundation*.
- Adham S., Gagliardo P., Boulos L., Oppenheimer J., Trussell R. 2001. Feasibility of the membrane bio-reactor process for water reclamation. *Water Science and Technology*. 43 (10), 203-209.
- Aerni H.R., Kobler B., Rutishauser B.V., Wettstein F.E., Fischer R., Giger W., Hungerbühler A., Marazuela M.D., Peter A., Schonenberger R., Vogeli A.C., Suter M.J., Eggen R.I.L. 2004. Combined biological and chemical assessment of estrogenic activities in wastewater treatment plant effluents. *Analytical Bioanalytical and Chemistry*. 378, 688-696.
- Agencia Catalana de L'Aigua (ACA). 2003. Projecte d'obra executada per a la instal·lació del tractament terciari (microfiltració) a l'EDAR de la Bisbal d'Empordà. Barcelona, Novembre.
- Ahmed Z., Cho J., Lim B.-R., Song K.-G., Ahn K.-H. 2007. Effects of sludge retention time on membrane fouling and microbial community structure in a membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science*. 287 (2), 211-218.
- Andersen H., Siegrist H., Halling-Sorensen B., Ternes T.A. 2003. Fate of estrogens in municipal sewage treatment plant. *Environmental Science and Technology*. 37, 4021-4026.
- Andersen H.R., Hansen M., Ingerslev F., Kjolholt J., Stuer-Lauridsen F., Ternes T., Halling-Sorensen B. 2005. Assessment of the importance of sorption for steroid estrogens removal during activated sludge treatment. *Chemosphere*. 61, 139-146.
- Anónimo 2006. Consulta a redes internacionales. <http://methanex.com>. Accedido Julio 2010
- Anónimo 2007a. Consulta a redes internacionales. <http://europa.eu.int>. Accedido Febrero 2007.
- Anónimo 2007b. Consulta a redes internacionales. <http://www.epa.gov/endocrine/>. Accedido Febrero 2007.
- APHA, AWWA, WEF. 1999. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th Edition, *American Public Health Association*, Washington, DC.
- Axelman J., Broman D., Naf C. 1997. Field measurements of PCB partitioning between water and plankton organisms: influence of growth particle size, and solute-solvent interactions. *Environmental Science and Technology*. 31, 665-669.
- Bachmann C.L., Winther N.M., Helweg C. 2002. Feminisation of fish- The effect of estrogenic compounds and their fate in sewage treatment plant and nature. *Chemico-biological interactions*, 729.
- Bachrach B.E., Smith E.P. 1996. The role of sex steroids in bone growth and development: evolving new concepts. *Endocrinologist*. 6, 362-368.
- Balest L., Lopez A., Mascolo G., Di Iaconi C. 2008. Removal of endocrine disrupter compounds from municipal wastewater using an aerobic granular biomass reactor. *Biochemical Engineering Journal*. 41, 288-294
- Baronti C., Curini R., D'Ascenzo G., Di Corcia A., Gentili A., Samperi R. 2000. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. *Environmental Science and Technology*. 34, 5059-5066.
- Barret M., Patureau D., Latrille E., Carrere H. 2010. A three-compartment model for micropollutants sorption in sludge: Methodological approach and insights. *Water Research*. 44, 616-624.
- Barrios-Martinez A., Barbot E., Marrot B., Moulin P., Roche N. 2006. Degradation of synthetic phenol-containing wastewaters by MBR. *Journal Membrane Science*. 281 (1-2), 288-296.
- Birkett J.W., Lester J.N. 2003. Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes. London: *IWA Publishing*, Lewis Publishers/CRC Press.
- Bolt H.M. 1979. Metabolism of estrogens: natural and synthetic. *Pharmacology Ther*. 4, 155-181.

- Braga O., Smythe G.A., Schafer A.I., Feitz A.J. 2005. Steroid estrogens in primary and tertiary wastewater treatment plants. *Water Science and Technology*. 52, 273-278.
- Bringolf B.B., Summerfelt R.C. 2003. Reduction of estrogenic activity of municipal wastewater by aerated lagoon treatment facilities. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 22: 7-83.
- Brown R.P., Greer R.D., Mihaich E.M., Guiney P.D. 2001. A Critical Review of the Scientific Literature on Potential Endocrine-Mediated Effects in Fish and Wildlife. *Ecotoxicology Environmental Safety*. 49,17-25.
- Bruchet A., Prompsy C., Filippi G., Souali A. 2002. A broad spectrum analytical scheme for the screening of endocrine disruptors (EDs), pharmaceuticals and personal care products in wastewaters and natural waters. *Water Science and Technology*. 46, 97-104.
- Buckley C., Jacangelo J. 1998. Microfiltración. Tratamiento del agua por procesos de membrana. Principios, procesos y aplicaciones. *American Water Works Association Research Foundation*. Madrid. McGrawHill. 477-517.
- Busch K., Hegemann W., Spengler P., Metzger J.W. 2002. Influence of Different Process Techniques in Sewage Plants to Eliminate Selected Endocrine Disruptors. *Water Science and Technology*. 197-204.
- Cajthaml T., Kresinova Z., Svobodova K., Sigler K., Rezanka T. 2009. Microbial transformation of synthetic estrogen 17 α -ethinylestradiol. *Environmental Pollution*. 157, 3325-3335.
- Carballa Marta, Fink Guido, Omil Francisco, Lema Juan M., Ternes Thomas 2008. Determination of the solid-water distribution coefficient (Kd) for pharmaceuticals, estrogens and musk fragrances in digested sludge. *Water Research*. 42, 287-295.
- Cargouet M., Perdiz D., Asmaa M.S., Sara T.K., Levi Y. 2004. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). *Science Total Environmental*. 324, 55-66.
- Cervantes Quiroz L.R. 2007. Evaluación de la colmatación en una membrana sumergida dentro de un biorreactor discontinuo automatizado. *Tesis de maestría*. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Chae S.-R., Ahn Y.-T., Kang S.-T., Shin H.-S. 2006. Mitigated membranefoulinginaverticals submergedmembranebioreactor (VSMBR). *Journal of Membrane Science*. 280 (1-2), 572-581.
- Chang I.S., Clech P.L., Jefferson B., Judd S. 2002. Membrane fouling in membrane bio-reactor for wastewater treatment. *Journal Environmental Engineering*. 128 (11), 1018-1029.
- Chang I.S., Lee C.H. 1998. Membrane filtration characteristics in membrane-coupled activated sludge system-effect of physiological states of activated sludge on membrane fouling. *Desalination*. 120, 221.
- Chang S., Jang N., Yeo Y., Kim S. 2006. Fate and transport of endocrine-disrupting compounds (oestrone and 17 β -oestradiol) in a membrane bio-reactor used for water re-use. *Water Science and Technology*. 53 (9), 123-130.
- Chang S., Waite T.D., Schafer A.I., Fane A.G. 2002. Adsorption of trace steroid oestrogens to hydrophobic hollow fiber membranes. *Desalination*. 146, 371-386.
- Chapman H. 2003. Removal of endocrine disruptors by tertiary treatments and constructed wetlands in subtropical Australia. *Water Science and Technology*. 47, 151- 156.
- Cheng A., Wang L., Wang X. 2009. Research on Removal of 17 α - ethinylestradiol in Water by Nanofiltration Membrane. *Proceedings in USB of the 5th IWA Specialised Membrane Technology Conference for Water and Wastewater Treatment*. Beijing P.R.China. 1-3 Septiembre 2009.
- Chia-Yang C., Tzu-Yao W., Gen-Shuh W., Hui-Wen C., Ying-Hsuan L., Guang-Wen L. 2007. Determining estrogenic steroids in Taipei waters and removal in drinking water treatment using high-flow solid-phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Science of the Total Environment*. 378, 352-365

- Cho J., Amy G., Pellegrino J. 2000. Membrane filtration of natural organic matter: factors and mechanisms affecting rejection and flux decline with charged ultrafiltration (UF) membrane. *Journal of Membrane Science*. 164, 89.
- Cho J., Song K.-G., Hyup Lee S., Ahn K.-H. 2005a. Sequencing anoxic/anaerobic membrane bioreactor (SAM) pilot plant for advanced wastewater treatment. *Desalination*. 178 (1–3), 219–225.
- Cho J., Song K.G., Yun H., Ahn K.H., Kim J.Y., Chung T.H. 2005b. Quantitative analysis of biological effect on membrane fouling in submerged membrane bioreactor. *Water Science and Technology*. 51 (6–7), 9–18.
- Choo K.H., Lee C.H. 1996. Membrane fouling mechanisms in the membrane-coupled anaerobic bio-reactor. *Water Research*. 30, 1771-1778.
- Choudhary, M.I., Musharraf, S.G., Ali, R.A., Atif, M., Atta-ur-Rahman, 2004. Microbial transformation of Antifertility agents, norethisterone and 17 α -ethinyl estradiol. *Zeitschrift für Naturforschung*. 59b, 319–323.
- Cicek N. 2003. A review of membrane bio-reactors and their potential application in the treatment of agricultural wastewater. *Canadian Biosystems Engineering*. 45 (6), 37-49.
- Cicek N., Macomber J., Davel J., Suidan M.T., Audic J., Genestet P. 2001. Effect of solids retention time on the performance and biological characteristics of a membrane bio-reactor. *Water Science and Technology*. 43(11), 43-50.
- Clara M., Kreuzinger N., Strenn B., Gans O., Kroiss H. 2005. 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., Martínez E., Kreuzinger N., Kroiss H. 2005. Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bio-reactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Research*. 39, 4797-4807.
- Clara, M., Strenn, B., Saracevic, E., Kreuzinger, N. 2004. Adsorption of bisphenol-A, 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol to sewage sludge. *Chemosphere*. 56, 843–851.
- Clouzot L., Doumenq P., Roche N., Marrot B. 2010. Kinetic parameters for 17 α -ethinylestradiol removal by nitrifying activated sludge developed in a membrane bioreactor. *Bioresource Technology*. 101, 6425-6431.
- Colborn T., Cimet C. 1992. Chemically-induced alterations in sexual and functional development. The wildlife/human connection, New Jersey: *Princeton Scientific Publishing*.
- Colucci M.S., Bork H., Topp E. 2001. Persistence of Estrogenic Hormones in Agricultural Soil: 17 β -Estradiol and Estrone. *Journal Environmental Quality*. 30, 2070-2076.
- Combe C., Molis E., Lucas P., Riley R., Clark M.M. 1999. The effect of CA membrane properties on adsorptive fouling by humic acid. *Journal of Membrane Science*. 73,154.
- Comerton A.M., Andrews R.C., Bagley D.M., Yang P. 2007. Membrane adsorption of endocrine disrupting compounds and pharmaceutically active compounds. *Journal of Membrane Science*. 303, 267-277.
- COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES (2007). Community Strategy for Endocrine Disrupters" - a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife (COM (1999) 706), (COM (2001) 262) and (SEC (2004) 1372).
- CONAGUA 2006. Manejo de las aguas residuales para el combate a la pobreza en las grandes ciudades- El caso de la ciudad de México. *IV Foro Mundial del Agua*. México D.F.
- Cooke P. S., Naaz A. 2004. Role of estrogens in adipocyte development and function. *Experimental Biology and Medicine*. 229, 1127-1135.
- Coombe R. G., Tsong Y.Y., Hamilton P.B., Sih C.J. 1966. Mechanisms of steroid oxidation by microorganisms. *Journal of Biology Chemistry*. 241, 1587–1595.
- Cornel P., Krause S. 2006. Membrane bio-reactors in industrial wastewater treatment- European experiences, examples and trends. *Water Science and Technology*. 53(3), 37-44.

- D'Ascenzo G., Di Corcia A., Gentili A., Manzini R., Mastropasqua R., Nazzari M., Samperi R. 2003. Fate of natural estrogens conjugated in municipal sewage transport and treatment facilities. *Science Total Environmental*. 32, 199-209.
- Damstra T., Barlow S., Bergman A., Kavlock R., Van Der Kraak G. 2002. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. *International programme on chemical safety*.
- Daughton C.G., Ternes T.A. 1999. Pharmaceuticals and personal care products in environmental: Agents of subtle change. *Environmental Health Perspect*. 107 (6), 907-938.
- De Gusseme B., Pycke B., Hennebel T., Marcoen A., Vlaeminck S.E., Noppe H., Boon N., Verstraete W. 2009. Biological removal of 17 α -ethinylestradiol by a nitrifier enrichment culture in a membrane bioreactor. *Water Research*. 43, 2493-2503
- Defrance L. Jaffrin M.Y. 1999. Comparison between filtration at fixed transmembrane pressure and fixed flux : application to a membrane bio-reactor used for wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*. 152, 203-210.
- Della Greca M., Pinto G., Pistillo P., Pollio A., Previtera L., Temussi F. 2008. Biotransformation of ethinylestradiol by microalgae. *Chemosphere*. 70, 2047–2053.
- Desbrow C., Routledge E.J., Brighty G.C., Sumpter J.P., Waldosk M. 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological effects on fish. *Environmental Science and Technology*. 34, 1521-1528.
- Di Gioia D., Sciubba L., Bertin L., Barberio C., Salvadori L., Frassinetti S., Fava F. 2009. Nonylphenol polyethoxylate degradation in aqueous waste by the use of batch and continuous biofilm bioreactors. *Water Research*. 43, 2977-2988
- Djamila A.H., Jacqueline T., Sven L., Thomas W., Thomas M., Daniela T., Andreas J., Wolfgang D., Juliane H., 2008. Correlation of EPS content in activated sludge at different sludge retention times with membrane fouling phenomena. *Water Research*. 42, 1475–1488
- Drewes J.E., Hemming J., Ladenburger S.J., Schauer J., Sonzogni W. 2005. An assessment of endocrine disrupting activity changes during wastewater treatment through the use of bioassays and chemical measurements. *Water Environmental Research*. 77, 12–23.
- Drews A., Mante J., Iversen V., Vocks M., Lesjean B., Kraume M. 2007. Impact of ambient conditions on SMP elimination and rejection in MBRs. *Water Research*. 41 (17), 3850–3858.
- Easton H.J., Dongell R.A., Oberdörster E. 2004. Steroid Hormone Levels and Biological Removal Strategies. *Report for 2004TX147B: Removal of Hormones through a Conventional Wastewater Treatment System*.
- Ermawati R., Morimura S., Tang Y.Q., Liu K., Kida K. 2007. Degradation and behavior of natural steroid hormones in cow manure waste during biological treatments and ozone oxidation. *Journal Bioscience and Bioengineering*. 103, 27–31.
- Estrada Arriaga Edson. B., García Sánchez L. 2004. Biodegradación del 1,2 dicloroetano de aguas residuales de la industria petroquímica por biofiltración sobre medio orgánico. *Tesis de licenciatura*. UAEM.
- European Commission 2007. Documento No SANCO/2007/3131. Method validation and quality control procedures for pesticides residues analysis in food and feed.
- European Workshop on the Impact of Endocrine Disruptors on Human Health and Wildlife. 1996. *Report of Proceedings*, 2–4 December, Weybridge, UK.
- Ferguson P.L., Charies R.I., Anne E.M., Brownawell B.J. 2001. Determination of steroid estrogens in wastewater by immunoaffinity extraction coupled with HPLC-Electrospray-MS. *Analytical Chemistry*. 73, 3890–3895.
- Fernandez M.P., Ikonomou M.G., Buchanan I. 2007. An assessment of estrogenic organic contaminant in Canadian wastewaters. *Science Total Environmental*. 373, 250–69.
- Field R.W., Wu D., Howell J.A., Gupta B.B. 1995. Critical flux concept for microfiltration fouling. *Journal of Membrane Science*. 100, 259-272.

- Flemming H.C., Griebe T., Schaule G. 1996. Antifouling strategies in technical systems- a short review. *Water Science and Technology*. 34, 517.
- Floger H. S. 2001. Elementos de Ingeniería de las reacciones químicas. Tercera edición. *Pearson Educación*. México D.F.
- Folmar L., Denslow N.D., Rao V., Chow M., Crain D.A., Enblom J., Marciano J., Guillete L.J. Jr. 1996. Vitellogenin induction and reduced serum testosterone concentrations in feral male carp (*Cyprinus carpio*) captured near a major metropolitan sewage treatment plant. *Environmental Health Perspective*. 104, 1096-1101.
- Frederickson J. K., Balkwill D. L., Drake G. R. Romine M. F., Ringelberg D. B., White D. C. 1995. Aromatic-degrading Sphingomonas isolates from the deep substrate. *Applied Environmental Microbiology*. 61, 1917–1922.
- Frederickson J. K., Brockman F. J., Workman D. J., Li S. W., Stevens T. O. 1991. Isolation and characterization of a subsurface bacterium capable of growth on toluene, naphthalene, and other aromatic compounds. *Applied Environmental Microbiology*. 57, 796–803.
- Fujii K., Kikuchi S., Satomi M., Ushio-Sata N., Morita, N. 2002. Degradation of 17 β -estradiol by a gram-negative bacterium isolated from activated sludge in a sewage treatment plant in Tokyo, Japan. *Applied Environmental Microbiology*. 68, 2057-2060.
- Fujita M., Ike M., Kusunoki K., Ueno T., Serizawa K., Hirao T. 2002. Removal of color and estrogenic substances by fungal reactor equipped with ultrafiltration unit. *Water Science and Technology*. 5-6, 353-358.
- Fujitsuka T. 1999. The result of EDs surveillance (summer) at public water areas. *J. Jap. Soc. Wat. Environ.*, 28(8), 624–628.
- Furuichi T., Kannan K., Suzuki K., Giesy J.P., Masunaga S. 2006. Occurrence of estrogenic compounds in and removal by a swine farm waste treatment plant. *Environmental Science and Technology*. 40, 7896–902.
- Gander M., Jefferson B., Judd S. 2000. Aerobic MBRs for domestic wastewater treatment. A review with cost considerations. *Separation and Purification Technology*. 18 (2), 119.
- Gaulke L.S. Strand S.E., Kalthorn T.F., Stensel H.D. 2008. 17 α -Ethinylestradiol transformation via abiotic nitration in the presence of ammonia oxidizing bacteria. *Environmental Science and Technology*. 42, 7622-7627.
- Gaulke L.S. Strand S.E., Kalthorn T.F., Stensel H.D. 2009. Estrogen biodegradation kinetics and estrogenic activity reduction for two biological wastewater treatment methods. *Environmental Science and Technology*. 43, 7111-7116.
- Gibson R., Becerril-Bravo E., Silva-Castro V., Jimenez B. 2007. Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1169, 31-39.
- Giwerzman A., Carlson E., Keiding N., Skakkebaek N. E. 1993. Evidence for Increasing Incidence of Abnormalities of the Human Testis: A Review. *Environmental Health Perspectives Supplements*. 101(2), 65-71.
- González G.F. 1997. Fisiología Endocrina y de la Reproducción. *Rev. Per. Endocr. Metab.* 3, 3-26.
- Guengerich F.P. 1990. Metabolism of 17 alpha-ethynylestradiol in humans. *Life of Science*. 47, 1981-1988.
- Gunnarsson L., Adolfsson-Erici M., Björlenius B., Rutgersson C., Förlin L., Larsson D.G.J. 2009. Comparison of six different sewage treatment processes—Reduction of estrogenic substances and effects on gene expression in exposed male fish. *Science of the Total Environment*. 407, 5235-5242.
- Guo Y. L., Lambert G. H., Hsu C.-C. 1995. Environmental Health Issues. *Environmental Health Perspectives*, 103(S6): 112-115.
- Guyton A. C. 1991. *Textbook of Medical Physiology*, W.B. Sanders Company, Philadelphia.

- Han S.-S., Bae T.-H., Jang G.-G., Tak T.-M. 2005. Influence of sludge retention time on membrane fouling and bioactivities in membrane bioreactor system. *Process Biochemistry*. 40 (7), 2393–2400.
- Harries J.E., Sheahan D., Jobling S., Matthiessen P., Neall P., Sumpter J.P., Tylor T., Zaman N. 1997. Estrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenesis in caged male trout. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16, 534-542.
- Harris C. A., Santos E. M., Janbakhsh A., Pottinger T. G., Tyler C. R., Sumpter J. P. 2001. Nonylphenol affects gonadotropin levels in the pituitary gland and plasma of female rainbow trout. *Environmental Science and Technology*. 35, 2909-2916.
- Hashimoto T., Onda K., Nakamura Y., Tada K., Miya A., Murakami T. 2007. Comparison of natural estrogen removal efficiency in the conventional activated sludge process and the oxidation ditch process. *Water Research*. 41, 2117-2126.
- Hayes C.L., Spink D.C., Spink B.C., Cao J.Q., Walker N.J., Sutter T.R. 1996. 17 β -Estradiol hydroxylation catalyzed by human cytochrome P4501B1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 93: 9776–9781.
- Herrera R.M., Morgan. S.J.M., J. E.S., Noyola R.A. 2006. Tratamiento de agua residual municipal con birreactores UASB de membrana: Efectividad de remoción y taponamiento en operación a largo plazo. *XV Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales*. 24-26 Mayo. Guadalajara Jalisco.
- Hirobe M., Goda Y., Okayasu Y., Tomita J., Takigami H., Ike M., Tanaka H. 2006. The use of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) for the determination of pollutants in environmental and industrial wastes. *Water Science and Technology*. 54 (11–12), 1–9.
- Holbrook David R. Jr. 2003. Fate and Transport of Endocrine Disrupting Compounds during Wastewater Treatment: The Role of Colloidal and Particulate Material. *Thesis of Doctor Philosophy*.
- Hong S., Elimelech M. 1997. Chemical and physical aspects of natural organic matter fouling of nanofiltration membranes. *Journal of Membrane Science*. 132, 159.
- Hong S.P. Bae T., Tak T., Hong S., Randall A. 2002. Fouling control in activated sludge submerged hollow fiber membrane bioreactors. *Desalination*. 143, 219-228.
- Hu J. Y., Chen X., Tao G., Kekred K. 2007. Fate of Endocrine Disrupting compounds in membrane bio-reactor systems. *Environmental Science and Technology*. 41, 4097-4102
- Huang C.H., Sedlak D. 2001. Analysis of Estrogenic Hormones in Municipal Wastewater Effluent and Surface Water Using Enzymelinked Immunosorbent Assay and Gas Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Environmental Toxicology Chemistry*. 20, 133-139.
- Huang X., Gui P., Qian Y. 2001. Effect of sludge retention time on microbial behavior in a submerged membrane bio-reactor. *Process Biochemistry*. 36, 1001-1006.
- Huber M., Canónica S., park G.Y., Gunten U.V. 2003. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. *Environmental Science and Technology*. 37, 1016-1024.
- Hutchinson T.H. 2002. Reproductive and developmental effects of endocrine disruptors in invertebrates: in vitro and in vivo approaches. *Toxicology letters*. 131, 75-81.
- Itagaki E., Iwaya T. 1988. Purification and characterization of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase from *Cylindrocarpum radicle*. *Journal Biochemistry*. 103, 1039-1044.
- Ito M. 2008. Occurrence and fate of estrogen and androgen in municipal wastewater treatment by combination of chemical analyses and bioassay. Master essay. Osaka: Osaka City University. (in Japanese).
- Jacobsen B. N., Nyholm N., Pedersen B. M., Poulsen O., Østfeldt P. 1993. Removal of Organic Micropollutants in Laboratory Activated Sludge Reactors under Various Operating Conditions: Sorption. *Water Research*. 27(10), 1505-1510.

- Jiang T., Myngheer S., De Pauw D.J.W., Spanjers H., Nopens I., Kennedy M.D., Amy A., Vanrolleghem P.A. 2008. Modelling the production and degradation of soluble microbial products (SMP) in membrane bioreactor (MBR). *Water Research*. 4955-4964.
- Jobling S., Sheahan D., Osborne J. A., Matthiessen P., Sumpter J. P. 1996. Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 15, 194-202.
- Johnson A.C., Aerni H.R., Gerritsen A., Gilbert M., Giber W., Hylland K., Jurgens M., Nakari T., Pickering A., Suter M.J.F. 2005. Comparing steroid estrogens, and nonylphenol content across a range of European sewage plants with different treatment and management practices. *Water Research*. 39 (1), 47-58.
- Johnson A.C., Belfroid B., Di Corcia A. 2000. Estimation of steroid estrogens inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *Science Total Environmental*. 256, 163-173.
- Johnson A.C., Sumpter J.P. 2001. Removal of endocrine-disrupting chemicals in activated sludge treatment works. *Science and Technology*. 35, 4697-4703.
- Johnson A.C., Williams R.J., Simpson P., Kanda R. 2007. What difference might sewage treatment performance make to endocrine disruption in rivers. *Environmental Pollution*. 147, 194–202.
- Johnson A.C., Williams R.J., Ulahannan T. 1999. Comment on "Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 1. Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening". *Environmental Science and Technology*. 33, 369-370.
- Jörg, E.D., Hemming, J., Ladenburger, S.J., Schauer, J., Sonzogni, W., 2005. An assessment of endocrine disrupting activity changes during wastewater treatment through the use of bioassays and chemical measurement. *Water Environmental Research*. 77, 12–23.
- Joss Adriano, Andersen Henrik, Ternes Thomas, Richle Philip R., Siegrist Hansruedi 2004. Removal of estrogens in municipal wastewater treatment under aerobic and anaerobic conditions: Consequences for plant optimization. *Environmental Science and Technology*. 38 (11), 3047-3055.
- Joss, A., Zabczynski, S., Gobel, A., Hoffmann, B., Löffler, D., McArdell, C. S., Ternes, T. A., Thomsen, A. & Siegrist, H. 2006. Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme. *Water Research*. 40, 1686–1696.
- Judd S. 2005. Fouling control in submerged membrane bioreactors. *Water Science and Technology*. 51(6), 27-34.
- Judd S. 2008. The status of membrane bioreactor technology. *Trends in Biotechnology*. 26(2), 109-116.
- Jürgens M.D., Holthaus K.I.E., Johnson A.C., Smith J.J.L., Hetheridge M., Williams, R.J. 2002. The potential for estradiol and ethinylestradiol degradation in English rivers. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21(3), 480–488.
- Katori Y., Ksu Y., Utsumi H. (2002). Estrogens-like effect and cytotoxicity of chemical compounds. *Water Science and Technology*. 46, 363-366.
- Kimura K., Hara H., Watanabe Y. 2007. Elimination of selected acidic pharmaceuticals from municipal wastewater by an activated sludge system and membrane bioreactors. *Environmental Science and Technology*. 41, 3708–3714.
- Kira L.A., Tyler C.R., Lye C.M., Sumpter J.P. 2002. Changes in estrogenic and androgenic activities at different stages of treatment in wastewater treatment works. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21, 972-979.
- Kiso Y., Mizuno A., Adawiah binti Othman R.A., Jung Y.-J., Kumano A., Arijji A. 2002. Rejection properties of pesticides with a hollow fiber NF membrane (HNF-1). *Desalination*. 143-147.
- Kiso Y., Nishimura Y., Kitao T., Nishimura K.. 2000. Rejection properties of non-phenylic pesticides with nanofiltration membranes. *Journal of Membrane Science*. 17, 229.

- Körner W., Bolz U., Sussmuth W., Hiller G., Schuller W., Hanf V., Hagenmaier H. 2000. Input/output balance of estrogenic active compounds in major municipal sewage plant in Germany. *Chemosphere*. 40, 1131-1142.
- Körner W., Hanf V., Schuller W., Kempter C., Metzger J.W., Hagenmaier H. 1999. Development of a sensitive E-screen assay for quantitative analysis of estrogenic activity in municipal sewage plant effluents. *Science Total Environmental*. 225, 33-48.
- Körner, W., Spengler, P., Bolz, U., Schuller, W., Hanf, V., Metzger, J.W., 2001. Substances with estrogenic activity in effluents of sewage treatment plants in southwestern Germany 2. Biological analysis. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20, 2142–2151.
- Kreuzinger N., Clara M., Strenn B., Vogel B. 2004. Investigation on the behaviour of selected pharmaceuticals in the groundwater after infiltration of treated wastewater. *Water Science and Technology*. 50, 221–228.
- Labadie P., Hill E.M. 2007. Analysis of estrogens in river sediments by liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry Comparison of tandem mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1141, 174-181.
- Lagana A., Bacaloni A., Fago G., Marino A. 2000. Trace analysis of estrogenic chemicals in sewage effluent using liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Sp.* 14, 400-407.
- Lai K. M., Johnson K.L., Scrimshaw M.D., Lester J.N. 2000. Binding of waterborne steroid estrogens to solids phase in river and estuarine systems. *Environmental Science and Technology*. 34, 3890-3894.
- Lai K. M., Scrimshaw M. D., Lester J. N. 2002. Biotransformation and bioconcentration of steroid estrogens by *Chlorella vulgaris*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 859–864.
- Larsson D.G. J., Adolfsson-Erici M., Parkkonen J., Pettersson M., Berg A.H., Olsson P-E. Forlin L. 1999. Ethinylestradiol- An undesired fish contraceptive?. *Aquatic Toxicology*. 45, 91-97.
- Lapidou C.S., Rittmann B.E. 2002. A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. *Water Research*. 36 (11), 2711–2720.
- Layton A.C., Gregory B.W., Seward J.R., Schultz T.W., Sayler G.S. 2000. Mineralization of Steroidal Hormones by Biosolids in Wastewater Treatment Systems in Tennessee U.S.A. *Environmental Science and Technology*. 34, 3925-3931.
- Le-Clech P., Chen V., Fane A.G. 2006. Fouling in membrane bioreactors used for wastewater treatment – A review. *Journal of Membrane Science*, 284: 17-53.
- Lee H.B., Liu D. 2002. Degradation of 17 β -Estradiol and its Metabolites by Sewage Bacteria. *Wat. Air Soil Poll.* 134, 351-366.
- Lee J., Lee B.C., Ra J.S., Cho J., Kim I.S., Chang N.I., Kim H.K., Kim S.D. 2008. Comparison of the removal efficiency of endocrine disrupting compounds in pilot scale sewage treatment processes. *Chemosphere*. 71, 1582-1592.
- Lee W., Kang S., Shin H. 2003. Sludge characteristics and their contribution to microfiltration in submerged membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science*. 216 (1–2), 217–227.
- Lesjean B., Rosenberger S., Laabs C., Jekel M., Gnirss R., Amy G. 2004. Correlation between membrana fouling and soluble/colloidal organic substances in membrana bio-reactors for municipal wastewater treatment. *Memories work*. Korea Seul 2004.
- Leusch F.D.L., Chapman H.F., Körner W., Gooneratne S.R., Tremblay L.A. 2005a. Efficacy of an advanced biological nutrient removal plant in Queensland (Australia) to remove estrogenic chemicals. *Environmental Science and Technology*. 39, 5781-5786.
- Liang S., Liu C., Song L. 2007. Soluble microbial products in membrane bioreactor operation: behaviors, characteristics, and fouling potential. *Water Research*. 41 (1), 95–101.
- Liao B.Q., Allen D.G., Droppo I.G., Leppard G.G., Liss S.N. 2001. Surface properties of activated sludge and their role in bioflocculation and settleability. *Water Research*. 35, 339.

- Liehr J.G., Ricci M.J. 1996. 4-Hydroxylation of estrogens as marker of human mammary tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93, 3294–3296.
- Linda S.L., Troy J.S., Ajit K.S., P. Suresh C.R. 2003. Sorption and dissipation of testosterone, estrogens, and their primary transformation products in soils and sediment. *Environmental Science and Technology.* 37, 4098-4105.
- Lintelmann J., Katayama A., Kurihara N., Shore L., Wenzel A. 2003. Endocrine disruptors in the environment (IUPAC technical report). *Pure Applic. Chemistry.* 75 (5), 631–681.
- Liss S.N. 2002. Microbial flocs suspended biofilms. *In the Encyclopedia of Environmental Microbiology.* Bitton G. Ed. Wiley & Sons. New York. 4, 2000-2012.
- Liss S.N., Droppo I.G., Flannigan D.T. Leppard G.G. 1996. Floc architecture in wastewater and natural riverine systems. *Environmental Science and Technology.* 30, 680.
- Liu Ze-hua, Kanjo Yoshinori, Mizutani Satoshi 2008. Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewater treatment — physical means, biodegradation, and chemical advanced oxidation: A review. *Science of the Total Environmental.* 1-18.
- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. 2000. *Brock Biology of Microorganisms*, 9th ed., Prentice-Hall, Upper Saddle River, N.J.
- Maeda M., Chung S.Y., Song E., Kudo T. 1995. Multiple genes encoding 2,3-dihydroxybiphenyl 1,2-dioxygenase in the gram-positive polychlorinated biphenyl-degrading bacterium *Rhodococcus erythropolis* TA421, isolated from a termite ecosystem. *Applied. Environmental and Microbiology.* 61, 549-555.
- Mann Stephen 2001. *Biomineralization: Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*, Oxford University Press, Reino Unido.
- Martucci C.P., Fishman J. 1993. P450 enzymes of estrogen metabolism. *Pharmacol Ther.* 57, 237–257.
- Mason R.P., Reinfelder J.R., Morel M.M. 1996. Uptake, toxicity and trophic transfer of mercury in a coastal diatom. *Environmental Science and Technology*, 30: 1835-1845.
- Masse A., Sperandio M., Cabassud C. 2006. Comparison of sludge characteristics and performance of a submerged membrane bioreactor and an activated sludge process at high solids retention time. *Water Research.* 40 (12), 2405–2415.
- Mastrup M., Jensen R.L., Schäfer A.I., Khan S. 2001. Recent advances in water recycling technologies. *Brisbane*, Australia. 103-112.
- Masunaga S., Itazawa S.T., Furuichi T., Sunardi., Villeneuve D.L., Kanan K., Giesy J.P., Nakanish J. 2000. Occurrence of estrogenic activity and estrogenic compounds in the Tama river, Japan. *Environmental Science and Technology.* 7, 101-117.
- Matsui S., Takigami H., Matsuda T., Taniguchi N., Adachi J., Kawami H., Shimizu Y. 2000. Estrogen and estrogen mimics contamination in water and the role of sewage treatment. *Water Science and Technology.* 42 (12), 173-179.
- Mendes J. J. A. 2002. The Endocrine Disruptors: A Major Medical Challenge. *Food and Chemical Toxicology.* 40(6), 781-788.
- Meng F., Chae S.R, Drews A., Kraume M., Shin H.S., Yang F. 2009. Recent advances in membrane bioreactors (MBRs): Membrane fouling and membrane material. *Water Research.* 1-24.
- Metcaf, Eddy. 2003. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. Fourth edition. McGraw Hill. New York.
- Metcalfe C.D., Metcalfe T.L., Kiparissis Y., Koenig B.G., Khan C., Hughes R.J., Croley T.R., March R.E., Potter T. 2001. Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry.* 20, 297-308.
- Metzler M. 2001. Endocrine Disruptors Part I. *The Handbook of Environmental Chemistry*, Vol. 3: Anthropogenic Compounds, Part L. Springer-Verlag: Berlin, Germany.

- Miles-Richardson S.R., Pierens S.L., Nichols K.M., Kramer V.J., Snyder E.M., Snyder S.A., Render J.A., Fitzgerald S.D., Giesy J.P. 1999. Effects of waterborne exposure to 4-nonylphenol and nonylphenol ethoxylate on secondary sex characteristics and gonads of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environmental Res. Sect.* 80, S122-S137.
- Miller J. 1993. Statistics for analytical chemistry, second edition. *Ellis-Horwood series in analytical chemistry*.
- Mosconi G., Carnevali O., Franzoni M.F., Cottone E., Lutz I., Kloas W., Yamamoto K., Kikuyama S., Polzonetti-Magni A.M. 2002. Environmental estrogens and reproductive biology in amphibians. *General and Comparative Endocrinology*. 126 (2), 125-129.
- Mouatassim-Souali A. 2003. Validation of a quantitative assay using GC/MS for trace determination of free and conjugated estrogens in environmental water samples. *J. Sep Science*. 26, 105-111.
- Mukai T., Takimoto K., Kohno T., Okada M. 1999. Ultrafiltration behaviour of extracellular and metabolic products in activated sludge system with UF separation process. *Water Research*. 34, 902.
- Murk, A.J., Legler, J., Marola, M.H., Lipzig, M.M.H., Meerman, J.H.N., Belfroid, A.C., Spenkeliink, A., Burg, B., Rijs, G.B.J., Nagaoka H., Kono S., Yamanishi S., Miya A. 2000. Influence of organic loading on membrane fouling in membrane separation activated sludge process. *Water Science and Technology*. 41, 497.
- Nagaoka H., Ueda S., Miya A. 1996. Influence of extracellular polymers on the membrane separation activated sludge process. *Water Science and Technology*. 34, 165.
- Nagaoka H., Yamanishi S., Miya A. 1998. Modeling of biofouling by extracellular polymers in membrane separation activated sludge system. *Water Science and Technology*. 38, 497.
- Nasu M., Goto M., Kato H., Oshima Y., Tanaka H. 2001. Study on endocrine disrupting chemicals in wastewater treatment plants. *Water Science and Technology*. 43, 101-108.
- Netzeva T., Gallegos S. A., Worth A. 2006. Comparison of the applicability domain of a quantitative structure-activity relationship for estrogenicity with a large chemical inventory. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25, 1223-1230.
- Nghiem L.D., Schäfer A. I., Waite T.D. 2002. Adsorptive interactions between membranes and trace contaminants. *Desalination*. 147(1-3), 269-274.
- Nishihara T., Nishikawa J.I., Kanayama T., Dakeyama F., Saito K., Imagawa M. 2000. Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay. *Journal of Health Science*. 46, 282-98.
- Nohynek L. J., Nurmiäho-Lassila E. L., Suhonen E. L., Busse H. J., Mohammadi M., Hantula J., Rainey F., Salkinoja-Salonen M. S. 1996. Description of chlorophenol-degrading *Pseudomonas* sp. strains KF1T, KF3, and NKF1 as a new species of the genus *Sphingomonas*, *Sphingomonas subarctica* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46, 1042-1055.
- Ogawa H., Kitamura H., Miyata N. 2005. Biodegradation of endocrine disrupting chemicals in aerobic and anaerobic sludges. *Jpn Journal Water Treatment Biology*. 41, 83-92 (in Japanese).
- Ognier S., Wisniewski C., Grasmick A. 2002. Membrane fouling during constant flux filtration in membrane bioreactors, Membrane technology. *Membrane Technology*. 7, 6-10.
- Olea N., Fernández M.F., Rivas E. (2000). Evaluación de la disrupción endocrina. En: De la Peña E, Gómez E, editores. Evaluación toxicológica de los plaguicidas y la sanidad ambiental. Murcia: Monografía SESA/AET. 89-97.
- Orantes J.C., Wisniewski C., Lobos J., Héran M., Grasmick A. 2006. Bioreactores a membranas sumergidas, operados en condiciones de retención total de sólidos. 2º Foro nacional de Ingenierías y Arquitectura. 6-8 Diciembre. Morelia, Michoacan, México
- Palace V., Wautier K., Evans R., Blanchfield P., Mills K., Chalanchuk S., Godard D., McMaster M., Tetreault G. Peters L., Vandenbyllaardt L., Kidd A. 2006. Biochemical and histopathological effects in pearl dace (*margariscus margarita*) chronically exposed to a synthetic estrogen in a whole lake experiment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 1114-1125.

- Panter G.H, Thompson R.S., Beresford N., Sumpter J.P. 1999. Transformation of a non-oestrogenic steroid metabolite to an oestrogenically active substance by minimal bacterial activity. *Chemosphere*. 38, 3579-3596.
- Pauwels B., Wille K., Noope H., De Brabander H., Van de Wiele T., Verstraete W., Boon N. 2008. 17α -ethinylestradiol cometabolism by bacteria degrading estrone, 17β -estradiol and estriol. *Biodegradation*. 19(5), 683-693.
- Pentreath R. J. 1997. The identification and assessment of oestrogenic substances in sewage treatment works effluents. *Environment Agency*, London, United Kingdom. R. J., 39.
- Peñalver A., Pocurull E., Borrull F., Marcé R.M. 2002. Solid phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography to determine phenolic compounds in water samples. *Journal of Chromatography A*. 953, 79–87.
- Pflugmacher S., Wiencke C., Desbrow C., Brighty G.C., Waldock M., Sumpter, J.P. 1999. Activity of phase I and phase II detoxication enzymes in Antarctic and Arctic macroalga. *Marine Environmental Research*. 48, 23-36.
- Pholchan P., Jones M., Donnelly T., Sallis P.J. 2008. Fate of Estrogens during the Biological Treatment of Synthetic Wastewater in a Nitrite-Accumulating Sequencing Batch Reactor. *Environmental Science and Technology*. 42 (16), 6141–6147.
- Pitter P., Chudoba J. 1990. Biodegradability of organic substances in the aquatic environment. CRC Press (1990) U.S.A.
- Pollice A., Brookes A., Jefferson B., Judd S. 2005. Subcritical flux fouling in membrane bioreactors – a review of recent literature. *Desalination*. 174 (3), 221-230.
- Poseidon, 2005. POSEIDON-Final Report, <http://www.eu-poseidon.com>
- Purdom C.E., Hardiman P.A., Bye V.J., ENo N.C., Tyler C.R., Sumpter J.P. 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chemistry and Ecology*. 8, 275-285.
- Radjenovic J., Petrovic M., Barcelo D. 2009. Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. *Water Research*. 43, 831-841.
- Rajapakse N., Silva E., Kortenkamp A. 2002. Combining xenoestrogens at level below individual no-observed-effect concentrations dramatically enhances steroid hormone action. *Environmental Health Perspetive*. 110, 917.
- Reif R., Suárez S., Omil F., Lema J.M. 2008. Fate of pharmaceuticals and cosmetic ingredients during the operation of a MBR treating sewage. *Desalination*. 221, 511–517
- Ren Y.X., Kazunori N., Munehiro N., Chiba N. 2007. Effects of bacterial activity on estrogen removal in nitrifying activated sludge. *Water Research*. 41, 3089–96.
- Ren Y.X., Kazunori N., Munehiro N., Chiba N., Nishimura O. 2007. A thermodynamic analysis on adsorption of estrogens in activated sludge process. *Water Research*. 41, 2341-2348.
- Robert F.C., Rominder P.S.S., Fu H.X. 2007. Free synthetic and natural estrogen hormones in influent and effluent of three municipal wastewater treatment plants. *Water Environmental Research*. 79, 969–74.
- Rodgers-Gray T. P., Jobling S., Morris S., Kelly C., Kirby S., Janbakhsh A., Harries J. E., Waldock M. J., Sumpter J. P., Tyler C. R. 2000. Long-Term Temporal Changes in the Estrogenic Composition of Treated Sewage Effluent and Its Biological Effects on Fish. *Environmental Science and Technology*. 34 (8), 1521-1528.
- Roorda J.H., van der Graaf J.H.J.M. 2000. Understanding membrane fouling in ultrafiltration of WWTP-effluent. *Water Science and Technology*. 41, 345.
- Rosenberger S., Laabs C., Lesjean B., Gnirss R., Amy G., Jekel M., Schrotter J.C. 2006. Impact of colloidal and soluble organic material on membrane performance in membrane bioreactors for municipal wastewater treatment. *Water Research*. 40 (4), 710–720.

- Roslev P., Madsen P. L., Thyme J. B., Henriksen K. 1998. Degradation of phthalate and di-(2-ethylhexyl)phthalate by indigenous and inoculated microorganisms in sludge-amended soil. *Applied Environmental Microbiology*. 64, 4711–4719.
- Routledge E. J., Waldock M., Sumpter J. P. 1999. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environmental Science and Technology*. 33, 371.
- Routledge E.J., Sheahan D.A., Desbrow C., Brighty G.C., Waldock M., Sumpter J.P. 1998. Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 2. In Vivo Responses in Trout and Roach. *Environmental Science and Technology*. 32, 1559-1565.
- Rutishauser B.V., Pesonen M., Escher B.I., Ackermann G.E., Aerni H.R., Suter M.J.F. 2004. Comparative analysis of estrogenic activity in sewage treatment plant effluents involving three in vitro assays and chemicals analysis of steroids. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23, 857–64.
- Safe S.H. 2000. Endocrine disruptors and human health-is there a problem? *Environmental Health Perspective*. 108 (6), 487-493.
- Scholz W., Fuchs W. 2002. Treatment of oil contaminated wastewater in a membrane bio-reactor. *Water Research*. 34 (14), 3621-3629.
- Sedlak D. L., Gray J. L., Pinkston K. E. 2000. Understanding Microcontaminants in Recycled Water. *Environmental Science and Technology*. 34 (23), 508-515.
- Segner H. K., Carroll K., Fenske M., Janssen C.R., Maak G., Pascoe D., Schäfers C., Vandenberg G. F., Watts M., Wenzel A. 2001. Identification of endocrine disrupting effects in aquatic organisms. *14th International Congress of Comparative Endocrinology*. May 26-30, Sorrento (Napoli).
- Servos M.R., Bennie D.T., Burnison B.K., Jurkovic A., McInnis R., Neheli T. (2005). Distribution of estrogens, 17 β -estradiol and estrone, in Canadian municipal wastewater treatment plants. *Science Total Environmental*. 336, 155–70.
- Shafer A. I., Waite T. D. 2002. Removal of Endocrine Disrupters in Advanced Treatment. The Australian Approach. *International Water Association*. 37-48.
- Shafer A.I., Mastrup M., Jensen R.L. 2002. Particle interactions and removal of trace contaminants from water and wastewaters. *Desalination*. 147, 243–250.
- Sheenan D. A., Brighty G.C., Danie M., Jobling S., Harries J.E., Hurst M.R., Kennedy J., Kirby S.J., Morris S., Routledge E.J., Sumpter J.P., Waldock M.J. 2002. Reduction in the estrogenic activity of a treated sewage effluent discharge to an English river as a result of a decrease in the concentration of industrially derived surfactants. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21, 515-519.
- Shi J. H., Suzuki Y., Lee B.-D., Nakai S., Hosomi M. 2002. Isolation and characterization of the ethynylestradiol-biodegrading microorganism *Fusarium proliferatum* strain HNS-1. *Water Science and Technology*. 45, 175–179.
- Shi J., Fujisawa S., Nakai S., Hosomi M. 2004. Biodegradation of natural and synthetic estrogens by nitrifying activated sludge and ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea*. *Water Research*. 38, 2323-2330.
- Smith P., Vigneswaran S., Ngo H., Ben-Aim R., Nguyen H. 2006. A new approach to backwash initiation in membrane systems. *Journal Membrane Science*. 278, 381-389.
- Snyder S. A., Snyder E., Villeneuve D., Kurunthachalam K., Villalobos A., Blankenship A., Giesy J. 2000. Instrumental and Bioanalytical Measures of Endocrine Disruptors in Water. *In ACS*: 73-95.
- Snyder S.A., Villeneuve D.L., Snyder E.M., Giesy J.P. 2001. Identification and quantification of estrogen receptor agonists in wastewater effluents. *Environmental Science and Technology*. 35 (18), 3620–3625.

- Snyder Shane A., Samer Adham, Adam M. Redding, Fred S. Cannon, James DeCarolis, Joan Oppenheimer, Eric C. Wert, Yeomin Yoon 2006. Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals. *Desalination*. 202, 156–181.
- Sohoni P., Tyler C.R., Hurd K., Caunter J., Hetheridge M., Williams T., Woods C., Evans M., Toy R., Gargas M., Sumpter J. P. 2001 Reproductive effects of long-term exposure to Bisphenol-A in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Science and Technology*. 35, 2917-2925.
- Solé M., López de Alda M.J., Castillo M., Porte C., Ladegaard-Pedersen K., Barceló D. 2000. Estrogenicity Determination in Sewage Treatment Plants and Surface Waters from the Catalanian Area (NE Spain). *Environmental Science and Technology*. 34, 5076-5083.
- Solé M., Porte C., Barceló D. 2001. Analysis of the estrogenic activity of sewage treatment works and receiving waters using vitellogenin induction in fish as a biomarker. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 20 (9), 518-525.
- Soto A. M., Sonnenschein C., Chung K.L., Fernandez M.F., Olea N., Serrano F.O. 1995. The E-screen assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environmental Health Perspective*. 103 (7), 113-122.
- Spengler P., Körner W., Metzger J.W. 2001. Substances with estrogenic activity in effluents of sewage treatment plants in southwestern Germany. 1. Chemical analysis. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20 (10), 2133-2141.
- Stephenson T.K., Brindle S.J., B. Jefferson 2000. Membrane bio-reactor for wastewater treatment. London UK: *IWA Publishing*.
- Stumm-Zollinger E., Fair G.M. 1965. Biodegradation of steroid hormones. *Journal Pollution Control Federation*. 37(11), 1506-1510.
- Stumpf M., Ternes T.A., liaberer K., Baumann W. 1996. Determination of natural and synthetic estrogens in sewage plants and river water. *Vom Wasser*. 87, 251-261.
- Suarez S., Lema J.M., Omil F. 2010. Removal of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions. *Water Research*. 44, 3214-3224
- Suidan M. T., Esperanza M., Zein M., McCauley P., Brenner R. C., Venosa A. D. 2005. Challenges in Biodegradation of Trace Organic Contaminants—Gasoline Oxygenates and Sex Hormones. *Water Environmental Research*. 77 (1), 4-11.
- Sumpter J.P. 1995. Feminized responses in fish to environmental estrogens. *Toxicology Letter*. 82-83, 737-742.
- Sumpter J.P., Jobling S. 1995. Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment. *Environmental Health Perspective*. 103, 173-178.
- Sun D.D., Khor S.L., Hay C.T., Leckie J.O. 2007. Impact of prolonged sludge retention time on the performance of a submerged membrane bioreactor. *Desalination*. 208, 101-112.
- Suzuki Y., Maruyama T. 2006. Fate of natural estrogens in batch mixing experiments using municipal sewage and activated sludge. *Water Research*. 40, 1061-1069.
- Svenson A., Allard A.S., Ek M. (2003). Removal of estrogenicity in Swedish municipal sewage treatment plants. *Water Research*. 37, 4433–43.
- Tabak H.R., Bloomhuff R.N., Bunch R.L. 1981. Steroid Hormones as Water Pollutants II. Studies on the Persistence and Stability of Natural Urinary and Synthetic Ovulation-Inhibiting Hormones in Untreated and Treated Wastewaters. *Dev. Ind. Microbiol*. 22, 497-519.
- Takeo M., Yasukawa T., Abe Y., Niihara S., Maeda Y, Negoro S. 2003. Cloning and characterization of a 4-nitrophenol hydroxylase gene cluster from *Rhodococcus* sp. PN1. *J. Biosci. Bioeng*. 95, 139–145.
- Tan B.L. 2006. Chemical and biological analyses of selected endocrine disruptors in wastewater treatment plants in south east Queensland, Australia. *Doctor dissertation*. Griffith University, Queensland, Australia.

- Tanaka H., Yakou Y., Takahashi A., Higashitani T., Komori K. (2001). Comparison between estrogenicities estimated from DNA recombinant yeast assay and from chemical analyses of endocrine disruptors during sewage treatment. *Water Science and Technology*. 43(2), 125-132.
- Taniguchi M., Kildruff J.E., Belfort G. 2003. Modes of natural organic matter fouling during filtration. *Environmental Science and Technology*. 37, 1676.
- Tardieu E., Grasmick A., Geaugey V., Manem J. 1996. Fouling mechanisms in membrane separation bio-reactor applied to wastewater treatment. *Proceedings of the 7th World Filtration Congress*. Budapest, Hungary. May. 20-23.
- Tardieu E., Grasmick A., Geaugey V., Manem J. 1998. Hydrodynamic control of bioparticle deposition in a MBR applied to wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*. 156, 131.
- Tay J.H., Zeng J.L., Sun D.D. 2003. Effects of hydraulic retention time on system performance of a submerged membrane bioreactor. *Sep. Sci. Technol.* 38 (4), 851–868.
- Ternes T.A., Andersen H.R., Gilberg D., Bonerz M. 2002. Determination of estrogens in sludge and sediments by liquid extraction and GC/MS/MS. *Analytical Chemistry*, 74: 3498-3505.
- Ternes T.A., Kreckel P., Mueller J. 1999b. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants- II. Aerobic batch experiments with activate sludge. *Science Total Environmental*. 225, 91-99.
- Ternes T.A., Meisenheimer M., McDowell D., Sancher F., Brauch H.J., Haiste-Gulde B., Preuss G., Wilme U., Zulei-Seibert N. 2002. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environmental Science and Technology*. 36, 3855-3863.
- Ternes T.A., Stumpf M., Mueller J., Haberer K., Wilken R.D., Sevos M. 1999a. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants- I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Science Total Environmental*. 225, 91-99.
- Ternes, T.A., Herrmann, N., Bonerz, M., Knacker, T., Siegrist, H., Joss, A., 2004. *A rapid method to measure the solid–water distribution coefficient (Kd) for pharmaceuticals and musk fragrances in sewage sludge*. *Water Research*. 38 (19), 4075–4084.
- Thorpe K. L., Cummings R. I., Hutchinson T. H., Scholze M., Brighty G., Sumpter J. P., Tyler C. R. 2003. Relative potencies and combination effects of steroidal estrogens in fish. *Environmental Science and Technology*, 37: 1142-1149.
- Thorpe K. L., Hutchinson T. J., Hetheridge M. J., Scholze M., Sumpter J. P., Tyler C. R. 2001. Assessing the biological potency of binary mixtures of environmental estrogens using vitellogenin induction in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Science and Technology*. 35, 2476-2481.
- Till S., Mallia H. 2001. Membrane bio-reactors: wastewater treatment applications to achieve high quality effluent. *Bendigo*.
- Tolls J. 2001. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review. *Environmental Science and Technology*. 35, 3397–3406.
- Toppari J., Larsen J. C., Christiansen P., Giwercman A., Grandjean P., Guillette Jr., L. J., Jégou B., Jensen T. K., Jouannet P., Keiding N., Leffers H., McLachlan J. A., Meyer O., Müller J., Rajpert-De Meyts E., Scheike T., Sharpe R., Sumpter J., Skakkebaek N. E. 1996. Male Reproductive Health and Environmental Xenoestrogens. *Environmental Health Perspectives*. 104 (S4), 741-803.
- Trussell R.S., Adham S., Trussell R.R. 2005. Process limits of municipal wastewater treatment with the submerged membrane bio-reactor. *Journal of Environmental Engineering*. 410-416.
- Trussell R.S., Merlo R.P., Hermanowicz S.W., Jenkins D. 2007. Influence of mixed liquor properties and aeration intensity on membrane fouling in a submerged membrane bioreactor at high mixed liquor suspended solids concentrations. *Water Research*. 41 (5), 947–958.
- Tyler C.R., Routledge E.J. 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment - Oestrogenic effects in fish in English rivers with evidence of their causation. *Pure and Applied Chemistry*. 70, 1795-1804.

- United States Environmental Protection Agency. 1997b. *Special report on environmental endocrine disruptions: An effects assessment and analysis*, EPA-630/R-96-012.
- Vader J.S., Ginkel C. Gvan., Stokman F.M., Sperling G.M., Jong Jde., Boer Wed., Graaf J.Sde., Most Mvander., Stokman P.G.W. 2000. Degradation of ethinyl estradiol by nitrifying activated sludge. *Chemosphere*. 41 (8), 1239-1243.
- Van de Roest H.F., Lawrence D.P., Van Bentem A.G.N. 2002. Membrane Bio-reactors for Municipal Wastewater Treatment. STOWA Report. London, UK: *IWA Publishing*.
- Van den Berg G.B., Smolders C.A. 1992. Diffusional phenomena in membrane separation processes. *Journal of Membrane Science*. 73, 103.
- Vargas Alejandro, Moreno-Andrade Ivan, Buitron German. 2008. Controlled backwashing in a membrane sequencing batch reactor used for toxic wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*. 320, 185-190.
- Velagaletti R. R. 1995. *Drug Infor. J.* 250: 565–569.
- Vethaak A.D., Lahr J., Schrap S.M., Belfroid A.C., Rijs G.B., Gerritsen A. 2005. An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of the Netherlands. *Chemosphere*. 59, 511–24.
- Vethaak, D., 2002. Detection of estrogenic potency in wastewater and surface water with three in vitro bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21, 16–23.
- Wang X., Grady C.P.L. 1995. Effects of biosorption and dissolution on the biodegradation of di-*n*-butyl phthalate. *Water Environmental Research*. 67, 863-871
- Wang Y.C., Tang C.Y. 2009. Interaction of endocrine disrupting chemicals with reverse osmosis and nanofiltration membranes. *Proceedings in USB of the 5th IWA Specialised Membrane Technology Conference for Water and Wastewater Treatment*. Beijing P.R.China. 1-3 Septiembre 2009.
- Watanabe K., Aihara H., Tachi N., Nakamura R. 1987. Degradations of 4-cholesten-3-one and 1,4,-androstadiene-3,17-dione by cholesterol-degrading bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 62, 151–155.
- 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.
- Williams C.L., Stancel G.M. 1996. Estrogens and Progestins. *Eds.:Hardman, J. G., Goodman Gilman, A., and Limbird, L. E.* 9.
- Williams R. J., Johnson A. C., Smith J. J. L., Kanda R. 2003. Steroid Estrogens Profiles along River Stretches Arising from Sewage Treatment Works Discharges. *Environmental Science and Technology*. 37 (9), 1744-1750.
- Wisniewski C. 2001. Biofouling in membrane separation bio-reactor: phenomena analysis and modeling. *In proceedings of the International conference on MBR*. Cranfield University. United Kingdom.
- Wu C., Xe W., Huang X. 2009. Removal characteristics of endocrine disrupting chemicals (EDCs) in a large scale membrane bioreactor plant combined with anaerobic-anoxic-oxic process for municipal wastewater reclamation. *Proceedings in USB of the 5th IWA Specialised Membrane Technology Conference for Water and Wastewater Treatment*. Beijing P.R.China. 1-3 Septiembre 2009.
- Xu K., Harper W.F. Jr., Zhao D. 2008. 17 α -Ethinylestradiol sorption to activated sludge biomass: Thermodynamic properties and reaction mechanisms. *Water Research*. 42, 3146-3152.
- Xu P., Drewes J.E., Kim T.-U. 2006. Effect of membrane fouling on transport of organic contaminants in NF/RO membrane applications. *Journal of Membrane Science*. 279, 165.
- Yi, T., Harper W. F. 2007. The link between nitrification and biotransformation of 17 alphaethinylestradiol. *Environmental Science and Technology*. 41(12), 4311-4316.

- Ying G., Kookana R.S. 2005. Sorption and degradation of estrogen-like-endocrine disrupting chemicals in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 24, 2640-2645.
- Ying G.G., Kookana R.S., Ru Y.J. 2002. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. *Environ. Int.* 28, 545-551.
- Yoon J.-H., Cho Y.-G., Kang S.-S., Kim S. B., Lee S. T., Park Y.-H. 2000. *Rhodococcus koreensis* sp. nov., a 2,4-dinitrophenol-degrading bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiology*. 50, 1193–1201.
- Yoon S., Kim H., Yeom I. 2004. The optimum operational condition of membrane bio-reactor (MBR): cost estimation of aeration and sludge treatment. *Water Research*. 38, 37-46.
- Yoon Y., Westerhoff P., Snyder S.A., Wert E.C. 2006. Nanofiltration and ultrafiltration of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products. *Journal Membrane Science*. 270, 88.
- Yoon Y., Westerhoff P., Yoon J., Snyder S.A. 2004. Removal of 17 β -estradiol and fluoranthene by nanofiltration and ultrafiltration. *Journal Environmental Engineering*. ASCE 130 (12), 1460.
- Yoshimoto T., Nagai F., Fujimoto J., Watanabe K., Mizukoshi H., Makino T., Kimura K., Saino H., Sawada H., Omura H. 2004. Degradation of estrogens by *Rhodococcus zopfii* and *Rhodococcus equi* isolates from activated sludge in wastewater treatment plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 70 (9), 5283-5289.
- Yu C.P., Chu K.H. (2007). 17 β -estradiol-degrading bacteria isolated from activated sludge. *Environmental Science and Technology*. 41, 486–92.
- Yu T., Qi R., Li D., Zhang Y., Yang M. 2010. Nitrifier characteristics in submerged membrane bioreactors under different sludge retention times. *Water Research*. 44, 2823-2830.
- Zhang J., Chua H.C., Zhou J., Fane A.G., 2006. Factors affecting the membrane performance in submerged membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science*. 284 (1–2), 54–66.
- Zhou Y., Huang X., Zhou H., Chen J., Xue W. (2009). Removal of typical endocrine disrupting chemicals by membrane bioreactor. *Proceedings in USB of the 5th IWA Specialised Membrane Technology Conference for Water and Wastewater Treatment*. Beijing P.R.China. 1-3 Septiembre 2009.

7. LISTA DE PUBLICACIONES Y MEMORIAS EN CONGRESOS

En revistas internacionales

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(9), 2183-2189.

Estrada-Arriaga E. B., Mijaylova N. P. (2010). Relationship of SRT and HRT on the removal of E1, E2 and EE2 in wastewater by laboratory and pilot-scale MBR. *Environmental Science and Pollution Research*. Aceptada con comentarios.

Estrada-Arriaga E. B., Mijaylova N. P. (2010). Calculation methods to perform mass balance of endocrine disrupting in a membrane bioreactor: Fate of estrogens during the biological treatment. *Water Science and Technology*. Aceptada con comentarios.

En memorias de congresos

Estrada-Arriaga E.B., Mijaylova N. P. (2010). Factores que intervienen en la remoción de tres hormonas disruptoras endocrinas por medio de la tecnología de bioreactores con membranas sumergidas. *XXXII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (AIDIS). Retos ambientales, acciones eficaces para el cumplimiento de las metas del milenio en la búsqueda de la universalización de los servicios*. Punta Cana República Dominicana. Noviembre 7-11 2010.

Yolanda Flores Velázquez, Petia Mijaylova Nacheva, Luís Gerardo Pérez Vicente, Edson Baltazar Estrada Arriaga (2010). Remoción de esteroides estrogénicos y patógenos en aguas residuales municipales mediante un biorreactor aerobio con membranas. *XXXII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (AIDIS). Retos ambientales, acciones eficaces para el cumplimiento de las metas del milenio en la búsqueda de la universalización de los servicios*. Punta Cana República Dominicana. Noviembre 7-11 2010.

Estrada-Arriaga E.B., Mijaylova N. P. (2010). Calculation methods to perform mass balance of estrogens in submerged membrane bioreactor. *Proceedings in CD of the 2st IWA Mexico National Young Water Professionals Conferences*. Querétaro México. Abril 9-11 2010.

Flores Y., Mijaylova P., Pérez L.G. and Estrada E. (2010). Remoción de esteroides estrogénicos en aguas residuales municipales mediante un biorreactor aerobio con membranas sumergidas. *Proceedings in CD of the 2st IWA Mexico National Young Water Professionals Conferences*. Querétaro México. Abril 9-11 2010.

Estrada Arriaga Edson Baltazar (2009). Remoción de hormonas presentes en aguas residuales mediante un biorreactor con membranas. *Primer encuentro de egresados del programa de maestría y doctorado en Ingeniería ambiental de la UNAM*. Jiutepec Morelos. 26 de Noviembre 2009.

Estrada-Arriaga Edson, Mijaylova N. P., Flores V. Y. and Pérez V. L. (2009). Removal of endocrine disrupting hormones present in the wastewater from Mexico City by submerged membrane bioreactor. *Proceedings in USB of the 5th IWA Specialised Membrane Technology Conference for Water and Wastewater Treatment*. Beijing P.R.China. 1-3 Septiembre 2009.

Estrada-Arriaga Edson Baltazar and Petia Mijaylova Nacheva (2009). Effects of biomass retention and of nitrification on the removal of the estrone, estradiol and ethinylestradiol in membrane bioreactors. *Proceedings in USB of the 5th IWA Specialised Membrane Technology Conference for Water and Wastewater Treatment*. Beijing P.R.China. 1-3 Septiembre 2009.

Edson Baltazar Estrada Arriaga, Petia Mijaylova Nacheva, Yolanda Flores Velázquez and Luís G. Pérez Vicente. Removal of estrogens hormones present in the wastewater from Mexico City by membrane bioreactor process (2009). *Proceedings in CD of the 1er Congreso Nacional de Membranas: Ciencia, tecnología y aplicaciones*. México D.F. 23-24 Abril 2009.

Estrada Arriaga Edson Baltazar y Petia Mijaylova Nacheva. Remoción de hormonas en aguas residuales municipales mediante un biorreactor aerobio con membranas (2008). *XXXI Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (AIDIS). 1 Foro Interamericano sobre Servicios de Agua y Saneamiento*. Santiago de Chile. Octubre 12-15 2008.

Estrada Arriaga Edson Baltazar and Mijaylova Nacheva Petia (2008). Fate of natural and synthetic steroid estrogens in membrane bioreactor (MBR). *Proceedings in CD of the 1st IWA Mexico National Young Water Professionals Conferences*. Mexico City. Abril 9-11 2008.

Estrada Arriaga Edson Baltazar y Mijaylova Nacheva Petia (2008). Presencia de compuestos disruptores endocrinos (estrógenos esteroides) en aguas residuales, un nuevo reto para el tratamiento de aguas residuales municipales en México. *XVI Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales*. México D.F. Abril 21-26 2008.