



Incidencia de la fase hidrolítica/acidogénica y la ruta completa de la digestión anaerobia en la degradación de compuestos farmacéuticos y de cuidado personal

Jennifer Arcila Sáenz

Tesis de maestría presentada para optar al título de Magíster en Ingeniería Ambiental

Director

Gustavo Antonio Peñuela Mesa

Yudy Andrea Londoño Cañas

Universidad de Antioquia
Facultad de Ingeniería
Maestría en Ingeniería Ambiental
Medellín, Antioquia, Colombia
2023

Cita	(Arcila, 2023)
Referencia	Arcila. J. (2023). <i>Incidencia de la fase hidrolítica/acidogénica y la ruta completa de la digestión anaerobia en la degradación de compuestos farmacéuticos y de cuidado personal</i> [Tesis de maestría]. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
Estilo APA 7 (2020)	



Maestría en Ingeniería Ambiental

Grupo de Investigación Diagnóstico y Control de la Contaminación

Centro de Investigación Ambientales y de Ingeniería (CIA).



Centro de Documentación de Ingeniería (CENDOI)

Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por su paciencia y apoyo incondicional. A la profesora Andrea Londoño por brindarme su apoyo, enseñanzas y conocimientos durante este largo proceso. Al profesor Gustavo Peñuela por su acompañamiento y enseñanzas durante todo este periodo de formación y estancia en el grupo de investigación. Al grupo GDCON y a la vicerrectoría de investigación por la financiación de este trabajo.

PUBLICACIÓN

Artículos sometidos

Arcila-Saenz, J., Hincapié-Mejía, G., Londoño, Y. A. and Peñuela, G. A. Role of the hydrolytic-acidogenic phase on the removal of bisphenol A and sildenafil during anaerobic treatment. En la revista “Environmental Monitoring and Assessment”.

CONGRESO INTERNACIONAL

Jennifer Arcila Saenz; Yudy Andrea Londoño; Gustavo Peñuela Mesa (2022). Evaluación de la incidencia de las fases de la digestión anaerobia en la degradación de bisfenol A y sildenafil. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas CLICAP 2022- San Rafael, Mendoza- Argentina. ISBN: 978-987-46333-3-0. (Exposición Oral).

CONTENIDO

Lista de Tablas.....	6
Lista de Figuras.	7
RESUMEN.....	10
1 INTRODUCCIÓN.....	12
2 MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.	14
2.1 PRODUCTOS FARMACEUTICOS Y DE CUIDADO PERSONAL (PPCPs). 14	
2.1.1 Clasificación.....	15
2.1.2 Selección de PPCPs.....	16
2.1.3 Propiedades fisicoquímicas.	18
2.1.4 Ocurrencia, efectos y preocupaciones relacionadas con la emisión de PPCPs en el ambiente.....	21
2.2 TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES CON RESIDUOS DE PPCPs.	23
2.2.1 Mecanismos de remoción de PPCPs en las plantas de tratamiento de aguas residuales convencionales (PTARs).....	25
2.2.2 Tratamiento anaerobio de PPCPs.....	26
2.2.3 Etapas de la digestión anaerobia.	27
2.2.4 Uso de tratamientos anaerobios para la remoción de PPCPs.....	28
2.3 REACTOR ANAEROBIO EGSB (EXPANDED GRANULAR SLUDGE BED).	29
2.3.1 Parámetros de control.....	30
2.3.2 Coeficientes biocinéticos.....	32
2.4 Objetivos.	37
2.4.1 Objetivo general.	37
2.4.2 Objetivos específicos.....	37
3 PRUEBAS POR LOTES: EVALUACIÓN DE MECANISMOS DE REMOCIÓN	37
3.1 MATERIALES Y MÉTODOS.	37

3.1.1	Evaluación de mecanismos de remoción del BPA y SDF.	37
3.1.2	Pruebas de hidrólisis en el almidón.....	41
3.2	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
3.2.1	Evaluación de mecanismos de remoción del BPA y SDF.	44
3.2.2	Evaluación de la hidrólisis enzimática como alternativa de pretratamiento.	54
3.2.3	Evaluación de la hidrólisis mediante la variación del pH.	55
3.3	CONCLUSIONES.	56
4	PRUEBAS EN CONTINUO CON SISTEMAS ANAEROBIOS EGSB.	57
4.1	MATERIALES Y MÉTODOS.	57
4.1.1	Montaje de los sistemas EGSB.	57
4.1.2	Arranque experimental de los sistemas EGSB.....	58
4.1.3	Estrategia operacional.	59
4.1.4	Preparación del agua residual.....	61
4.1.5	Métodos analíticos.....	62
4.2	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	69
4.2.1	Parámetros de monitoreo y control.	69
4.2.2	Rendimiento del sistema EGSB metanogénico.....	71
4.2.3	Rendimiento del sistema EGSB hidrolítico/acidogénico	79
4.3	CONCLUSIONES.	83
5	ANÁLISIS DE LA BIOMASA.....	84
5.1	MATERIALES Y MÉTODOS.	84
5.1.1	Inóculo.....	84
5.1.2	Análisis de la fase sólida	85
5.2	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	86
5.2.1	Caracterización del inóculo empleado en la experimentación.	86
5.2.2	Análisis de la variación de las características físicas de la biomasa granular a través de las etapas de operación en el sistema EGSB metanogénico y EGSB hidrolítico/acidogénico	90

5.3	CONCLUSIONES.	95
6	REFERENCIAS.	96

Lista de Tablas.

Tabla 1.	Principales clases de PPCPs	15
Tabla 2.	Estructura y propiedades fisicoquímicas de los PPCPs de estudio.	19
Tabla 3.	Reportes de ocurrencia de BPA y SDF en agua residual, superficial y tratada	23
Tabla 4.	Diseño experimental para ensayos en batch con biomasa metanogénica e hidrolítica/acidogénica.....	40
Tabla 5.	Calibrado del método almidón-yodo.	42
Tabla 6.	Condiciones para las pruebas de hidrólisis enzimática	43
Tabla 7.	Características físicas del lodo empleado en las pruebas por lotes	44
Tabla 8.	Concentración de almidón obtenida después de someter las muestras a tres aumentos de la enzima α -amilasa con un tiempo de reacción de dos horas.....	55
Tabla 9.	Concentraciones obtenidas en la prueba de hidrólisis por pH con un tiempo de reacción de dos horas.....	56
Tabla 10.	Estrategia operacional para la evaluación de la degradación de los PPCPs bajo la ruta completa.	59
Tabla 11.	Estrategia operacional para la evaluación de la degradación de los PPCPs bajo condiciones hidrolíticas.	60
Tabla 12.	Estrategia de muestreo y recolección de datos durante la operación de los reactores.....	61
Tabla 13.	Parámetros operacionales seleccionados para el control de los sistemas EGSB	69
Tabla 14.	Coefficientes biocinéticos de sistemas anaerobios empleando el modelo basado en la cinética de Monod.....	76
Tabla 15.	Caracterización inicial de la biomasa (inóculo) empleada en la experimentación	87
Tabla 16.	Clasificación del IVL de acuerdo con el grado de sedimentabilidad del lodo	88

Lista de Figuras.

Figura 1 Algunas fuentes y destinos de los PPCPs en el ambiente acuático.....	20
Figura 2 Número de publicaciones científicas enfocadas en el uso de tratamientos anaerobios para la remoción de PPCPs de las aguas residuales.....	29
Figura 3 Montaje experimental para los ensayos anaerobios en batch.....	39
Figura 4 Curva de calibración del método yodo/almidón para las pruebas de hidrólisis.	42
Figura 5 Montaje experimental de las pruebas de hidrólisis enzimática.....	43
Figura 6 Montaje experimental para las pruebas del efecto del pH en la hidrólisis.....	43
Figura 7 Comportamiento del pH en el control y las muestras con el inóculo H/A en el último día del experimento.....	44
Figura 8 Comportamiento del pH en el control y las muestras con el inóculo MET en el último día del experimento.....	45
Figura 9 Concentración de AGVs en el control y en las muestras con inóculo H/A en el último día del experimento. Ácido Hac: Acético, HPr: Propiónico, i-BA: Iso-butírico, n-BA: Butírico, i-VA: Iso-valérico, n-VA Valérico.....	45
Figura 10 Concentración de AGVs en el control y en las muestras con inóculo MET en el último día del experimento. Ácido Hac: Acético, HPr: Propiónico, i-BA: Iso-butírico, n-BA: Butírico, i-VA: Iso-valérico, n-VA Valérico.....	46
Figura 11 Comportamiento de la concentración de BPA para blancos y muestras con inóculo H/A.....	48
Figura 12 Comportamiento de la concentración de BPA para blancos y muestras con inóculo MET.....	49
Figura 13 Comportamiento de la concentración de SDF para blancos y muestras con inóculo H/A.....	50
Figura 14 Comportamiento de la concentración de SDF para blancos y muestras con inóculo MET.....	51
Figura 15 Remoción de BPA y SDF después del tratamiento con inóculo H/A y MET.....	52
Figura 16 Gráfico de prueba de rangos múltiples para experimentos con BPA y SDF.....	53
Figura 17 a) Gráfico de efectos principales. b) Diagrama de Pareto para porcentaje de remoción (%).	54
Figura 18 a) Imagen del reactor EGSB empleado en este estudio y b) Esquema del sistema EGSB con alimentación y recirculación de caudal.....	58

Figura 19 Montaje experimental de los sistemas EGSB instalados en el grupo GDCON	58
Figura 20 Fotografía del proceso de dilución de almidón mediante calentamiento a) antes de la dilución b) después de la dilución.....	62
Figura 21 Cromatograma de un estándar de bisfenol A y sildenafil obtenido mediante UHPLC/MS/MS en la matriz agua.	67
Figura 22 Variación del pH y de la relación alcalinidad parcial/alcalinidad intermedia a través de las fases de operación para el EGSB MET.	70
Figura 23 Variación del pH y de la alcalinidad parcial e intermedia a través de las.....	71
Figura 24 Rendimiento en la remoción de la DQO durante la operación del EGSB MET.	73
Figura 25 Rendimiento promedio en la disminución de la DQO para cada carga evaluada durante la operación del EGSB MET.	73
Figura 26 Porcentaje de metano en el biogás durante la operación del EGSB MET	74
Figura 27 Variación promedio de la producción de AGVs en cada fase de operación para el EGSB MET. Ácido Hac: Acético HPr: Propiónico, i-BA: Iso-butírico, n-BA:Butírico, i-VA: Iso-valérico, n-VA:Valérico.....	75
Figura 28 Comportamiento de la remoción de BPA para el reactor EGSB MET. a) Variación en el tiempo de la concentración de BPA para el afluente y efluente del sistema. b) Remoción promedio de BPA en cada fase. c) Variación de la remoción de BPA en cada fase.....	77
Figura 29 Comportamiento de la remoción de SDF para el reactor EGSB MET. a)Variación en el tiempo de la concentración de SDF para el afluente y efluente del sistema. b) Remoción promedio de SDF en cada fase. c) Variación de la remoción de SDF en cada fase.....	78
Figura 30 Comportamiento de la producción de AGVs expresado como DQO durante la operación del EGSB H/A. La DQO_{AGVs} total hace referencia a la suma de las concentraciones de Ácido Acético, Propiónico, i-Butírico, Butírico, i-valérico y Valérico en mg DQO/L.	79
Figura 31 Variación de la producción de AGVs durante la operación del EGSB H/A. Ácido Hac: Acético HPr: Propiónico, i-BA: Iso-butírico, n-BA:Butírico, i-VA: Iso-valérico,n-VA:Valérico.....	80
Figura 32 Variación en el tiempo de la concentración de a) BPA y b) SDF para el afluente y efluente del sistema H/A.....	82

Figura 33 Variación de la remoción de BPA y SDF durante la fase de operación del sistema H/A.	82
Figura 34 Comparación de la remoción de BPA y SDF después del tratamiento en el sistema MET e H/A.	83
Figura 35 Imágenes de la forma, tamaño y sedimentación de los gránulos del	87
Figura 36 Fotografías SEM correspondientes a la morfología del estado inicial del lodo (inóculo) empleado en la experimentación.....	89
Figura 37 Concentración de ST , SV y relación SV/ST para el sistema EGSB metanogénico a través de las fases de operación.....	91
Figura 38 Concentración de ST, SV y relación SV/ST para el sistema EGSB hidrolítico/acidogénico a través de las fases de operación.	91
Figura 39 Variación del índice volumétrico de lodos y la velocidad de sedimentación para el EGSB metanogénico y el EGSB hidrolítico/acidogénico a través de las fases de operación.	92
Figura 40 Imágenes de la morfología del lodo al final de la operación en a) EGSB metanogénico b) EGSB hidrolítico	94
Figura 41 Imágenes SEM del análisis de la morfología de los gránulos correspondientes al EGSB blanco, metanogénico e hidrolítico al final de la operación.	95

INCIDENCIA DE LA FASE HIDROLÍTICA/ACIDOGÉNICA Y LA RUTA COMPLETA DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA EN LA DEGRADACIÓN DE COMPUESTOS FARMACÉUTICOS Y DE CUIDADO PERSONAL

RESUMEN

Este trabajo de investigación centra su atención en la problemática ambiental generada por los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCPs) en los cuerpos de agua. Su presencia incluso en bajas concentraciones puede provocar efectos potencialmente tóxicos en la ecología acuática y en la salud humana. El bisfenol A (BPA) y el sildenafil (SDF) han sido detectados en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales, esto indica que los tratamientos convencionales no son aptos para remover totalmente este tipo de compuestos.

Los procesos biológicos han demostrado ser tecnologías adecuadas para la remoción de contaminantes orgánicos. Los tratamientos anaerobios particularmente, han mostrado un gran potencial en la biodegradación de algunos microcontaminantes. Sin embargo, los consorcios microbianos y las rutas de biotransformación anaerobia que intervienen en los procesos de degradación de los PPCPs siguen siendo desconocidos. En este sentido, se ha evidenciado la necesidad de comprender este tipo de mecanismos, para lograr optimizar los sistemas de tratamiento, y de este modo evitar la descarga de microcontaminantes en las fuentes hídricas.

La presentación de este trabajo de investigación fue desarrollada a través de capítulos de la siguiente manera:

En el capítulo 1, se expone el contexto de la problemática de investigación; además, se explica el potencial de los tratamientos biológicos anaerobios en la remoción de algunos microcontaminantes y la importancia de profundizar en las rutas de biotransformación que intervienen en los procesos de remoción de los PPCPs.

En el capítulo 2, se presenta un estado del arte en torno a los principales aspectos relacionados con los PPCPs, este incluye los tipos de contaminantes empleados en el estudio, sus propiedades fisicoquímicas, ocurrencia en el ambiente, vías y fuentes de ingreso a los sistemas naturales y mecanismos de remoción en plantas de tratamiento de aguas. Adicionalmente, se exponen los aspectos más relevantes de la digestión anaerobia y de la tecnología tipo EGSB elegida para el estudio. Finalmente se presentan cada uno de los objetivos trazados para la realización de la investigación.

En el capítulo 3, se exponen los resultados obtenidos en las pruebas por lotes. Inicialmente se describen los ensayos donde se evaluó de forma individual la degradación del bisfenol A y el sildenafil; al igual que sus posibles mecanismos de remoción. Para las pruebas se llevó a cabo un diseño de experimentos donde se evaluaron tres factores que podrían influir en la degradación de los microcontaminantes, el compuesto (BPA y SDF); la concentración de los PPCPs y el tipo de microorganismos (hidrolíticos/acidogénicos y

el consorcio completo de la digestión anaerobia). El análisis de los resultados se basó en el efecto de cada contaminante en la respuesta de remoción del carbono orgánico total (COT), de los PPCPs y en la producción de ácidos grasos volátiles. Por otro lado, se exponen los resultados de las pruebas de hidrólisis en el almidón, donde se evaluó el efecto del pH y de una enzima tipo amilasa en la hidrólisis de la macromolécula.

En el capítulo 4, se analiza el comportamiento de un sistema anaerobio de lecho granular expandido (EGSB) metanogénico (MET) y un sistema EGSB hidrolítico (H/A), bajo la aplicación de diferentes cargas de BPA y SDF en conjunto. La experimentación del sistema MET se hizo en 5 fases que consideraron el arranque y la evaluación de 4 cargas crecientes de los microcontaminantes. La experimentación del sistema H/A se hizo en 2 fases que consideraron el arranque y la evaluación de 1 carga de los microcontaminantes. De igual manera, se describe el montaje, la estrategia operacional, el comportamiento de los parámetros de control y la evaluación del rendimiento de cada uno de los reactores en la remoción de los PPCPs.

En el capítulo 5, se presenta un análisis detallado de la caracterización fisicoquímica y microbiológica de la biomasa granular, asociada a los dos tipos de reactores usados para evaluar la remoción de BPA y SDF.

Palabras claves: Bisfenol A, consorcios microbianos, digestión anaerobia, mecanismos de biodegradación, procesos hidrolíticos, PPCPs, sildenafil, tratamientos biológicos.

1 INTRODUCCIÓN.

El agua es un componente de vital importancia en la tierra, corresponde a un recurso ecológico y económico de gran relevancia, que como consecuencia del rápido crecimiento poblacional y el uso inadecuado ha sufrido un alarmante deterioro (Barceló & López, 2010; Magro et al., 2020). En este sentido, la mayor fuente de contaminación de los sistemas acuáticos se deriva de los vertimientos de aguas residuales, las cuales contienen una gran variedad de sustancias químicas. Los compuestos químicos han sido empleados a través de los años en múltiples actividades domésticas, agrícolas e industriales (Geissen et al., 2015). Las investigaciones dirigidas al impacto por los contaminantes químicos se enfocaban casi exclusivamente en los contaminantes “prioritarios” convencionales; sin embargo, una creciente preocupación ha surgido por la detección de nuevos contaminantes orgánicos o “contaminantes emergentes” en aguas residuales, superficiales, subterráneas y otras matrices ambientales (Verlicchi et al., 2010). Aunque su presencia en el ambiente no es propiamente nueva, si lo es la preocupación por las posibles consecuencias para la salud y los diferentes ecosistemas (García-Gómez et al., 2011; Geissen et al., 2015).

Los contaminantes emergentes o microcontaminantes, son compuestos naturales o sintéticos cuyos efectos negativos sobre los seres humanos y los ecosistemas apenas están siendo establecidos (Rodríguez-Narvaez et al., 2017). Aunque la mayoría se encuentra en bajas concentraciones (ng a µg/L), algunos tienen el potencial de acumularse y alcanzar concentraciones en las cadenas tróficas que pueden provocar efectos potencialmente tóxicos en los organismos acuáticos y en la salud humana. (Delgadillo-Mirquez et al., 2011; Geissen et al., 2015; Toušová et al., 2019). Dado que su producción y consumo son elevados, y que se introducen de forma continua en el medio ambiente, algunos de estos compuestos no necesitan ser persistentes para ocasionar efectos negativos (la Farré et al., 2008). La información respecto a su presencia e impactos en los distintos compartimentos ambientales es relativamente poca, esto justifica el hecho de que no han sido regulados, y de que la disponibilidad de metodologías para su análisis sea limitada (La Farré et al., 2008; Geissen et al., 2015).

Los contaminantes emergentes incluyen una variedad de productos farmacéuticos y de cuidado personal, conocidos como PPCPs por su sigla en inglés “Pharmaceutical and Personal Care Products”. Estos comprenden fármacos de uso humano y veterinario como antibióticos, analgésicos, antiinflamatorios; y productos de limpieza, desinfección y cuidado del cuerpo, como fragancias, jabones, protectores solares, repelentes de insectos, desinfectantes, preservantes, filtros UV e intermediarios químicos (Huang et al., 2012; Yang et al., 2017). Se ha comprobado que los PPCPs pueden ocasionar alteraciones en las funciones endocrinas, daño a comunidades microbianas y desarrollo de genes de resistencia en bacterias (D. G. Lee et al., 2012; Wooding et al., 2017). Además, algunos pueden ser bioacumulables y de difícil remoción a través de procesos convencionales de tratamiento de aguas (Deblonde et al., 2011). Se ha documentado que la producción anual de productos farmacéuticos y de cuidado personal puede ser superior a 2×10^7 toneladas, la cual sigue aumentando debido a su alta demanda para prevenir o curar enfermedades y

para el sostenimiento del desarrollo económico en industrias, acuicultura y ganadería (J. Wang & Wang, 2016). En consecuencia, la contaminación ambiental debido a la aplicación extensiva de PPCPs es cada vez más grave.

Los PPCPs son perjudiciales para la salud humana y animal debido a que sus residuos pueden eventualmente ingresar y acumularse en la cadena alimenticia mediante la descarga de efluentes, la reutilización de aguas residuales y lodos tratados provenientes de aplicaciones agrícolas, industriales, médicas, entre otras. A pesar de que su rango de concentración varía entre ng/L y µg/L, algunos de estos contaminantes pueden bioacumularse en peces y otros organismos acuáticos; así mismo, la exposición crónica a contaminantes estrogénicos en el agua puede resultar en el aumento del tamaño del hígado de los peces (Geissen et al., 2015). De igual modo, se ha encontrado que los residuos de PPCPs individuales y mixtos causan impactos negativos en la reproducción y cambios histopatológicos en algunas especies como el pez cebra. En cuanto a las especies vegetales, se ha identificado que algunas pueden absorber diferentes PPCPs cuando es usada agua proveniente de plantas de tratamiento y estiércol orgánico como abono (Yang et al., 2017). Por otro lado, el riesgo ecológico asociado a la presencia de la mayoría de los productos farmacéuticos y de cuidado personal en el medio ambiente y sus efectos por exposición a largo plazo, aún no han sido suficientemente descrito (Hernando et al., 2006).

Los PPCPs ingresan al ambiente a través de diferentes vías, siendo los efluentes de plantas de tratamiento y las descargas directas de aguas residuales, las principales fuentes de contaminación (Ebele et al., 2017). La mayoría de estos productos no se degradan completamente después de su aplicación, como resultado de esto, los metabolitos farmacéuticos y algunas formas inalteradas de estos compuestos son excretados, ingresando posteriormente a plantas de tratamiento (Wollenberger et al., 2000). Otra vía de ingreso al medio ambiente, la constituyen los vertimientos procedentes de las industrias que producen fármacos y productos de cuidado personal, causando elevados niveles de contaminación a escala local (Arcos, 2005). Se ha reportado que solo un limitado número de estos compuestos logra ser parcialmente removidos mediante procesos bióticos y abióticos en plantas de tratamiento, siendo importante resaltar que los procesos convencionales no están diseñados para remover contaminantes de este tipo (Delgadillo-Mirquez et al., 2011; Dionisi et al., 2006). Su principal dificultad radica en que los PPCPs se encuentran en cantidades mucho menores, comparadas con las concentraciones de los macrocontaminantes que pueden cuantificarse mediante análisis de DBO₅, DQO, carbono orgánico, fósforo y nitrógeno. Adicionalmente, el amplio espectro de microcontaminantes posee diferentes propiedades fisicoquímicas como la solubilidad, volatilidad, biodegradabilidad, polaridad, lo cual afecta su comportamiento y eficiencia durante los procesos de tratamiento de aguas residuales (Verlicchi et al., 2010).

Los tratamientos de aguas residuales abarcan procesos fisicoquímicos y biológicos, los primeros se caracterizan por ser eficientes, pero representan grandes inversiones y costos operativos. Por otro lado, los procesos biológicos han demostrado

ser tecnologías adecuadas para la remoción de contaminantes orgánicos, operando con alta eficiencia y bajo costo de operación (Molina, 2007). La degradación microbiana es el mecanismo más importante de eliminación de contaminantes en el medio ambiente, dado que los microorganismos tienen el potencial de usar los macrocontaminantes como sustrato y los microcontaminantes como co-sustrato en función de su desarrollo metabólico (Londoño, 2018). Los tratamientos anaerobios particularmente, poseen grandes ventajas en comparación con los aerobios, incluyendo bajo requerimiento de nutrientes y baja producción de lodos (Virkyute, 2010). La digestión anaerobia generalmente ocurre a través de cuatro etapas biológicas principales, hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, que son catalizadas por diferentes poblaciones microbianas y enzimas (Díaz et al., 2002). Se han reportado eficiencias de remoción de PPCPs en sistemas anaerobios, demostrando el potencial de este tipo de procesos en la degradación de microcontaminantes (Alvarino et al., 2014; Arias et al., 2018; Londoño & Peñuela, 2015; Phan et al., 2018). Sin embargo, los estudios sobre la capacidad de las cuatro etapas biológicas para degradar los microcontaminantes todavía es incipiente (Carneiro et al., 2020).

Recientes estudios han indicado que la presencia de microorganismos específicos en sistemas anaerobios puede potenciar la biodegradación de algunos PPCPs, probablemente porque la presencia de fuentes de carbono fácilmente degradables estimula la síntesis de enzimas que también están implicadas en la transformación de los microcontaminantes (Carneiro et al., 2020). En este sentido, la inducción enzimática de los microorganismos parece ser un punto clave para la biodegradación, donde dicha transformación está condicionada a la capacidad de la comunidad microbiana para producir las enzimas específicas que permitan degradar los contaminantes. Sin embargo, los consorcios microbianos y las rutas de biotransformación anaerobia que intervienen en los procesos de biodegradación de PPCPs, siguen siendo desconocidos (Ghattas et al., 2017).

Lo expuesto anteriormente permite apreciar la necesidad de estudiar los mecanismos biológicos de degradación de los PPCPs, y con ello la incidencia que tienen los consorcios microbianos que intervienen en el proceso de la degradación anaerobia, con el fin de avanzar en la comprensión de aquellas fases donde ocurren los principales procesos de remoción de los microcontaminantes. De ahí que, la profundización en este tipo de mecanismos permitiría optimizar la remoción de los microcontaminantes de las aguas residuales, evitando así su descarga en las fuentes hídricas y propiciando de este modo, la conservación de los recursos naturales y la protección de la salud del hombre y los animales.

2 MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.

2.1 PRODUCTOS FARMACEUTICOS Y DE CUIDADO PERSONAL (PPCPs).

Se definen de forma general como productos con fines médicos o sanitarios en animales y/o humanos, y con fines dirigidos al cuidado personal. Hacen parte de los contaminantes emergentes, dado que solo en las últimas décadas han sido reconocidos

como un riesgo potencial para la salud y los ecosistemas naturales debido a su persistencia y pseudo persistencia en el ambiente (Patiño et al., 2015; J. Wang & Wang, 2016; Zúñiga-Benítez et al., 2016a). Actualmente, son usados en diferentes campos de aplicación como medicina, ganadería, agricultura, industria, acuicultura, cuidado estético, bienestar personal y la vida cotidiana de las personas (Yang et al., 2017). Adicionalmente, su uso se ha extendido ampliamente con el tiempo, convirtiéndose en productos indispensables y de uso frecuente para la humanidad (Zúñiga-Benítez et al., 2016b).

2.1.1 Clasificación.

Los PPCPs han sido clasificados en diferentes grupos de acuerdo con sus propiedades y usos (

Tabla 1). Los compuestos farmacéuticos generalmente incluyen antibióticos, hormonas, analgésicos, antiinflamatorios, reguladores de lípidos, agentes cardiovasculares, β -bloqueadores, medicamentos citostáticos, entre otros. Los productos de cuidado personal incluyen preservantes, bactericidas/desinfectantes, repelentes de insectos, fragancias y filtros de protección solar ultravioleta (UV), entre otros.

Tabla 1. Principales clases de PPCPs (Bonnot et al., 2022; Son et al., 2022; J. Wang & Wang, 2016).

Tipo de compuesto	Funciones
Antibióticos	Matar bacterias
Hormonas esteroideas	Regulación de metabolismo, control del desarrollo sexual, homeostasis
Reguladores de lípidos	Regulación de triglicéridos y colesterol en sangre
Antiinflamatorios no esteroideos	Reducción el dolor y la inflamación
β -bloqueadores	Inhibición de la hormona adrenalina y el neurotransmisor noradrenalina
Antidepresivos	Mejora de los trastornos físicos
Anticonvulsivos	Tratamiento de los trastornos del estado de ánimo
Antineoplásicos	Control o destrucción de células neoplásicas
Agentes cardiovasculares	Inhibidor de la fosfodiesterasa Vasodilatador
Medios de contraste	Mejora de la resonancia magnética
Fragancias	Creación de olores

Tipo de compuesto	Funciones
Preservantes	Previene la descomposición por el crecimiento microbiano o por cambios químicos indeseables
Xenoestrógenos sintéticos	Monómeros de plásticos y polímeros sintéticos empleados en la síntesis de dispositivos médicos y odontológicos
Desinfectantes	Destruye y mata gérmenes y parásitos
Agentes de protección solar	Protege la piel de la radiación ultravioleta y reduce los daños de la piel

2.1.2 Selección de PPCPs.

La selección de los PPCPs para la ejecución del presente proyecto de investigación se basó en la identificación de productos ampliamente usados y distribuidos en la actualidad, abarcando dos grupos con diferencias en su clase, estructura, función y/o propiedades fisicoquímicas, los compuestos seleccionados fueron el bisfenol A (xenoestrógeno sintético) y el sildenafil (inhibidor de la fosfodiesterasa tipo 5).

2.1.2.1 Bisfenol A (BPA).

Las xenohormonas, entre las que se encuentran los xenoestrógenos sintéticos, son compuestos químicos sintéticos fabricados con un fin comercial. Este tipo de compuestos son agentes externos que interfieren con las funciones del sistema endocrino, varias de esas sustancias han sido relacionadas con problemas del desarrollo reproductivo, entre otros problemas de salud, tanto en humanos, como en especies silvestres y en animales de laboratorio (Canales et al., 2003).

Según la Agencia de Protección Ambiental, las xenohormonas o disruptores endocrinos, son compuestos químicos que interfieren de alguna forma con las hormonas naturales del organismo. Un compuesto de este tipo puede afectar al sistema endocrino y modificar algunos de los estados de producción o actividad hormonal, realizando modificaciones de las funciones de las hormonas por unión directa al receptor o por interferencia del proceso natural del metabolismo de estas. En los últimos años se ha demostrado cierta relación entre la exposición a disruptores endocrinos y la generación de cambios en el metabolismo, desarrollo, crecimiento y reproducción de organismos. Los efectos observados frente a su exposición incluyen reducción de la fertilidad, feminización, anomalías en órganos reproductivos y cambios en el comportamiento sexual de diversos organismos acuáticos (Cartagena, 2011).

El bisfenol A es un compuesto orgánico conformado por dos anillos de fenol conectados por un puente de metilo, algunas de sus propiedades son moderada solubilidad en agua, baja presión de vapor y baja volatilidad. Este compuesto pertenece a la categoría de xenoestrógenos sintéticos y a menudo ha sido clasificado como PPCP (Dodgen et al., 2014; Hernandez-Ruiz et al., 2012; Patiño et al., 2015; Porter et al., 2020). BPA es usado principalmente como un intermediario en la producción de plásticos de policarbonato y resinas epoxi, también es usado ampliamente para la fabricación de diferentes productos usados en la vida cotidiana, estos incluyen dispositivos médicos y odontológicos (materiales dentales), botellas reutilizables, contenedores de comida, vajillas, equipos electrónicos, entre otros.

2.1.2.2 Sildenafil (SDF).

Existen once familias de isoenzimas de nucleótidos cíclicos fosfodiesterasa (PDE) distribuidos en todo el cuerpo humano. Las PDEs son esenciales para regular los niveles de adenosín monofosfato-3',5' cíclico (AMPC) y guanósín monofosfato-3',5' cíclico (GMP_c). La regulación de estas isoenzimas PDE es integral para controlar las funciones fisiológicas. La fosfodiesterasa tipo 5 (PDE5) se considera específica de la GMP_c y es la isoenzima principal implicada en la vía que conduce a la relajación del músculo liso vascular del pene y la erección. El tratamiento con inhibidores orales de la PDE5 se considera actualmente como terapia de primera línea para hombres con disfunción eréctil (DE). Los inhibidores de la PDE5 mejoran la función eréctil al mantener suficientes niveles celulares de GMP_c, tanto en el cuerpo cavernoso como en sus vasos contribuyentes para dilatar los vasos sanguíneos

Por otro lado, la PDE5 también parece estar implicada en el control de la presión arterial pulmonar, por su capacidad para inactivar la GMP_c, el segundo mensajero de la vía del óxido nítrico. La PDE5 se expresa abundantemente en el tejido pulmonar y alguna evidencia científica indica que está relacionada con trastornos como la hipertensión arterial pulmonar (HAP). La HAP es una enfermedad rara caracterizada por la proliferación vascular, que resulta en un aumento progresivo de la resistencia arterial pulmonar, insuficiencia cardíaca y en algunos casos la muerte. La patogénesis de la HAP es multifactorial, y la disfunción de las células endoteliales juega un papel integral. Esta disfunción endotelial se caracteriza por una sobreproducción de vasoconstrictores y factores proliferativos, como la endotelina-1, y una reducción de vasodilatadores y factores antiproliferativos, como la prostaciclina y el óxido nítrico (Montani et al., 2009).

El sildenafil (SDF) es un inhibidor selectivo de la fosfodiesterasa tipo 5 (PDE5), provoca la relajación del músculo liso, en particular, en la vasculatura pulmonar y el cuerpo cavernoso. Provoca vasodilatación pulmonar en pacientes con hipertensión pulmonar y se asocia a mejoras en la presión media de la arteria pulmonar, resistencia vascular pulmonar y, en algunos estudios, el índice cardíaco (Croom & Curran, 2012). También está indicado como tratamiento para la disfunción eréctil con un amplio rango de causas, este permite que el músculo liso del cuerpo cavernoso se relaje, potenciando las erecciones durante la estimulación sexual (Salonia et al., 2003). Su uso bajo prescripción médica está aprobado en Estados Unidos, Europa y otros países para el

tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar y la disfunción eréctil (Croom & Curran, 2012). El sildenafil comúnmente conocido como viagra es uno de los compuestos farmacéuticos más empleados para la disfunción eréctil, y está actualmente disponible y aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA).

2.1.3 Propiedades fisicoquímicas.

Las propiedades fisicoquímicas de un compuesto definen su destino en sistemas naturales y en sistemas diseñados, así como los mecanismos de remoción que intervienen en estos procesos. Por otro lado, estas características que son específicas para cada compuesto influyen en el desarrollo de la metodología analítica para su determinación y cuantificación. Es por esto que, la identificación de las propiedades fisicoquímicas de los PPCPs es primordial para cuantificar, comprender y predecir su comportamiento, tanto en el ambiente como en su paso a través de un sistema de tratamiento (Virkutyte et al., 2010).

2.1.3.1 Coeficiente de distribución octanol/agua (K_{ow}).

El proceso de partición de los compuestos es fundamental en la evaluación del comportamiento de un compuesto orgánico en un compartimiento natural o un sistema artificial, requiere tener en cuenta la distribución química de la sustancia entre los diferentes compartimientos/fases. La partición de un compuesto entre varias fases es un resultado de las interacciones intermoleculares entre las moléculas del compuesto y su entorno molecular. Estas interacciones intermoleculares se clasifican como interacciones específicas y no específicas. Las interacciones no específicas, hacen referencia a las fuerzas de Van der Waals, se producen entre todas las moléculas y son responsables de las interacciones entre las moléculas no polares. A diferencia de estas, las fuerzas atractivas específicas resultan de las interacciones electrón donante-aceptor entre los compuestos polares y son fuerzas de atracción significativamente mayores que las de Van der Waals (Arcos, 2005).

Las interacciones no específicas pueden ser predichas por el coeficiente de distribución octanol /agua (K_{ow}), el cual se define como la relación de la concentración de un compuesto en dos fases, n-octanol y agua, en las que las fases están en equilibrio a una temperatura específica y el compuesto de ensayo está en solución diluida en ambas fases. Donde un alto coeficiente de distribución, $\log K_{ow} > 4$ es característico de compuestos hidrofóbicos (baja hidrosolubilidad) e indica alta tendencia a la sorción sobre materia orgánica presente en matrices como el lodo. Por otro lado, compuestos con $\log K_{ow} < 2.5$ se caracterizan por una alta biodisponibilidad y no se espera que su adsorción sobre los lodos contribuya significativamente a la eliminación de los contaminantes. Para los contaminantes con $\log K_{ow}$ entre 2.5 y 4 se espera una sorción moderada (Virkutyte et al., 2010).

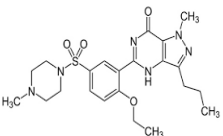
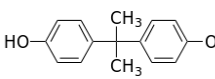
2.1.3.2 Constante de disociación ácida (PK_a)

El estado de ionización está controlado por el pH de la solución y la constante de disociación (K_a), es una medida de la fuerza del ácido y describe el grado de ionización

de un compuesto a un pH conocido (Schwarzenbach et al., 2002). La forma ionizada es generalmente más soluble en agua, mientras que la forma neutra es más lipofílica y tiene mayor permeabilidad a membranas biológicas. El pKa identifica en que pH el ácido orgánico está presente en partes iguales en las formas disociadas y no disociadas. El grado de ionización es una de las propiedades cardinales utilizadas para estimar la absorción, distribución, metabolismo y excreción de compuestos dentro de sistemas de tratamiento y el medio ambiente. (Babić et al., 2007).

La estructura molecular y demás información relacionada con las propiedades fisicoquímicas de los PPCPs de estudio se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Estructura y propiedades fisicoquímicas de los PPCPs de estudio.

Compuesto	Estructura	Fórmula molecular	Peso molecular (g mol ⁻¹)	Solubilidad en agua (mg L ⁻¹) 25°C	Log K _{ow}	pKa	Referencia
SDF		C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₄ S	474.6	3500	1.9	5.99	PubChem, 2022; Son et al., 2022
BPA		C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228.29	120	3.32 3.43	9.73	PubChem, 2022; Qiu et al., 2019; Wu et al., 2018

2.1.3.3 Ingreso de PPCPs al medio ambiente.

La presencia de los PPCPs en el ambiente acuático (Figura 1) ocurre como consecuencia de la contaminación puntual o puntos específicos de descarga, predominantemente de efluentes urbanos e industriales de aguas residuales crudas y/o efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR). También se debe a fuentes no puntuales, que son las áreas superficiales extensas o de deposición de la atmósfera desde las cuales se produce la descarga de diferentes sustancias en aguas superficiales o subterráneas, provenientes de la agricultura u otras fuentes difusas (Bolong et al., 2009). Su presencia en cuerpos de agua como resultado de vertimientos no puntuales está fuertemente influenciada por propiedades como sorción, volatilidad, persistencia, polaridad y capacidad de interacción con el compartimiento ambiental (Geissen et al., 2015; Patiño et al., 2015).

Los productos farmacéuticos por su parte ingresan a los sistemas acuáticos después de la ingestión y posterior excreción, ya sea en su forma original o como metabolito a través de las corrientes de salida de las PTAR, esto implica que subsecuentemente pueden llegar a aguas superficiales como ríos o arroyos, a los cuales también suelen ser introducidos por medio de escorrentía (Virkyte et al., 2010). En el caso de las aguas subterráneas, los compuestos farmacéuticos pueden ingresar a través de mecanismos como lixiviación o infiltración, lo que representa una grave amenaza para el agua potable (la Farré et al., 2008).

Los productos destinados al cuidado personal (PCPs) son descargados principalmente a través de corrientes de aguas residuales domésticas (por ejemplo, desagües de la ducha); estos ingresan a las PTAR donde la mayoría no logra degradarse y posteriormente alcanzan el medio ambiente (Jiang et al., 2005). Los PCPs también ingresan de forma directa en el medio acuático a través del lavado de la piel y los trajes de baño de los usuarios que usan el agua con fines recreativos (Figura 1). Otra vía de ingreso al ambiente la constituyen los vertimientos procedentes de industrias farmacéuticas y de productos de cuidado personal, los cuales pueden causar niveles elevados de contaminación a escala local (Arcos, 2005; Ellis, 2006).

Múltiples estudios indican que los microcontaminantes no se degradan cuando son sometidos a sistemas de tratamiento convencionales (Gogoi et al., 2018); por el contrario, se eliminan mediante mecanismos de sorción y deposición en el lodo final, volatilización o mediante la descarga a un cuerpo de agua superficial, siendo esta la razón por la cual pueden ser detectados en diferentes compartimientos ambientales (J. Wang & Wang, 2016).

Después del tratamiento de las aguas residuales, los biosólidos (lodos tratados) tienen potencial para ser usados como fertilizantes en tierras agrícolas, de esta manera los microcontaminantes pueden llegar al suelo. Los PPCPs también pueden llegar al agua dulce a través de la escorrentía de suelos agrícolas tratados con lodo digerido para estos fines (Ebele et al., 2017; J. Wang & Wang, 2016). El proceso de sorción de contaminantes orgánicos sobre lodos y suelos está fuertemente afectado por diferentes factores incluyendo las características del compuesto (propiedades químicas como Kow, pKa, Kd, estructura molecular, presencia de grupos COOH y amino en la molécula), y del lodo o suelo. En este sentido, la distribución de lodos residuales en suelos de cultivo puede dar lugar a la acumulación de compuestos persistentes en dicha matriz, representando una amenaza para los ecosistemas terrestres, y en particular para los organismos vivos.

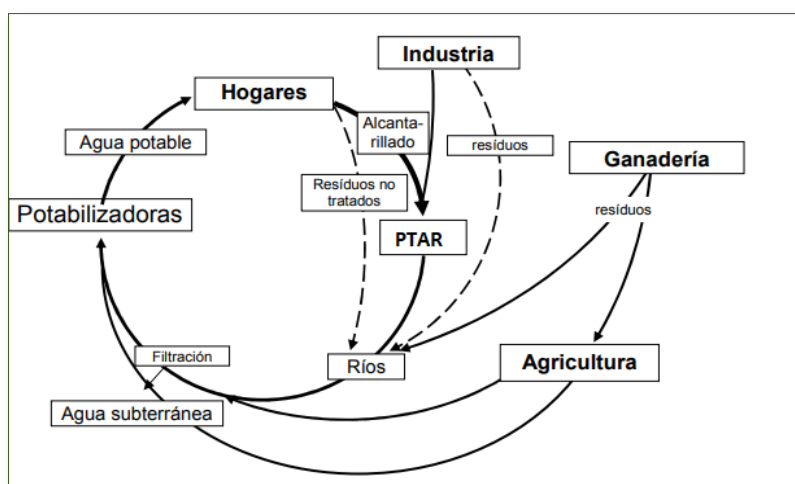


Figura 1 Algunas fuentes y destinos de los PPCPs en el ambiente acuático.

Adaptado de (Damià Barceló & José López de Alda, 2008).

2.1.4 Ocurrencia, efectos y preocupaciones relacionadas con la emisión de PPCPs en el ambiente.

Los PPCPs son potencialmente nocivos para el ambiente ya que una gran proporción de estos han sido seleccionados y diseñados para ser biológicamente activos sobre los microorganismos y los seres vivos. Se han reportado alteraciones en la actividad enzimática de la microbiota generando variaciones en el ritmo de vida (Cartagena, 2011; Y. Londoño, 2018), efectos en la fertilidad y cambio de la condición sexual por hormonas y xenoestrógenos sintéticos; efectos tóxicos-reproductivos por drogas citostáticas, entre otros. La mayoría son persistentes o pseudo-persistentes, tóxicos y poseen un alto potencial de bioacumulación, pudiendo aumentar de concentración y pasar a niveles más altos de la cadena trófica (Brausch & Rand, 2011). Sin embargo, todavía es poca la información disponible sobre los efectos crónicos de las sustancias activas en los organismos del medio acuático, terrestre y el ambiente (Arcos, 2005; Cartagena, 2011; Londoño, 2018).

De manera particular se presenta información respecto a la ocurrencia, efectos y preocupaciones relacionadas con los contaminantes de estudio:

Bisfenol A (BPA)

Este compuesto pertenece a la categoría 1 de la lista de prioridad de los disruptores endocrinos para organismos pertenecientes a la vida silvestre y seres humanos. Múltiples estudios con el bisfenol A han reportado efectos de genotoxicidad, citotoxicidad, neurotoxicidad y toxicidad reproductiva. Dentro de los efectos más reportados se encuentran la reducción de la fertilidad y calidad del esperma; y la inhibición de la ovulación en diferentes especies de peces (Gogoi et al., 2018). De forma preocupante se ha encontrado que el BPA tiene actividad estrogénica en bajas concentraciones y que la exposición a este compuesto puede provocar diversas alteraciones, incluida la carcinogénesis (Sharma et al., 2009). Así mismo, se ha reportado que BPA es altamente tóxico en el rango 1.000-10.000 µg/L para las especies de agua dulce y marinas. Múltiples estudios han demostrado los efectos de disrupción endocrina generados por el bisfenol A; sin embargo, aunque su toxicidad ha sido relativamente estudiada; y puede ser metabolizado por algunos organismos acuáticos, se requieren investigaciones en torno a la degradación de este compuesto por una amplia gama de organismos superiores, al igual que la optimización de tratamientos para su remoción del agua (Jeong Hun Kang et al., 2008).

BPA es un producto químico con gran volumen de producción, se reporta que quince países y regiones son conocidos por producir BPA comercialmente, especialmente Estados Unidos, Alemania, Japón y Taiwán. La capacidad total de producción de BPA en el mundo ascendió a unas 4.7×10^6 toneladas anuales en 2007 (Huang et al., 2012). La presencia de bisfenol A en el ambiente es el resultado de actividades antropogénicas pues este compuesto no es producido naturalmente (Huang et al., 2012). Algunas de las investigaciones han demostrado su presencia en aguas residuales, aguas naturales (fluviales, subterráneas y marinas) y agua potable en todo el mundo. Este compuesto es liberado en ambientes acuáticos a través de la migración desde productos a base de BPA

y como resultado de la descarga directa de efluentes de aguas residuales y lixiviados de diferentes procesos de manufactura (Fürhacker et al., 2000). La evidencia científica sugiere que el bisfenol A no es persistente en el ambiente; sin embargo, a pesar de que su vida media en el suelo es de 1-10 días, su ubicuidad lo convierte en un contaminante pseudo-persistente importante. Por otro lado, se ha encontrado que la hidrólisis bajo condiciones ambientales es insignificante, dado que no contiene grupos funcionales susceptibles de hidrólisis (Environmental Protection Agency, 2010).

Sildenafil (SDF)

Aunque en las últimas décadas se han investigado diferentes clases de compuestos farmacéuticos, la comunidad científica ha dirigido su atención a otros productos farmacéuticos que en los últimos años han mostrado un crecimiento en el mercado, estos son los inhibidores de la fosfodiesterasa-5 entre los cuales se encuentra el citrato de sildenafil, comercializado como Viagra. Este compuesto se encuentra dentro del grupo conocido como “medicamentos de estilo de vida”, es vendido sin prescripción médica y su consumo se ha incrementado a tal punto que ha sido detectado en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales, en aguas superficiales e incluso agua para consumo humano; a pesar de ello, aún es escasa la información reportada sobre los efectos potenciales del SDF sobre el medio ambiente (Herbert et al., 2015). Por consiguiente, la alta tasa de uso del sildenafil, su eliminación impredecible y los efectos potenciales desconocidos sobre la vida silvestre y el medio ambiente han creado la necesidad de realizar investigaciones alrededor de este compuesto.

Al igual que otros contaminantes farmacéuticos, el riesgo generado por el SDF depende más de la toxicidad y la persistencia del medicamento liberado al medio ambiente, que de la cantidad liberada. Dada su naturaleza bioactiva, incluso pequeñas cantidades de sildenafil podrían tener un impacto en los organismos más sensibles; adicionalmente, otros contaminantes no relacionadas podrían tener efectos aditivos si actúan sobre los mismos receptores en los organismos biológicos, una vez liberados en el medio ambiente (De Felice et al., 2009). Teniendo en cuenta lo anterior, existe escasa información sobre las especies microbianas que pueden desarrollarse en presencia del sildenafil en ambientes acuáticos; por lo tanto, la capacidad de los microorganismos para crecer y degradar este compuesto es un tema de interés actual (Bianco et al., 2021).

Entre los escasos estudios reportados, De Felice et al. (2009) evaluaron la posible toxicidad de sildenafil y sus subproductos de degradación en varios modelos vivos, como la microalga *Pseudokirchneriella* y el crustáceo planctónico *Daphnia magna*; así mismo, en células humanas HepG2, con el fin de evaluar la actividad mitocondrial. Las pruebas toxicológicas mostraron que solo la concentración de sildenafil de 400 mg L⁻¹ fue tóxica para *D. magna* y causó una disminución de la viabilidad celular del 50% para las células humanas HepG2. Los ensayos realizados revelaron la ausencia de toxicidad para los productos de biotransformación; sin embargo, son pocos los estudios reportados en cuanto a la toxicidad y biodegradación con el SDF.

En cuanto a la emisión del SDF al medio ambiente, al igual que otros productos farmacéuticos, el sildenafil puede eliminarse a través de las heces y la orina, dada su alta solubilidad este puede transportarse en el agua y llegar a plantas de tratamiento de aguas residuales. En este punto, la sustancia parental y sus metabolitos son tratadas en reactores biológicos convencionales, que solo pueden degradarlos parcialmente mientras se desencadenan otros procesos de transformación. De forma paralela también suelen generarse procesos de acumulación antes de ser descargados en las masas de agua receptoras (Bianco et al., 2021). La

Tabla 3 describe reportes de la ocurrencia de BPA y SDF en agua residual, agua superficial y agua tratada para consumo.

Tabla 3. Reportes de ocurrencia de BPA y SDF en agua residual, superficial y tratada.

Compuesto	Agua residual afluente PTAR (ng/L)	Agua residual efluente PTAR (ng/L)	Agua superficial (ng/L)	Agua para consumo (ng/L)	Referencia
Bisfenol A	1680	410 4.8-258	0.5-250	0.5-44	Gogoi et al., 2018; Mohapatra et al., 2011
Sildenafil	4.7-349.5	5.1-28.6	1.7-2.2	<LD-1.3	Baker & Kasprzyk- Hordern, 2013; Boleda et al., 2011

2.2 TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES CON RESIDUOS DE PPCPs.

El tratamiento de las aguas residuales domésticas se ha convertido en una necesidad y responsabilidad de las poblaciones a nivel mundial. La ausencia de directrices ha permitido la descarga de cantidades significativas de productos farmacéuticos y de cuidado personal en el medio ambiente y uno de los grandes desafíos actuales es la remoción de PPCPs de las fuentes hídricas. Esto representa una dificultad porque los sistemas convencionales de tratamiento de aguas residuales presentan una limitada eficiencia para remover estos microcontaminantes y no suelen diseñarse sistemas específicos para eliminarlos; aunque algunos contaminantes pueden ser eliminados a través de sistemas convencionales, todavía existe un grupo significativo de compuestos con un comportamiento recalcitrante; y lamentablemente, no existen límites de referencia para la mayoría de estos compuestos (Londoño, 2018). La

Tabla 3 muestra la presencia de los PPCPs de estudio en efluentes de PTAR e incluso en aguas superficiales y aguas para consumo humano.

Los sistemas de tratamiento convencionales no tienen la capacidad de remover eficientemente los PPCPs, porque sus concentraciones están en el intervalo de 10^{-3} - 10^{-6} mgL^{-1} , una cantidad mucho menor comparada con la concentración de los macrocontaminantes (Verlicchi et al., 2010). Adicionalmente, los mecanismos de remoción de estos compuestos dependen en gran medida de sus propiedades fisicoquímicas. De ahí que, deben aplicarse procesos de tratamiento adecuados para evitar la exposición de los organismos vivos y los ecosistemas a los microcontaminantes

presentes en los efluentes de las PTAR. Para esto se requiere de la comprensión del destino de los compuestos, los factores que afectan su eliminación en las unidades de tratamiento y; en consecuencia, la mejora de los sistemas de tratamiento existentes (Virkutyte et al., 2010).

Múltiples estudios de ocurrencia reportan la presencia de PPCPs en efluentes de sistemas convencionales de tratamiento aerobio, demostrando la baja eficiencia de estos procesos para la biodegradación de este tipo de contaminantes (Belhaj et al., 2015; Blair et al., 2015; Mailler et al., 2015). Por otro lado, Roberts et al., (2016) indicó que la eficiencia de eliminación fluctúa considerablemente incluso cuando las condiciones de la PTAR se mantienen constantes. Por otro lado, la eliminación de PPCPs puede verse afectada por muchos factores, como la composición del compuesto, el pretratamiento, las comunidades microbianas existentes en el sistema y las condiciones ambientales, así como las condiciones operacionales. Es por esta razón, que el sistema de lodos activados sigue siendo uno de los procesos de tratamiento aerobio más utilizados, pero debe mejorarse para satisfacer la demanda de tratamiento de las aguas residuales que contienen PPCPs. De forma análoga, los sistemas anaerobios (otra alternativa de tratamiento convencional) dependen de múltiples factores que pueden condicionar la biodegradación; y presentan eficiencias de remoción altamente variables para cada tipo de compuesto (Blair et al., 2015; Carballa et al., 2006; Narumiya et al., 2013). Sin embargo, los reportes de tratamientos anaerobios para la remoción de PPCPs son menores a los aerobios; de ahí la importancia de estudiar a fondo los mecanismos de la digestión anaerobia para potenciar la degradación de los contaminantes de preocupación emergente (J. Wang & Wang, 2016; Yang et al., 2017).

Para aumentar la capacidad de remoción de los PPCPs del agua, debe ser investigado el monitoreo de la concentración de los microcontaminantes y su interacción con la biomasa, para identificar aquellos factores claves que controlan la biodegradación de los microcontaminantes (J. Wang & Wang, 2016). De forma paralela, deben llevarse a cabo estudios enfocados en la comprensión de los mecanismos biológicos presentes, así como en la incidencia que tienen los consorcios microbianos que intervienen en el proceso de la biotransformación. De esta manera, sería posible fomentar y optimizar la biodegradación de los PPCPs durante los tratamientos biológicos de aguas (Carneiro et al., 2020).

En este contexto, los sistemas de tratamiento tienen como objetivo degradar los contaminantes presentes en el agua. Sin embargo, algunos microcontaminantes no logran ser degradados, pero si removidos a través de procesos de sorción en la biomasa, acumulándose en los lodos generados del proceso de depuración e ingresando al ambiente luego de su uso o disposición. En esta dirección, es prioritario evaluar en los procesos biológicos el mecanismo de remoción predominante para cada compuesto en particular, a fin de comprender si el compuesto orgánico es asimilado como una fuente de carbono (co-sustrato) a través de un proceso de biotransformación y/o si existe un proceso de sorción asociado a una simple retención del compuesto en la fase sólida (J. Wang & Wang, 2016).

2.2.1 Mecanismos de remoción de PPCPs en las plantas de tratamiento de aguas residuales convencionales (PTARs).

En el tratamiento de PPCPs en agua (de acuerdo con la características químicas del compuesto) se pueden presentar diferentes mecanismos de remoción que comprenden la degradación biológica, sorción en la biomasa, degradación abiótica y volatilización (Delgadillo-Mirquez et al., 2011; Peng et al., 2019). Sin embargo, investigaciones han revelado que los principales mecanismos de remoción de los PPCPs son la biodegradación y la sorción fuente.

Sorción: El concepto de sorción abarca dos mecanismos, la absorción, donde el contaminante se traslada desde la fase acuosa hasta la membrana celular lipofílica de la biomasa o hasta la fracción lipídica; y la adsorción, donde el contaminante es retenido en la superficie del sólido debido a las interacciones electrostáticas que existen entre la superficie celular de la biomasa (predominantemente negativa) y el compuesto (positiva). La sorción en la biomasa es un fenómeno relevante cuando la tendencia de los PPCPs hace que estos sean retenidos en el lodo, este mecanismo está ligado a las características del sorbente (tipo de lodo) y a las propiedades fisicoquímicas del contaminante, el coeficiente octanol-agua (K_{ow}) y la constante de disociación ácida K_a del PPCP definen la tendencia a la sorción (Alvarino et al., 2018).

El comportamiento de la sorción puede estimarse con la ayuda del coeficiente de sorción K_d ($L \cdot kg^{-1}$), también conocido como el coeficiente de distribución de agua-sólido, se define como la relación entre las concentraciones en la fase sólida y líquida en condiciones de equilibrio. La hidrofobicidad es la propiedad principal, que determina la biodisponibilidad de un compuesto en el medio acuático; y está implicada en la eliminación de contaminantes durante el tratamiento de aguas residuales (Londoño, 2018; Virkutyte et al., 2010).

Degradación abiótica y volatilización: La degradación abiótica comprende la degradación de compuestos orgánicos por la vía química (hidrólisis) o física (fotólisis), esta puede ser un proceso natural o inducido. Los procesos abióticos no están mediados por microorganismos y se ha encontrado que tienen una importancia bastante limitada en las aguas residuales en relación con la biodegradación de los PPCPs (Virkutyte et al., 2010).

La volatilidad: hace referencia a la facilidad que presenta un compuesto a transferirse del líquido a la fase gaseosa, lo cual depende de las propiedades fisicoquímicas de los PPCPs, como la constante de la ley de Henry (H), así como de las condiciones del proceso, como el flujo de aire, la agitación o la temperatura (Arcos, 2005).

Degradación biológica: La biotransformación de los PPCPs está relacionada con las reacciones químicas inducidas por enzimas que son sintetizadas por los microorganismos, lo que otorga la capacidad de asimilar contaminantes como sustrato o co-sustrato, permitiendo su transformación parcial o mineralización (Alvarino et al., 2018). Existen dos tipos de enzimas implicadas en la degradación de sustratos, estas son

las endoenzimas y las exoenzimas, las primeras se producen en la célula y degradan el sustrato soluble dentro de la célula; las exoenzimas se liberan recubriendo la célula y el sustrato a degradar (Merlin Christy et al., 2014).

En cuanto al mecanismo biológico para la degradación de sustratos, ningún microorganismo produce todas las enzimas que se necesitan para degradar la gran variedad de compuestos y sustratos coloidales que se encuentran en lodos y aguas residuales, cada endoenzima y exoenzima degrada solo un sustrato específico o un grupo de sustratos. Por lo tanto, es necesaria una diversa comunidad de microorganismos para garantizar que los tipos adecuados de exoenzimas y endoenzimas estén disponibles para la degradación de los sustratos. Por otro lado, las propiedades de las enzimas pueden determinarse mediante ensayos con sustratos específicos donde se evalúan las condiciones que producen la máxima actividad. Existen algunos criterios que deben considerarse como el tipo de sustrato, la enzima, el pH y la temperatura óptima (Merlin Christy et al., 2014).

La biotransformación de microcontaminantes orgánicos puede ocurrir a través del metabolismo o cometabolismo:

Metabolismo: son reacciones en las que los contaminantes son empleados como fuente de carbono y de otros nutrientes para el crecimiento de los microorganismos (Anabolismo) y como fuente de energía (Catabolismo) (Verlicchi et al., 2013).

Cometabolismo: Este mecanismo, se define como la transformación biológica de un compuesto que no actúa como sustrato, mediante la acción de enzimas que solo pueden ser inducidas por la presencia obligada de un sustrato de crecimiento u otro compuesto transformable (Çeçen et al., 2010). No obstante, la diferenciación entre la degradación metabólica y cometabólica no siempre es posible debido a las diferentes vías metabólicas que pueden ser usadas por los microorganismos al degradar un contaminante; así mismo, a la naturaleza del compuesto y a la compleja mezcla de comunidades microbianas que pueden estar implicadas en el proceso, entre otros factores (Çeçen et al., 2010; Fischer & Majewsky, 2014).

Diversos estudios sugieren que el cometabolismo podría ser el principal mecanismo responsable de la biotransformación de los PPCPs, debido a que su concentración en el agua es muy baja para actuar como sustrato de crecimiento (Gonzalez-Gil et al., 2019). El cometabolismo resulta de una falta de especificidad de las enzimas y cofactores, lo que puede permitir la degradación de otros compuestos. En el caso de microcontaminantes, su degradación en el agua residual puede ser llevada a cabo a través de ciertas enzimas que degradan compuestos orgánicos con estructuras moleculares similares a la del contaminante (Londoño, 2018).

2.2.2 Tratamiento anaerobio de PPCPs.

La digestión o descomposición anaerobia es un proceso llevado a cabo por una mezcla compleja de microorganismos simbióticos que transforman compuestos orgánicos en biogás, nutrientes y células nuevas bajo condiciones libres de oxígeno, dejando sales

y materia orgánica remanente. El biogás consiste típicamente en metano (60%), dióxido de carbono (40%), vapor de agua y trazas de sulfuro de hidrogeno; las bacterias y las archaeas llevan a cabo el proceso de producción de biogás bajo estrictas condiciones anaerobias. Los procesos anaerobios ocurren en el ambiente de forma natural en ecosistemas como estanques, pantanos, arrozales, lagos, aguas termales, vertederos; también en aguas residuales y tractos de animales; también pueden ocurrir en sistemas artificiales diseñados (Christy et al., 2014).

La digestión anaeróbica estabiliza la materia orgánica, convierte parte de la fracción de sólidos volátiles en biogás, reduciendo la concentración de patógenos y olores. La aplicación de procesos de tratamiento anaerobios incluye tanques sépticos, digestores de lodos, tratamiento de aguas residuales industriales y municipales, gestión de residuos peligrosos (compuestos aromáticos y halogenados) y residuos agrícolas. Este proceso puede llevarse a cabo en sistemas continuos o en batch. Diversos factores como el diseño del reactor, inóculo, naturaleza del sustrato, pH, temperatura, carga orgánica volumétrica, tiempo de retención hidráulica (TRH), relación de carbono/nitrógeno, ácidos grasos volátiles (AGVs), influyen la producción de biogás. Los sistemas anaerobios ofrecen una tecnología robusta y sostenible para el tratamiento de diferentes clases de lodos y aguas residuales, debido a que demandan bajos costos operacionales y tienen la capacidad de recuperar energía a través de la obtención del biogás, siendo una alternativa que ha permitido la remoción de algunos contaminantes presentes en aguas residuales (Londoño, 2018; Christy et al., 2014; Ponsá et al., 2008).

Aunque las condiciones estrictamente anaeróbicas prevalecen en varios compartimentos ambientales, hasta ahora, los estudios de biodegradación en contaminantes orgánicos emergentes, como los PPCPs, se han centrado principalmente en las condiciones aeróbicas. Sin embargo, ciertos contaminantes recalcitrantes, se biodegradan en condiciones estrictamente anaeróbicas y se sabe poco sobre los organismos y procesos enzimáticos implicados en su degradación (Ghattas et al., 2017; Londoño, 2018).

2.2.3 Etapas de la digestión anaerobia.

Existen cuatro etapas biológicas y químicas clave en la digestión anaerobia: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis:

La hidrólisis: Es la primera etapa de la despolimerización de la materia orgánica, durante esta etapa los sustratos complejos insolubles como los polisacáridos son hidrolizados en unidades más pequeñas por una gran cantidad de microorganismos hidrolíticos (*Clostridia*, *Micrococci*, *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Fusobacterium*, *Selenomonas*, *Streptococcus*). Estos secretan diferentes enzimas hidrolíticas como celulosa, xilanas, amilasa, proteasa, lipasa. Las reacciones hidrolíticas comprenden dos fases llevadas a cabo por enzimas extracelulares secretadas por bacterias que son anaerobias facultativas o estrictas. En la primera fase las bacterias hidrolíticas cubren la superficie de los sólidos, después liberan enzimas en la superficie de las partículas y producen monómeros que pueden ser utilizados por bacterias hidrolíticas y por otras

baterías. En la segunda fase la superficie de las partículas es degradada por bacterias (Merlin Christy et al., 2014; Rodriguez, 2015).

La acidogénesis: Es usualmente la etapa más rápida de la digestión anaerobia. Durante la acidificación de azúcares, los ácidos grasos de cadena larga y aminoácidos resultantes de la hidrólisis son usados como sustrato por los microorganismos fermentativos (*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*), para producir ácidos orgánicos como ácido acético, propiónico, butírico y otros ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, H₂ y CO₂. Los microorganismos hidrolíticos y acidogénicos crecen diez veces más rápido que los metanogénicos (Londoño, 2018; Merlin Christy et al., 2014).

La acetogénesis: Es una etapa llevada a cabo por microorganismos estrictamente anaerobios con un pH óptimo de trabajo alrededor de 6. Estos incrementan la concentración de hidrogeno en la fase líquida promoviendo la acumulación de sumideros de electrones (lactato, propionato, butirato), que no pueden ser consumidos directamente por los microorganismos metanogénicos, sino que son degradados aún más por bacterias acidogénicas productoras de H₂. Son de crecimiento lento y requieren largos periodos de latencia para adaptarse a nuevas condiciones ambientales. Contienen enzimas altamente sensibles al O₂, las fluctuaciones en la carga orgánica y los cambios ambientales *Syntrophobacter wolinii*, especializada en la oxidación de propionato, y *Syntrophomonas wolfei*, que oxida ácidos grasos de 4 a 8 átomos de carbono, convierten el propiónico, butírico y algunos alcoholes en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono, el cual se utiliza en la metanogénesis (Christy et al., 2014; Rodriguez, 2015).

La metanogénesis: Es la etapa final de la digestión anaerobia, allí es producido el metano como subproducto metabólico por microorganismos metanogénicos (archaeas). Estos tienen un metabolismo inusual, debido a que usan H₂/CO₂, los compuestos metilados de C1, formiato o acetato como fuente de carbón y energía para su crecimiento (Londoño, 2018; Christy et al., 2014).

2.2.4 Uso de tratamientos anaerobios para la remoción de PPCPs.

A lo largo de los últimos años, el número de publicaciones que siguen estos enfoques ha ido en aumento; el objetivo principal es aplicar este conocimiento al diseño y desarrollo de tecnologías anaerobias innovadoras de tratamiento de aguas residuales capaces de eliminar los PPCPs de manera eficiente. La Figura 2 indica que los tratamientos anaerobios han ido despertando interés por parte de la comunidad científica que ve en ellos una alternativa con potencial para eliminar un amplio número de PPCPs (Ghattas et al., 2017; Londoño, 2018). Sin embargo, el conocimiento sobre las vías de degradación de algunos compuestos orgánicos, los procesos de transformación resultantes y los microorganismos responsables de los procesos de biodegradación anaerobios, sigue siendo escaso o inexistente para muchos compuestos complejos, como los productos farmacéuticos y de cuidado personal, biocidas, pesticidas, compuestos perfluorados, benzotriazoles, ácidos nafténicos, edulcorantes artificiales, entre otros. Por esta razón en la actualidad, se han propuesto diferentes configuraciones y/u optimizaciones para lograr

la remoción de contaminantes con características cada vez más recalcitrantes (Rodríguez, 2015).

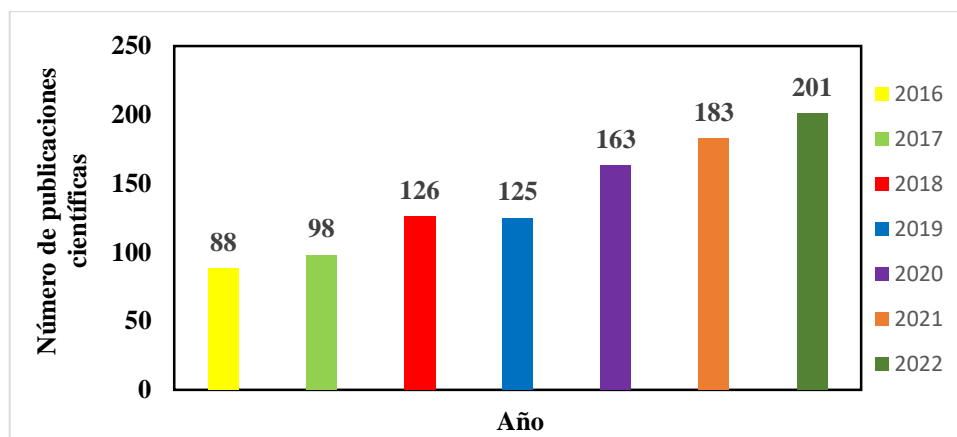


Figura 2 Número de publicaciones científicas enfocadas en el uso de tratamientos anaerobios para la remoción de PPCPs de las aguas residuales. Periodo: 2016-2020. Fuente: Base de datos Scopus. Criterio de búsqueda: “Remoción de PPCPs de aguas Métodos analíticos para la cuantificación de PPCPs.”

Los estudios realizados para evaluar la ocurrencia, la tasa de degradación de PPCPs y/o el rendimiento de una unidad de tratamiento, requieren de análisis que permitan la detección de la sustancia en cuestión. Sin embargo, la medición de los microcontaminantes, especialmente los que se encuentran en matrices complejas como aguas residuales y lodos, son difíciles y requieren de métodos analíticos robustos. Los PPCPs se encuentran en niveles de trazas, esto podría afectar seriamente su extracción y análisis; por lo tanto, es esencial una medición altamente sensible. Por otro lado, existe una amplia gama de compuestos farmacéuticos y de cuidado personal con diferentes características fisicoquímicas, de ahí que no existe un método estándar o común de seguimiento y análisis, cada compuesto requiere un análisis específico empleando diferentes técnicas (Virkyute et al., 2010).

Las técnicas analíticas como cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en tándem (GC-MS-MS), la cromatografía líquida combinada con espectrometría de masas (LC-MS-MS) y la cromatografía líquida de alto rendimiento (UHPLC) se emplean generalmente para los análisis de PPCPs (Virkyute et al., 2010). En la actualidad estas técnicas han permitido una mejor comprensión de cómo los PPCPs se comportan en el medio ambiente y ha logrado determinar de forma fiable las concentraciones de diversos residuos de estos en las plantas de tratamiento de aguas residuales, suelos, aguas superficiales y subterráneas (Verlicchi et al., 2010).

2.3 REACTOR ANAEROBIO EGSB (EXPANDED GRANULAR SLUDGE BED).

Los reactores anaerobios de flujo ascendente (UASB) han sido usados para tratar un amplio rango de contaminantes orgánicos, sin embargo, las bajas tasas de carga hidráulica utilizadas y las velocidades ascensionales inferiores a 1 m/h crean cortos circuitos y zonas muertas en los reactores, lo cual genera una distribución desigual del

flujo. Para usar el volumen del reactor de forma eficiente y mejorar el contacto entre la biomasa y el agua residual, se han desarrollado reactores anaerobios granulares de lecho expandido (EGSB) (Rodríguez & Peñuela, 2017). Este tipo de arreglo mejora la eficiencia general del proceso debido a que posee una relación altura/diámetro del orden de 25, permitiendo incrementar el flujo de las burbujas de biogás generadas y del fluido. Se destaca que este tipo de reactor soporta cargas orgánicas de hasta 30 kg DQO/m³.d y permite independizar el tiempo de retención hidráulico del tiempo de retención celular, debido a la forma granular en la que se encuentran dispuestos los microorganismos. Por otro lado, esta configuración tiene incorporada una corriente de recirculación del efluente, dicha recirculación hace que, a diferencia del UASB, este reactor opere con una velocidad ascensional mayor (Rodríguez, 2015).

Los sistemas EGSB son un prototipo ejemplar para estudiar el comportamiento de microcontaminantes orgánicos, debido a su buen comportamiento hidrodinámico, al alto contacto biomasa/sustrato y a sus altas eficiencias de operación (Rodríguez, 2015). Aunque la evaluación de procesos anaerobios en la remoción de PPCPs empleando reactores UASB y EGSB no es muy amplia en el mundo, algunos estudios han reportado eficiencias de remoción de microcontaminantes en sistemas de este tipo, demostrando el potencial de este tipo de procesos en la degradación de contaminantes (Alvarino et al., 2014; Arias et al., 2018; Londoño, 2018; Londoño et al., 2012; Rodríguez, 2015).

2.3.1 Parámetros de control.

Los sistemas de tratamiento tienen diferentes parámetros operacionales designados de acuerdo con el tipo de tratamiento y las características de las aguas residuales a tratar. El tiempo de retención hidráulico (TRH), la carga orgánica volumétrica (COV), los nutrientes, la agitación, el pH y la relación alcalinidad intermedia/alcalinidad parcial, son algunos de los factores que más afectan la eficiencia de eliminación de los PPCPs en los reactores anaerobios EGSB.

2.3.1.1 Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) y Carga Orgánica (COV)

El tiempo de retención hidráulico (TRH) es un parámetro que depende del caudal del afluente, en reactores de tercera generación como los EGSB, se independiza el tiempo de retención celular (TRC) del TRH y se incorporan elementos para mejorar el contacto entre la materia orgánica y la biomasa anaerobia presente en el reactor (Díaz et al., 2002).

Por otro lado, la carga orgánica volumétrica (COV) es la cantidad de materia orgánica por unidad de tiempo expresado en unidades de demanda química de oxígeno (DQO) o sólidos volátiles totales (SVT), este parámetro depende directamente de la concentración del sustrato y del TRH. La fracción de materia orgánica degradada aumenta al incrementar el TRH, sin embargo, la producción volumétrica de metano disminuye, una vez superado el valor óptimo de carga orgánica a degradar por los microorganismos. Altas cargas orgánicas pueden proporcionar el incremento de la producción volumétrica del biogás, en presencia de sustratos biodegradables. Sin embargo, elevadas COV pueden

generar sobrecargas en el sistema que conllevan a la acumulación de ácidos grasos volátiles (Rodríguez, 2015).

2.3.1.2 Nutrientes.

El proceso anaerobio se caracteriza frente a procesos aerobios, por los bajos requerimientos de nutrientes, debido fundamentalmente a los bajos índices de producción de biomasa. Sin embargo, para el crecimiento de los microorganismos deben ser incorporados los nutrientes necesarios, si no están presentes en el sustrato, deben compensarse agregando pequeñas cargas de nutrientes al sistema. Estos se dividen principalmente en dos grupos, los macronutrientes (nitrógeno, fósforo y azufre), que se requieren en mayor proporción y los micronutrientes (trazas de metales). Los principales nutrientes del sistema anaerobio son nitrógeno, sulfuro, fósforo, hierro, cobalto, níquel, molibdeno, selenio, riboflavina y vitamina B12. Se ha reportado que los requerimientos de nutrientes, específicamente la fuente de nitrógeno y fosforo, se suministran de acuerdo con la DQO presente en el agua residual (Acosta, 2017).

2.3.1.3 Agitación.

La agitación tiene diferentes objetivos, entre ellos poner en contacto el sustrato fresco o afluente con la población microbiana, favorecer la salida de los gases, prevenir la formación de espacios muertos que reducen el volumen efectivo del reactor, proporcionar una densidad uniforme de la población microbiana, prevenir la formación de capas superficiales y de espumas, entre otros.

2.3.1.4 pH y relación de alcalinidad.

El pH juega un papel clave para los distintos grupos de microorganismos de un proceso anaerobio, se ha reportado que los microorganismos acetogénicos y metanogénicos mantienen una actividad adecuada y equilibrada en un rango de pH de 6.8 a 7.2 (Molina, 2007). Por otro lado, el rango óptimo de pH para los microorganismos hidrolíticos y acidogénicos se encuentra alrededor del 5-5.5 (Zhou et al., 2018).

La alcalinidad parcial (AP) o bicarbonática corresponde a las especies de bicarbonato presentes en una solución. Por otro lado, la alcalinidad intermedia (AI) es definida como la diferencia entre la alcalinidad total (AT) y la alcalinidad parcial (AP), corresponde al aporte de la alcalinidad debido a una concentración aproximada de ácidos grasos volátiles (AGV). En términos operacionales, en sistemas con microorganismos metanogénicos debe mantenerse una alta alcalinidad bicarbonática en el sistema para tener una buena capacidad buffer (Antonio & Acosta, 2017). En sistemas con microorganismos hidrolíticos/acidogénicos la alcalinidad bicarbonática debe ser casi nula para evitar el aumento del pH y con ello el crecimiento de microorganismos metanogénicos.

Un sistema con microorganismos metanogénicos no debe superar el valor 0.3 en la relación alcalinidad intermedia/alcalinidad parcial para evitar la acumulación de ácidos orgánicos (Londoño, 2018). Por otro lado, los reactores con microorganismos

hidrolíticos/acidogénicos generan una alta acumulación de AGVs, por lo que la alcalinidad intermedia es un parámetro de mayor utilidad para el seguimiento del sistema.

2.3.2 Coeficientes biocinéticos.

Los modelos matemáticos son usados en procesos anaerobios para determinar la importancia de la relación entre datos de diseño y datos experimentales (Sponza & Uluköy, 2008). También son usados para controlar, predecir y optimizar el diseño de un reactor. El funcionamiento estable de los reactores se ha convertido en un reto importante en la actualidad, por esta razón el desarrollo de modelos para entender el comportamiento dinámico de los reactores es crítico (López & Borzacconi, 2011).

Cinética de crecimiento microbiano.

Cuando existen unas condiciones ambientales determinadas, en las cuales hay una fuente de carbono, un aceptor de electrones y un medio adecuado, es decir, se cumplen los requerimientos para que haya crecimiento, la biomasa microbiana aumenta como resultado de la síntesis de células y disminuye a causa de la mortalidad y la respiración endógena. Se ha encontrado de forma experimental que los microorganismos crecen en proporción directa a la concentración de biomasa presente en el medio, por lo tanto, la biomasa aumenta (Rodríguez, 2015), conforme a la ecuación:

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

$\frac{dX}{dt}$ = Tasa de crecimiento de la biomasa, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; \mathbf{X} = Concentración de microorganismos en el reactor, SSV (mg/L); μ = Tasa de crecimiento específico, constante de crecimiento (d^{-1}); t = tiempo, (d).

La relación entre la biomasa total del reactor y la biomasa purgada en un período determinado representa el tiempo medio que los microorganismos pasan en el reactor. Este parámetro se denomina tiempo de retención celular (TRC) y se calcula como:

$$\theta_c = \frac{V \cdot X}{Q_w x_R + (Q - Q_w) X_E} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

θ_c = edad de lodos o promedio de tiempo de retención celular; V = volumen útil del reactor; \mathbf{X} = Concentración de microorganismos en el reactor, Q = Caudal de alimentación del reactor; X_E = Biomasa presente en el efluente; Q_w = caudal del lodo dispuesto; X_R = biomasa en el lodo recirculado.

Los estudios experimentales de Monod demostraron que la tasa de crecimiento específica es función de la concentración de organismos y de la concentración del sustrato limitante (Doran, 1998; Romero, 2000; Sponza & Uluköy, 2008); y se describe por el siguiente modelo:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{S}{K_s + S} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

μ = Tasa de crecimiento específico, constante de crecimiento, (d^{-1}); μ_{max} =Tasa máxima específica de crecimiento o valor máximo de μ para la concentración de saturación, (d^{-1}); S =Concentración de sustrato limitante del crecimiento. DQO ($mg.L^{-1}$); K_s =Coeficiente de saturación media, el cual es definido como la concentración de sustrato para la cual $\mu:\mu_{max}/2$ ($mg.L^{-1}$).

El modelo de Monod es el más aceptado para expresar la relación entre la concentración de nutriente limitante y la tasa específica de crecimiento. Se ha establecido que, si todo el alimento es convertido en biomasa, la tasa de utilización de sustrato sería igual a la tasa de crecimiento de biomasa de acuerdo con la siguiente ecuación:

Reemplazando la ecuación 3 en la ecuación 1 se obtiene:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{max} \cdot \frac{X \cdot S}{K_s + S} \quad \text{Ecuación 4}$$

Por otro lado, la cinética de muerte celular es un factor que se recomienda tener en cuenta cuando los microorganismos se encuentran en un sistema de tratamiento por más de uno o dos días. Los diferentes factores que contribuyen a la disminución de la masa celular dentro del reactor se conocen como respiración endógena. La pérdida de viabilidad celular puede describirse matemáticamente de la misma manera que la desactivación enzimática, suponiendo que la muerte de biomasa es un proceso de primer orden (Rodríguez, 2015), que puede ser expresado mediante la siguiente ecuación:

$$r_d = -K_d \cdot X \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde:

r_d : Declinación endógena ($mg/L.d$)

K_d : Coeficiente de respiración endógena (d^{-1})

En resumen, la tasa neta de crecimiento=Crecimiento-Declinación y se define como:

$$r_c = \frac{\mu_{max} X \cdot S}{K_s + S} - K_d \cdot X \quad \text{Ecuación 6}$$

$$r_c = -Yr_s - K_d \cdot X \quad \text{Ecuación 7}$$

Después de realizar el balance de masa para los microorganismos (Romero, 2000), el modelo cinético bajo la suposición de mezcla completa se expresa como:

$$V \frac{dX}{dt} = QX_0 - [Q_w X_{R+} + (Q - Q_w) X_E] + Vr_c \quad \text{Ecuación 8}$$

Si se desprecia X_0 entonces:

$$V \frac{dX}{dt} = -[Q_w X_{R+} + (Q - Q_w) X_E] + Vr_c \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde:

V =volumen del reactor; $\frac{dX}{dt}$ =Tasa de crecimiento de la biomasa; Q = caudal afluyente; X_0 = biomasa en el afluyente; Q_w = caudal del lodo dispuesto; X_R = biomasa en el lodo recirculado; r_c = tasa neta de crecimiento bacterias; X_E =biomasa en el efluente; X =biomasa en el reactor.

Para estado permanente $\frac{dX}{dt}=0$ no hay cambio en la biomasa:

$$0 = -[Q_w X_R + (Q - Q_w) X_E] + Vr_c \quad \text{Ecuación 10}$$

Reemplazando r_c por su valor:

$$\frac{Q_w X_{R+} + (Q - Q_w) X_E}{VX} = -Y \frac{r_s}{X} - K_d \quad \text{Ecuación 11}$$

Reemplazando la ecuación 2 en la ecuación 11 se obtiene:

$$\frac{1}{\theta_c} = -Y \frac{r_s}{X} - K_d \quad \text{Ecuación 12}$$

Uso de sustrato y producción de biomasa

El crecimiento y la utilización de sustrato (Romero, 2000), se relacionan por medio de la siguiente expresión:

$$\frac{dX}{dt} = -Y \frac{dS}{dt} \quad \text{Ecuación 13}$$

$$\frac{dX}{dt} = -Yr_s \quad \text{Ecuación 14}$$

$$r_s = -\frac{r_c}{Y} \quad \text{Ecuación 15}$$

Donde:

$\frac{dS}{dt} = r_s$: Tasa de utilización de sustrato, $\text{mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$; S = Concentración de sustrato, DQO o DBO, g.L^{-1} ; Y =Coeficiente de producción de crecimiento en la fase logarítmica/masa de sustrato removido, mgL^{-1} biomasa/ mgL^{-1} alimento utilizado; r_c = tasa de crecimiento de biomasa, $\text{mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$.

Sustituyendo la ecuación 4 en la ecuación 14 se obtiene:

$$r_s = \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu_{max} \cdot X \cdot S}{Y(K_s + S)} \quad \text{Ecuación 16}$$

$$\mu_{max} = kY \quad \text{Ecuación 17}$$

Donde k representa la tasa máxima de remoción de sustrato o tasa específica de utilización de sustrato, d^{-1} .

Sustituyendo la ecuación 17 en la ecuación 16 se obtiene:

$$r_s = \frac{dS}{dt} = -\frac{k \cdot X \cdot S}{K_s + S} \quad \text{Ecuación 18}$$

De acuerdo con lo reportado por Romero (2000), el valor de r_s se determina por la siguiente relación:

$$r_s = \frac{Q}{V}(S_0 - S) = -\frac{(S_0 - S)}{t_d} \quad \text{Ecuación 19}$$

Igualando la ecuación 18 y la ecuación 19 se obtiene:

$$r_s = -\frac{k \cdot X \cdot S}{K_s + S} = -\frac{(S_0 - S)}{t_d} \quad \text{Ecuación 20}$$

$$\frac{k \cdot S}{K_s + S} = \frac{(S_0 - S)}{X \cdot t_d} \quad \text{Ecuación 21}$$

$$\frac{X \cdot t_d}{(S_0 - S)} = \frac{K_s}{k} \frac{1}{S} + \frac{1}{k} \quad \text{Ecuación 22}$$

Donde la ecuación 22 indica que haciendo un gráfico de $\frac{X \cdot t_d}{(S_0 - S)}$ contra $\frac{1}{S}$ se obtiene una recta. La pendiente de dicha recta permite obtener el valor de $\frac{K_s}{k}$ y la ordenada en el origen, el valor de $\frac{1}{k}$.

Finalmente, al reemplazar r_s por su valor según la ecuación 20 se obtiene:

$$\frac{1}{\theta_c} = Y \frac{(S_0 - S)}{X \cdot t_d} - K_d \quad \text{Ecuación 23}$$

Del mismo modo, haciendo un gráfico de $\frac{1}{\theta_c}$ contra $\frac{(S_0 - S)}{X \cdot t_d}$ se obtiene una recta. La pendiente de la recta permite obtener el valor de Y. Finalmente, la siguiente expresión permite obtener al valor de μ_{max} :

$$\mu_{max} = kY$$

Determinación de los coeficientes biocinéticos

Los coeficientes pueden ser obtenidos empleando un modelo ajustado basado en la cinética de Monod, de acuerdo a la metodología reportada por Sponza and Uluköy (2008).

Determinación de coeficientes Y

El rendimiento (Y) puede ser obtenido a partir de la ecuación 23:

$$\frac{1}{\theta_c} = Y \frac{(S_0 - S)}{X \cdot t_d} - K_d$$

Donde:

θ_c = Edad de los lodos o tiempo de retención celular (d)

X = Concentración de microorganismos en el reactor, SSV ($g \cdot L^{-1}$)

S_0 = Concentración del sustrato en el afluente, DQO ($g \cdot L^{-1}$)

S = Concentración del sustrato en el afluente, DQO ($g \cdot L^{-1}$)

t_d = Tiempo de retención hidráulica (d)

Y = Coeficiente de producción de biomasa ($g \text{ SSV} / g \text{ DQO}$)

K_d = Coeficiente de respiración endógena (d^{-1})

Al graficar $\frac{1}{\theta_c}$ vs $\frac{(S_0 - S)}{X \cdot t_d}$ se obtiene una recta, esta permite obtener el valor de Y (pendiente).

Coeficientes K_s y μ_{max}

Los parámetros K_s y μ_{max} pueden ser obtenidos a partir de la ecuación 17 y 22:

$$\frac{X \cdot t_d}{(S_0 - S)} = \frac{K_s}{k} \frac{1}{S} + \frac{1}{k}$$

Donde:

X = Concentración de microorganismos en el reactor, SSV (g.L⁻¹)

S_o = Concentración del sustrato en el afluente, DQO (g.L⁻¹)

S = Concentración del sustrato en el afluente, DQO (g.L⁻¹)

t_d = Tiempo de retención celular (d)

k = representa la tasa máxima de remoción de sustrato o tasa específica de utilización de sustrato, d⁻¹.

K_s = Coeficiente de saturación media, el cual es definido como la concentración de sustrato para la cual $\mu = \mu_{max}/2$ (g.L⁻¹)

Al graficar $\frac{X \cdot t_d}{(S_0 - S)}$ vs $\frac{1}{S}$ se obtiene una recta, esta permite obtener el valor de $\frac{K_s}{k}$ (pendiente) y la ordenada en el origen, es decir, el valor de $\frac{1}{k}$. Finalmente, la siguiente expresión permite obtener al valor de μ_{max} :

$$\mu_{max} = kY$$

2.4 Objetivos.

2.4.1 Objetivo general.

Evaluar el efecto de la fase hidrolítica/acidogénica y la ruta completa de la digestión anaerobia en la degradación del bisfenol A y sildenafil.

2.4.2 Objetivos específicos.

- i. Evaluar la eficiencia de un sistema EGSB en el tratamiento de un efluente residual sintético de almidón de papa mediante la aplicación de cargas orgánicas volumétricas ascendentes.
- ii. Evaluar la incidencia de la fase hidrolítica/acidogénica en la eficiencia de remoción anaerobia del sildenafil y bisfenol A empleando un sistema EGSB.
- iii. Evaluar la incidencia de la ruta completa de la digestión anaerobia en la eficiencia de remoción del sildenafil y bisfenol A empleando un sistema EGSB.
- iv. Identificar los mecanismos responsables de la remoción de los PPCPs empleados en el estudio.

3 PRUEBAS POR LOTES: EVALUACIÓN DE MECANISMOS DE REMOCIÓN

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1.1 Evaluación de mecanismos de remoción del BPA y SDF.

El propósito del experimento fue obtener información preliminar sobre el comportamiento de los PPCPs estudiados a través del sistema biológico. Para ello, se empleó biomasa de los reactores anaerobios EGSB previamente aclimatada al sustrato de trabajo (almidón de papa). Durante este experimento se evaluó de forma individual la

degradación de bisfenol A y sildenafil, mediante la aplicación de pruebas anaerobias por lotes. Así mismo, se evaluaron posibles mecanismos de remoción como la sorción y la hidrólisis. El diseño del experimento se realizó con el objetivo de evaluar tres factores que podrían influir en la degradación de los microcontaminantes, el compuesto (BPA y SDF); la concentración de los PPCPs evaluados a niveles de 50 y 500 μgL^{-1} ; y el tipo de microorganismos (hidrolíticos/acidogénicos y el consorcio completo de la digestión anaerobia). La Figura 3 muestra el montaje del experimento.

3.1.1.1 Preparación del medio de cultivo y montaje experimental para las pruebas por lotes.

El ensayo se realizó en botellas serológicas individuales de un volumen útil de 60 mL. Se prepararon dos medios de cultivo para garantizar las condiciones ambientales de los microorganismos, tanto los metanogénicos como los hidrolíticos. El medio de cultivo estuvo constituido por 50 mL de macronutrientes y 10 mL micronutrientes, 0.3 g de extracto de levadura y 1 mL de solución de resazurina al 0.1 % por litro de medio. Posteriormente, se agregó 0.5 g de cisteína y 2 g de NaHCO_3 por litro de medio (Rodríguez et al., 2017). El pH del medio fue ajustado en un rango de 6.8-7.2 y 4.5-5.5, para los experimentos con biomasa proveniente del EGSB ruta completa y EGSB hidrolítico/acidogénico respectivamente.

A cada botella se agregó 43.2 mL de medio de cultivo, 3 mL del inóculo y 0.3 mL de la solución stock de cada PPCP. Después, las botellas fueron selladas y se adicionó 1,5 mL de $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (4gL^{-1}); posteriormente, fueron purgadas con nitrógeno durante un minuto. La incubación se realizó a 37°C bajo agitación continua a 100 rpm durante toda una noche. Para el inicio de la experimentación se adicionó 12 mL del sustrato (10.000 mgL^{-1}), el sustrato empleado en el experimento fue almidón. Finalmente, las botellas se incubaron nuevamente bajo las mismas condiciones durante 28 días. Durante el experimento el medio de cultivo se mantuvo a un pH alrededor de 6.8-7.2 y alrededor de 5.0-5.5 para los experimentos donde fue evaluada la ruta completa y la fase hidrolítica/acidogénica respectivamente.

Los muestreos fueron llevados a cabo los días 0 y 28 del ensayo, en las unidades experimentales de la fase hidrolítica/acidogénica y la ruta completa. Durante cada muestreo se midieron las variables pH, carbono orgánico total (COT), ácidos grasos volátiles (AGVs) y concentración de bisfenol A y sildenafil. A lo largo del experimento se hizo seguimiento y control al pH para mantener el medio de cultivo dentro del rango de pH propuesto.



Figura 3 Montaje experimental para los ensayos anaerobios en batch.

3.1.1.2 Inóculo.

Para las pruebas de degradación con la ruta completa se empleó lodo anaerobio previamente aclimatado proveniente de un reactor EGSB metanogénico (capítulo 4). La producción de metano fue previamente evaluada para verificar la actividad de los consorcios que intervienen en la ruta completa de la digestión anaerobia (microorganismos hidrolíticos, acidogénicos, acetogénicos y metanogénicos). Este tipo de biomasa fue abreviada como biomasa metanogénica (MET). Por otro lado, para las pruebas de degradación en la fase hidrolítica/acidogénica se empleó lodo previamente aclimatado de un reactor EGSB operado bajo condiciones hidrolíticas (capítulo 4). Este tipo de biomasa fue abreviada como hidrolítica/acidogénica (H/A).

3.1.1.3 Diseño experimental.

Fue realizado un diseño factorial 2^3 con el objetivo de evaluar tres factores que podrían influir en la degradación de los microcontaminantes. Factor A, el tipo de compuesto (BPA y SDF); factor B, la concentración del compuesto (PPCP) evaluados a niveles de 50 y 500 μL^{-1} ; factor C, el tipo de microorganismo: hidrolíticos/acidogénicos y el consorcio completo de la digestión anaerobia.

Los datos fueron analizados con el software estadístico Statgraphics versión 16.1.03 (Virginia, USA) con un nivel de confianza del 95%. La media, la desviación típica y coeficiente de varianza fueron calculadas. Fueron realizadas pruebas de múltiples

rangos para encontrar diferencias estadísticamente significativas entre las medias obtenidas para los factores evaluados. Adicionalmente se llevaron a cabo pruebas con blancos y controles para identificar mecanismos de remoción diferentes al biológico que pudieran tener lugar en la prueba. Los experimentos fueron realizados por triplicado, la Tabla 4 muestra el diseño experimental.

Tabla 4. Diseño experimental para ensayos en batch con biomasa metanogénica e hidrolítica/acidogénica

Muestra	Ensayo con biomasa metanogénica o biomasa hidrolítica/acidogénica
Blanco/Control	Inóculo + medio de cultivo sin sustrato
Control	Inóculo+ medio de cultivo
Blanco 1-50 BPA B1_50_D0 / B1_50_D28	Medio de cultivo estéril+ C50 µg/L
Blanco 2-500 BPA B2_500_D0/ B2_500_D28	Medio de cultivo estéril + C500 µg/L
Blanco 3-50 SDF B3_50_D0 / B3_50_D28	Medio de cultivo estéril + C50 µg/L
Blanco 4-500 SDF B4_500_D0/ B4_500_D28	Medio de cultivo estéril + C500 µg/L
Blanco 5-50 BPA B5_50_D0 / B5_50_D28	Inóculo estéril + medio de cultivo estéril+ C50 µg/L
Blanco 6-500 BPA B6_500_D0/ B6_500_D28	Inóculo estéril + medio de cultivo estéril + C500 µg/L
Blanco 7-50 SDF B7_50_D0 / B7_50_D28	Inóculo estéril + medio de cultivo estéril + C50 µg/L
Blanco 8-500 SDF B7_500_D0/ B7_500_D28	Inóculo estéril + medio de cultivo estéril + C500 µg/L
Muestra 1- 50 BPA M1_50_D0 / M1_50_D28	Inóculo + medio de cultivo + C50 µg/L
Muestra 2-500 BPA M2_500_D0 / M2_500_D28	Inóculo + medio de cultivo + C500 µg/L
Muestra 3-50 SDF M3_50_D0 / M3_50_D28	Inóculo + medio de cultivo + C50 µg/L
Muestra 4-500 SDF M4_500_D0 / M4_500_D28	Inóculo + medio de cultivo + C500 µg/L

3.1.2 Pruebas de hidrólisis en el almidón.

La licuefacción consiste en la hidrólisis parcial del almidón a dextrinas y es usualmente llevada a cabo en un tiempo de 2 horas, las enzimas α -amilasa son empleadas dado que se caracterizan por su termo-estabilidad. Por otro lado, la sacarificación es un proceso donde las enzimas α -amilasa hidrolizan las moléculas de maltodextrina a glucosa, y tarda de 12 a 48 horas dependiendo del grado de hidrólisis deseado (Morales & Molina Córdoba, 2015).

3.1.2.1 Cuantificación del almidón.

Para las cuantificaciones se llevó a cabo un método espectrofotométrico, el principio del método permitió medir la velocidad de consumo de almidón en la muestra basado en la formación del complejo yodo/almidón, las pruebas se realizaron siguiendo el procedimiento reportado por Londoño (2018). Para los ensayos fue empleada una enzima α -amilasa y las cuantificaciones se realizaron en un espectrofotómetro UV/VIS Evolution 300 (Thermo Scientific) con una longitud de onda de 570 nm.

○ **Reactivos y soluciones.**

Enzima α -amilasa 5520-BAKEZYME P 500 BG (10 gL⁻¹), solución de yodo KI (44 gL⁻¹), solución de I₂ (22 gL⁻¹), solución buffer citrato-fosfato de 0.1 M a pH 4.8, solución de almidón (1 gL⁻¹).

Preparación de soluciones:

- Solución stock de yoduro de potasio (KI) y I₂ (yodo): se pesó 11 g de KI, 5 g de I₂ y se aforó a 250 mL con agua destilada, se mezcló hasta disolución total. La solución fue almacenada en un frasco ámbar y fue cubierta con aluminio para minimizar el contacto con la luz.
- Reactivo combinado: se pesó 1 g de KI, se adicionó 1 mL de la solución stock y se aforó a 25 mL con agua destilada. La solución siempre fue preparada el día del análisis y el remanente fue descartado dado que tienen baja estabilidad.
- Solución de almidón: se pesó 0.1 g de almidón y se aforó a 100 mL con agua destilada. La solución se sometió a calentamiento hasta la disolución total.
- Solución buffer citrato-fosfato: se pesó 9.6 g de ácido cítrico (C₆H₈O₇) y 7.098 g de fosfato de sodio dibásico pentahidratado (Na₂HPO₄·7H₂O), se aforó a 500 mL con agua destilada y el pH fue ajustado a 4.8.
- Enzima α amilasa: se pesó 1 g de la enzima α amilasa en 100 mL de la solución buffer citrato-fosfato.

○ **Procedimiento**

Se prepararon las soluciones de KI (44 gL⁻¹), I₂ (22 gL⁻¹), la solución buffer citrato-fosfato de 0.1 M a pH 4.8, la solución de almidón (1 gL⁻¹), el reactivo combinado y la solución con la enzima. Posteriormente, se llevó a cabo una curva de calibración (Figura 4) para

cuantificar el almidón como se muestra en la Tabla 5. El criterio de aprobación de la curva fue un coeficiente de determinación $R^2 > 0.9$. Se hizo un calibrado independiente para los ensayos que se realizaron en diferentes días de experimentación.

Tabla 5. Calibrado del método almidón-yodo.

Concentración de almidón (mg/L)	Volumen de solución de almidón (mL)	Volumen de buffer citrato-fosfato (mL)	Reactivo combinado (mL)
0	0,00	3,00	1
12,5	0,05	2,95	1
25	0,10	2,90	1
50	0,20	2,80	1
75	0,30	2,70	1
100	0,40	2,60	1
125	0,50	2,50	1



Figura 4 Curva de calibración del método yodo/almidón para las pruebas de hidrólisis.

3.1.2.2 Pruebas de hidrólisis enzimática.

Se llevaron a cabo pruebas enzimáticas para estudiar el efecto de una enzima en la hidrólisis del almidón. Inicialmente se determinó la actividad enzimática de la enzima α -amilasa 5520-BAKEZYME P500 BG. Los ensayos consistieron en la aplicación de diferentes factores de dilución (FD) a una solución de la enzima (10000 mgL^{-1}); a continuación, se realizó una prueba para cada dilución y se evaluaron los FD 1, 10, 100, 500, 1000, 2000 y 4000. El método empleado fue de tipo fotométrico usando una absorbancia a 570 nm cada 10 segundos durante 10 minutos de reacción de la enzima, la actividad se calculó a partir de la pendiente máxima de la curva obtenida de concentración de almidón frente al tiempo. La actividad amilasa total se definió como los mgL^{-1} de almidón transformados en un minuto por la enzima.

Posteriormente, se estudió el efecto de la enzima en una concentración de 4 gL^{-1} de almidón (máxima concentración de trabajo en los reactores EGSB); y se evaluó la enzima en tres niveles como se describe en la

Tabla 6. Las pruebas se realizaron por duplicado en 100 mL de la solución de almidón y se adicionó 0,2, 1,2 y 2,3 mL de la enzima preparada sin dilución (Figura 5). Finalmente, las muestras se incubaron a temperatura ambiente por 2 horas con agitación continua, y finalmente se cuantificó el almidón en todas las unidades experimentales.

Tabla 6. Condiciones para las pruebas de hidrólisis enzimática

Aumento de Enzima	Concentración almidón (g.L ⁻¹)	Volumen del ensayo (L)	Enzima (mL)
10	4	0,1	2,3
5	4	0,1	1,2
1	4	0,1	0,2

3.1.2.3 Pruebas de hidrólisis por pH.

Durante este ensayo se evaluó el efecto del pH en la hidrólisis del almidón. La prueba se realizó a pH 4.5, 6.5 y 8.0, cada uno fue evaluado por triplicado. Para el experimento se preparó una solución de almidón de 3gL⁻¹ en erlenmeyers de 250 mL; posteriormente, cada unidad experimental fue llevada a los pH seleccionados y se sometieron a agitación continua por 2 horas (Figura 6). La concentración de almidón fue cuantificada en el tiempo 0 y en todas las unidades experimentales cuando transcurrieron 2 horas bajo los pH evaluados.

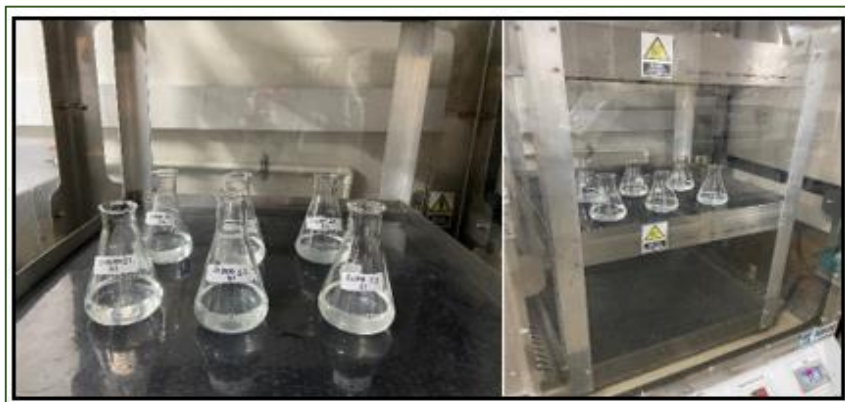


Figura 5 Montaje experimental de las pruebas de hidrólisis enzimática.



Figura 6 Montaje experimental para las pruebas del efecto del pH en la hidrólisis.

3.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.2.1 Identificación de mecanismos de remoción del BPA y SDF.

3.2.1.1 Caracterización de la biomasa empleada en las pruebas por lotes.

El lodo empleado para ambas pruebas (MET e H/A) tuvo un tiempo adecuado de aclimatación en los reactores EGSB, lo que permitió obtener biomasa con alta actividad biológica que favoreció el buen desempeño de los sistemas anaerobios. La evaluación de las principales características físicas de la biomasa se muestra en la Tabla 7. La relación SSV/SST indica que aproximadamente el 87 y 74 % de los sólidos totales presentes en la biomasa granular hidrolítica y metanogénica respectivamente, son de naturaleza orgánica, lo cual permitió tener un estimado del alto componente biológico de la muestra inoculada en las unidades experimentales.

Tabla 7. Características físicas del lodo empleado en las pruebas por lotes

Biomasa	SST (gL ⁻¹)	SSV (gL ⁻¹)	SSV/SST (%)
Hidrolítica/Acidogénica	31.34	27.17	87
Metanogénica	29.64	21.93	74

3.2.1.2 Análisis de las variables pH y ácidos grasos volátiles

La Figura 7 y Figura 8 permiten evidenciar que el pH de las unidades experimentales estuvo dentro de los rangos deseados para ambos tipos de experimentos (H/A y MET). Sin embargo, se destaca que durante el ensayo fue necesario dosificar bicarbonato (agente buffer) a los controles y a las muestras M1, M2, M3 Y M4 para los experimentos con inóculo H/A y MET, debido a que el pH del medio disminuyó por la alta producción de AGVs, esto explica las concentraciones obtenidas de ácidos grasos volátiles en el medio al final del experimento (Figura 9 y Figura 10).

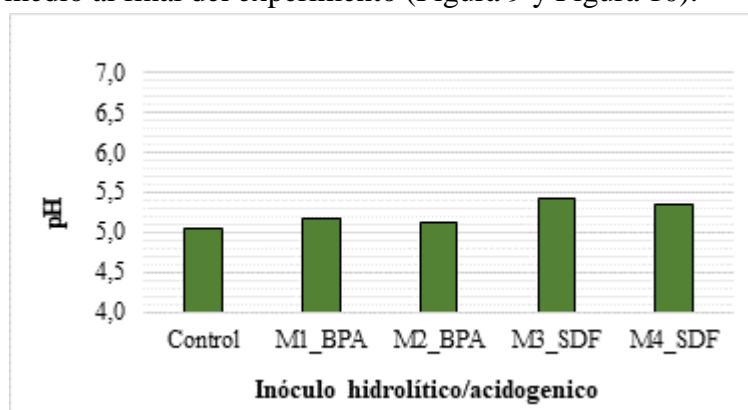


Figura 7 Comportamiento del pH en el control y las muestras con el inóculo H/A en el último día del experimento.

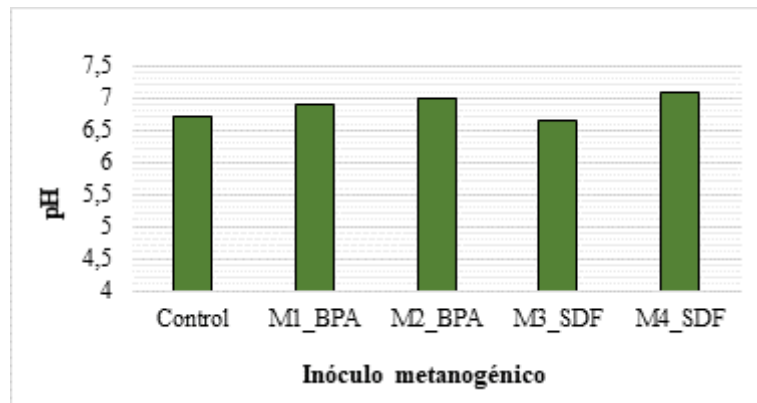


Figura 8 Comportamiento del pH en el control y las muestras con el inóculo MET en el último día del experimento.

La hidrólisis y la acidogénesis son las primeras fases de la digestión anaerobia de compuestos orgánicos complejos, los AGVs son los principales productos de la acidogénesis de la materia orgánica, la aparición de ácidos grasos volátiles indica la presencia y actividad de microorganismos hidrolíticos y acidogénicos durante los ensayos realizados (Parawira et al., 2004). Para el experimento con biomasa H/A los AGVs producidos en mayor proporción fueron los ácidos acético, butírico y propiónico (en orden descendente); y los ácidos i-butírico, valérico e i-valérico en cantidades insignificantes (Figura 9). Se observó que la concentración de AGVs en el control fue similar a la de las muestras con BPA y SDF, esto sugiere que ninguno de los PPCPs evaluados causó afectación sobre estos consorcios. Adicionalmente, los microorganismos acidogénicos no se inhibieron con las concentraciones evaluadas de los contaminantes. Por otro lado, para los experimentos con biomasa MET, los AGVs producidos en mayor proporción fueron los ácidos butírico, acético y propiónico (en orden descendente); y los ácidos valérico, i-valérico y butírico en cantidades insignificantes (Figura 10).

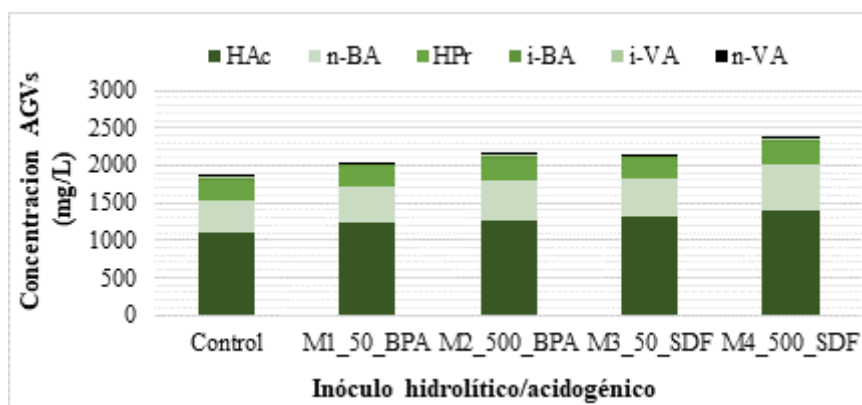


Figura 9 Concentración de AGVs en el control y en las muestras con inóculo H/A en el último día del experimento. Ácido Hac: Acético, HPr: Propiónico, i-BA: Iso-butírico, n-BA: Butírico, i-VA: Iso-valérico, n-VA Valérico.

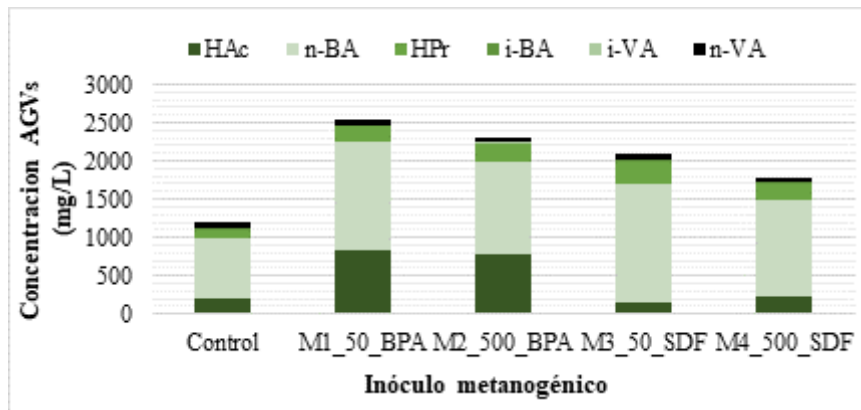


Figura 10 Concentración de AGVs en el control y en las muestras con inóculo MET en el último día del experimento. Ácido Hac: Acético, HPt: Propiónico, i-BA: Iso-butírico, n-BA: Butírico, i-VA: Isso-valérico, n-VA Valérico.

Las concentraciones encontradas al final del experimento sugieren que la DQO inicial fue demasiado alta para el inóculo metanogénico suministrado teniendo en cuenta que las unidades experimentales eran sistemas cerrados en batch. En este sentido, la producción de AGVs por parte de los microorganismos acidogénicos probablemente generó un desbalance, teniendo en cuenta que los microorganismos metanogénicos no transformaron la totalidad de los compuestos intermediarios en metano.

Muchos tipos de bacterias están involucradas en las fases hidrolítica y acidogénica; por lo tanto, se suelen producir varios tipos de ácidos orgánicos de acuerdo con el sustrato, las condiciones fisicoquímicas del medio, la carga orgánica, el tiempo de retención hidráulico, entre otros (Zhou et al., 2018). En concordancia con lo reportado por (Parawira et al., 2004), los ácidos acético, butírico y propiónico son los compuestos intermedios producidos principalmente durante la fermentación anaerobia de carbohidratos como el almidón (fuente principal de carbono usada en los experimentos). Adicionalmente; el pH puede afectar el tipo de AGV producido durante la fermentación acidogénica (W. S. Lee et al., 2014), este comportamiento también fue observado en los experimentos realizados, dado que en la unidades experimentales tratadas con el inóculo H/A (medio con pH ácido) fueron cuantificadas mayores concentraciones de ácido acético; mientras que en la unidades experimentales con el inóculo MET (medio con pH cercano a 7) fueron cuantificadas mayores concentraciones de ácido butírico al final del experimento. Debido a la menor cantidad de carbonos del ácido acético (HAc), este es convertido en metano por los microorganismos metanogénicos (Parawira et al., 2004), esto sugiere que la baja concentración de HAc al final de los experimentos con el inóculo metanogénico probablemente está relacionado con su transformación en metano; y de forma coherente con esto, la alta concentración de HAc al final de los experimentos con el inóculo acidogénico es un indicador de la supresión de la fase metanogénica.

3.2.1.3 Evaluación de la biodegradabilidad de BPA y SDF

La Figura 11 y Figura 12 muestra la concentración de BPA en el día 0 y 28 del experimento, para los blancos y las muestras tratadas con el inóculo H/A y MET

respectivamente. Se observa que la concentración de BPA disminuyó en los blancos 1 y 2 (B1_50_D28 y B2_500_D28) en el día 28 del ensayo para las dos concentraciones evaluadas. Dado que en los blancos 1 y 2 solo había presencia de medio estéril y el microcontaminante, esta respuesta se asocia a un mecanismo de hidrólisis parcial del BPA, dicho comportamiento fue observado en los ensayos con los dos tipos de inóculo. Estos resultados son consistentes con lo reportado sobre el comportamiento de BPA en las matrices ambientales, algunos autores indican que este compuesto se degrada relativamente rápido en el medio ambiente, con una vida media general de 4.5 a 4.7 días dependiendo del medio de liberación (Cousins et al., 2010). Aunque el BPA es considerado un compuesto pseudo persistente, su uso masivo como intermediario en la producción de resinas de policarbonato y epoxi, retardantes de llama y otros productos de uso masivo, ha hecho que se genere acumulación al punto de ser cuantificado en niveles alarmantes en diversas matrices ambientales (Gogoi et al., 2018; Mohapatra et al., 2011).

Por otro lado, la Figura 11 y Figura 12 muestra que la concentración de BPA disminuyó en los blancos 5 y 6 (B5_50_D28 y B6_500_D28) al final del experimento para ambas concentraciones evaluadas. Teniendo en cuenta que estas unidades experimentales fueron inoculadas con biomasa esterilizada, los resultados sugieren que ocurrieron otros mecanismos de eliminación diferentes a la biodegradación durante el experimento. La presencia de mecanismos abióticos se confirmó con los porcentajes de remoción calculados en los blancos con lodo esterilizado y en las muestras con lodo activo. Para las pruebas con inóculo H/A, los porcentajes de remoción obtenidos en los blancos 5 y 6 estuvieron alrededor del 43%, para las muestras 1 y 2 fueron 60 y 64 % respectivamente. De manera semejante, en las pruebas con inóculo MET, los porcentajes de remoción obtenidos en los blancos 5 y 6 estuvieron alrededor del 49%, para las muestras 1 y 2 fueron 74 y 66 % respectivamente. Estos resultados indican que la disminución del BPA en la fase líquida estuvo relacionada principalmente con un mecanismo de sorción en la biomasa. Por lo tanto, la sorción fue el mecanismo predominante bajo las condiciones experimentales empleadas en el experimento para ambos inóculos, H/A y MET.

Se ha reportado que existen mecanismos de sorción/acumulación apreciables para valores $K_{ow} > 3$ (Londoño & Peñuela, 2017). Según Cousins *et al.* (2010) el coeficiente octanol-agua del BPA (Log K_{ow} 3.43) hace que tenga una tendencia parcialmente lipofílica; es decir, es factible que esté adherido a fases orgánicas como suelos y sedimentos; sin embargo, una fracción del compuesto puede estar presente en la fase acuosa. Adicionalmente, ha sido reportado que el valor del coeficiente de partición del BPA varía de acuerdo con las condiciones redox del medio, incrementando bajo condiciones anaerobias, este hecho podría explicar la tendencia del compuesto a la sorción durante las pruebas anaerobias realizadas (L. Wang et al., 2014). En resumen, la sorción en el lodo es un mecanismo que ha sido reportado previamente para la eliminación de múltiples microcontaminantes en procesos biológicos (Carneiro et al., 2020; Londoño & Peñuela, 2017).

Dado que el comportamiento de sorción puede verse afectado por las condiciones del medio como el valor del pH, el coeficiente Dow tiene en cuenta los dos principales mecanismos de sorción: absorción (interacciones hidrofóbicas caracterizadas por el valor K_{ow}) y adsorción (interacciones electrostáticas relacionadas con la tendencia de la sustancia a disociarse en fase acuosa, que se caracteriza por la constante de disociación, pK_a); o por la formación de puentes de hidrógeno (Arcos, 2005). En este sentido, un PPCP puede generar especies no ionizadas, que predominarán en la partición en octanol y agua, y especies ionizadas, que generalmente permanecerán en el compartimento acuoso (Londoño, 2018). A partir de la revisión bibliografía se encontró que el Dow del BPA ($pH=5$) es 3.32 (Carneiro et al., 2020), de manera que este parámetro coincide con el valor del $\log K_{ow}$ reportado para este compuesto. Esto indica que el K_{ow} bajo el cual se realizó el análisis de la sorción del bisfenol A, permitió describir adecuadamente las particiones ambientales o interacciones dinámicas del compuesto en los experimentos con el inóculo H/A, dado que no hay influencia del pH sobre el mecanismo de sorción de este compuesto.

Teniendo en cuenta lo anterior, los resultados obtenidos con el BPA en los tratamientos con biomasa H/A y MET, sugieren que los porcentajes de remoción calculados en las unidades experimentales con lodo activo están relacionados principalmente con mecanismos como la sorción sobre la biomasa y reacciones abióticas como la hidrólisis (en menor proporción), este hecho también podría explicar la baja incidencia de la concentración en la remoción del BPA. De manera semejante, diversos autores indican que el BPA no se biodegrada bajo condiciones anaeróbicas (J. H. Kang & Kondo, 2002; Limam et al., 2013). Por otro lado, mecanismos como la fotooxidación y la volatilización no fueron considerados relevantes para las condiciones en las cuales se llevaron a cabo los ensayos, dado que las unidades experimentales no fueron expuestas a radiación solar directa ni a fuertes turbulencias; de igual manera, otros estudios han reportado que para las condiciones anaerobias de degradación estos mecanismos no son significativos (Londoño, 2018).

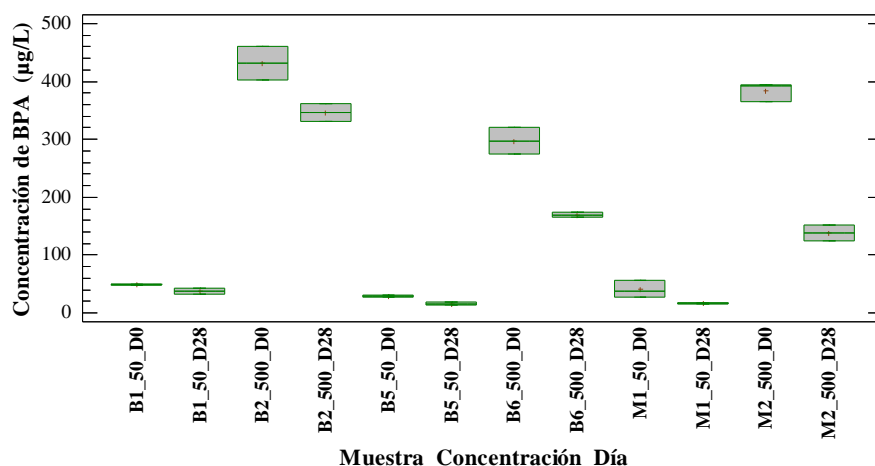


Figura 11 Comportamiento de la concentración de BPA para blancos y muestras con inóculo H/A.

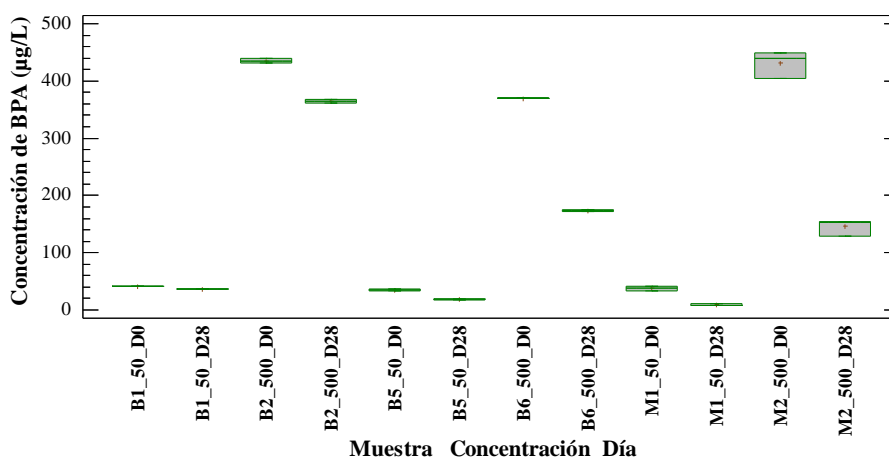


Figura 12 Comportamiento de la concentración de BPA para blancos y muestras con inóculo MET.

La Figura 13 y Figura 14 muestran la concentración de SDF en los días 0 y 28 del experimento, para los blancos y las muestras tratadas con el inóculo H/A y MET respectivamente. Las pruebas con los blancos 3 y 4 (B3_50_D28 y B4_500_D28) señalan que la concentración del SDF se mantuvo durante el tiempo del experimento para los ensayos con biomasa H/A y MET, esto indica que no se presentaron mecanismos de hidrólisis durante el experimento. Por otro lado, los blancos 7 y 8 (B7_50_D28 y B8_500_D28) presentaron mínimos cambios en la concentración en el día 28, por lo tanto, la sorción no se considera un mecanismo predominante para la remoción del sildenafil bajo las condiciones del ensayo. Los resultados obtenidos tienen concordancia con el coeficiente de partición reportado para el SDF (LogKow 1.9), el cual indica que este compuesto tiene una muy baja tendencia a adsorberse de forma apreciable sobre el lodo (Son et al., 2022). Teniendo en cuenta lo anterior, la remoción obtenida para el sildenafil fue relacionada con un mecanismo de biodegradación; no obstante, la remoción del contaminante del medio fue parcial, con porcentajes inferiores al 43% y 41% en las pruebas con inóculo H/A y MET respectivamente. Considerando que los porcentajes obtenidos fueron semejantes con ambos tipos de biomasa, los resultados sugieren que la hidrólisis y la acidogénesis son las principales fases contribuyentes a la biodegradación de SDF.

Se presume que las remociones obtenidas que fueron vinculadas a un proceso de biodegradación están relacionadas con mecanismos co-metabólicos, puesto que los PPCPs empleados en el estudio fueron dosificados en concentraciones muy bajas y no representan un aporte significativo de carbono para ser empleados como sustrato por parte de los microorganismos. Varios autores sugieren que el cometabolismo es probablemente el principal mecanismo responsable de la biodegradación de los microcontaminantes debido al rango de concentración en el que se encuentran, pues la biotransformación de los PPCPs solo puede ocurrir metabólicamente si la energía generada a partir de dicha reacción es suficiente para promover el crecimiento y el mantenimiento de la biomasa (Carneiro et al., 2020; Gonzalez-Gil et al., 2019; Londoño, 2018)

Por otro lado, dado que durante la fermentación del almidón se producen un gran número de enzimas extracelulares, que podrían dar lugar a una mayor biotransformación cometabólica de los microcontaminantes, podría esperarse que la hidrólisis sea la etapa más eficiente para la biodegradación del SDF (Gonzalez-Gil et al., 2018). No obstante, Carneiro et al. (2020) indicó que la hidrólisis de carbohidratos juega un menor papel en la biotransformación anaerobia de algunos microcontaminantes, y la acidogénesis es la fase clave. En este sentido, se ha identificado que la incidencia de las fases de la digestión anaerobia sobre la biodegradación de un compuesto depende de aspectos como las características fisicoquímicas del contaminante, el sustrato, las condiciones que favorecen la producción enzimática, entre otros. Teniendo en cuenta lo anterior, el alcance de este experimento solo permite concluir que las fases de hidrólisis y/o acidogénesis están involucradas en la biotransformación anaerobia del SDF, mientras que la acetogénesis y metanogénesis tienen una baja incidencia en la biodegradación de este compuesto bajo las condiciones experimentales de este estudio.

Se han reportado eficiencias de remoción superiores al 97% en humedales plantados y alrededor del 40% en humedales artificiales para el SDF (Delgado et al., 2020), ahora bien, simultáneos procesos pueden ocurrir en los humedales, tales como volatilización, sorción, sedimentación, fotodegradación, absorción por plantas, degradación microbiana; y contribuir a la eliminación o transformación del SDF. Adicionalmente, la eliminación de sildenafil ha sido evaluada en aguas residuales tratadas con hongos de pudrición blanca, indicando porcentajes de biodegradación superiores al 95% en estudios previos (Tormo-Budowski et al., 2021). En contraste con lo anterior, se han notificado eficiencias de eliminación inferiores al 20% para el SDF en plantas de tratamiento convencionales y en tratamientos biológicos de película fija (Delgado et al., 2019). Así mismo, Suanon et al. (2017) reportó eficiencias negativas de eliminación del sildenafil en digestores anaerobios. Cabe destacar que, es escasa la información reportada sobre la degradación biológica del SDF en ecosistemas acuáticos o en sistemas de tratamiento bajo condiciones anaerobias.

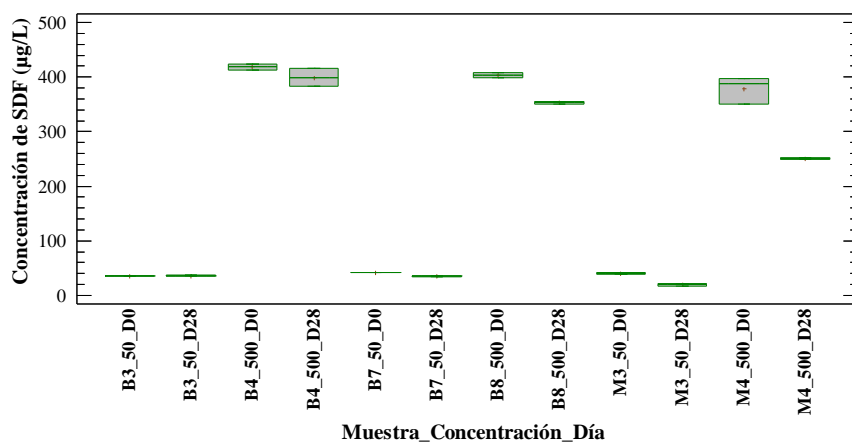


Figura 13 Comportamiento de la concentración de SDF para blancos y muestras con inóculo H/A.

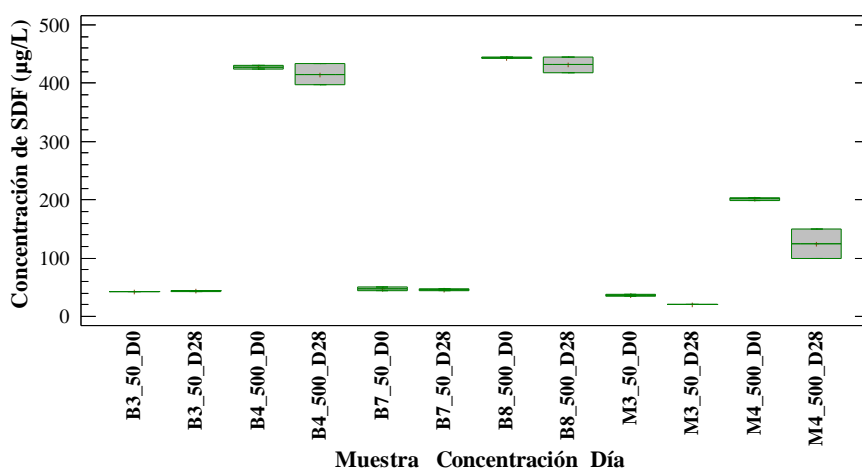


Figura 14 Comportamiento de la concentración de SDF para blancos y muestras con inóculo MET.

3.2.1.4 Efecto de los factores experimentales en la remoción de BPA y SDF.

La Figura 15 muestra los resultados obtenidos para la remoción de los compuestos BPA Y SDF evaluados en los dos niveles preestablecidos en el diseño experimental, después de ser tratados con biomasa hidrolítica/acidogénica y metanogénica respectivamente. El comportamiento observado sugiere de forma preliminar que el incremento en la concentración de BPA no tuvo un efecto marcado sobre las remociones obtenidas, esta tendencia fue identificada en los resultados con el inóculo metanogénico. De forma semejante, las pruebas con el inóculo H/A evidenciaron una tendencia similar; a excepción de los experimentos con una concentración inicial de $50 \mu\text{gL}^{-1}$ de BPA, donde se obtuvo una remoción promedio de 48.56%, inferior en relación con la obtenida en los demás ensayos con el mismo compuesto, este hecho se relacionó con la dispersión estadística de los datos obtenidos en estas unidades experimentales y su significancia fue evaluada posteriormente.

Para el caso del sildenafil, Figura 15 muestra que las remociones medias obtenidas en la mayoría de los ensayos fueron inferiores en comparación con las alcanzadas en las pruebas con el BPA, este hecho se evidenció en las unidades experimentales tratadas con inóculo H/A ($500 \mu\text{gL}^{-1}$) y MET. Por otro lado, los valores medios obtenidos para la remoción del SDF con el inóculo MET no presentaron diferencias entre sí al aumentar la concentración inicial del PPCP, de forma similar al comportamiento observado con el BPA. Sin embargo, los experimentos con el inóculo H/A para una concentración inicial de $50 \mu\text{gL}^{-1}$ de SDF presentaron una remoción promedio de 51.40 %, superior en relación con la obtenida en los demás ensayos con el mismo compuesto, su significancia fue evaluada posteriormente.

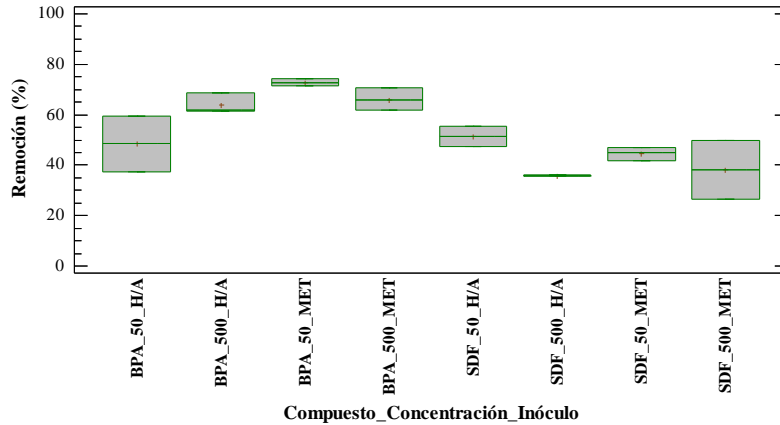
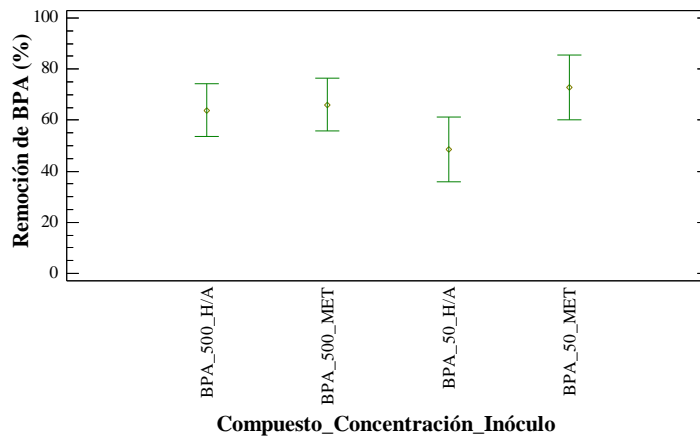


Figura 15 Remoción de BPA y SDF después del tratamiento con inóculo H/A y MET.

Para evaluar la significancia entre las medias obtenidas se llevó a cabo una prueba de rangos múltiples usando el test de Tukey. Los resultados obtenidos después de aplicar el procedimiento de comparación múltiple indican que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los pares de medias contrastadas con un nivel de confianza del 95.0%, la Figura 16 muestra de forma gráfica los resultados de la prueba realizada. Lo anterior indica que las concentraciones del experimento (en el rango evaluado de 50-500 μgL^{-1}) no tuvieron un efecto diferencial sobre la remoción de BPA y SDF. Adicionalmente, los resultados sugieren que bajo las condiciones del experimento el tipo de inóculo no tuvo un efecto significativo sobre la remoción de los PPCPs con un nivel de confianza del 95.0%.



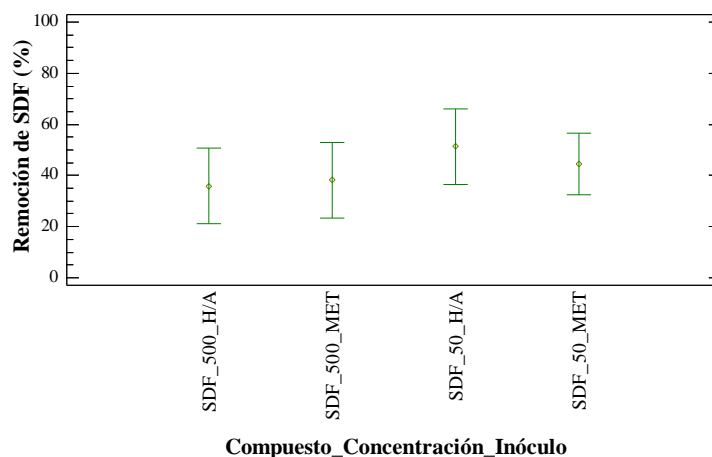
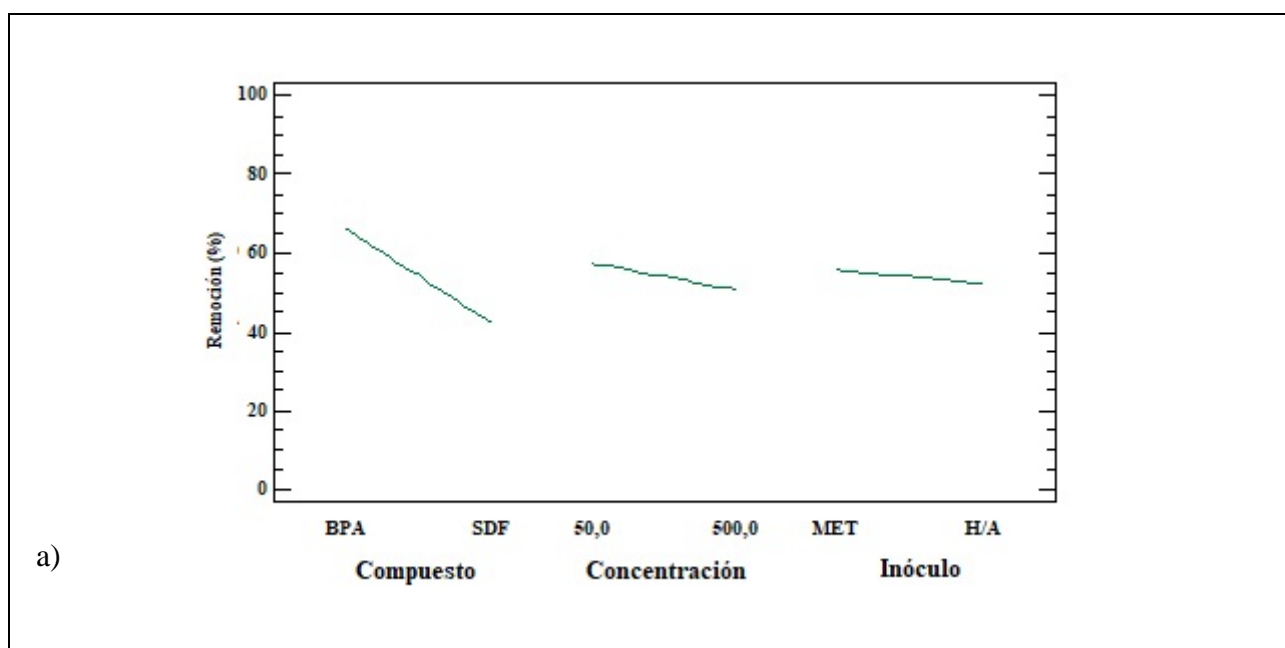


Figura 16 Gráfico de prueba de rangos múltiples para experimentos con BPA y SDF.

El efecto de los factores evaluados en el diseño experimental es mostrado en la gráfica de efectos principales y el diagrama de Pareto (

Figura 17). Es importante resaltar que el diagrama de Pareto indica la magnitud y significancia del efecto de cada factor evaluado, así como la interacción de estos en la variable de respuesta (Rubio-Clemente et al., 2019), en este caso el porcentaje de remoción. En el diagrama de Pareto, la línea de referencia (línea vertical) indica el valor crítico, así que cualquier efecto que exceda esta línea puede ser considerado como significativo. El signo positivo/negativo indica si los efectos principales y de interacción influyen en la respuesta de forma positiva o negativa, respectivamente. Teniendo en cuenta esto, los factores evaluados mostraron un efecto negativo sobre la variable de respuesta, excepto para la interacción de los factores “AC” (Compuesto. Inóculo). Sin embargo, ninguno de los factores tuvo un efecto significativo (nivel de confianza del 95%) en el porcentaje de remoción, esto tiene concordancia con los resultados obtenidos en las pruebas de rangos múltiples.



a)

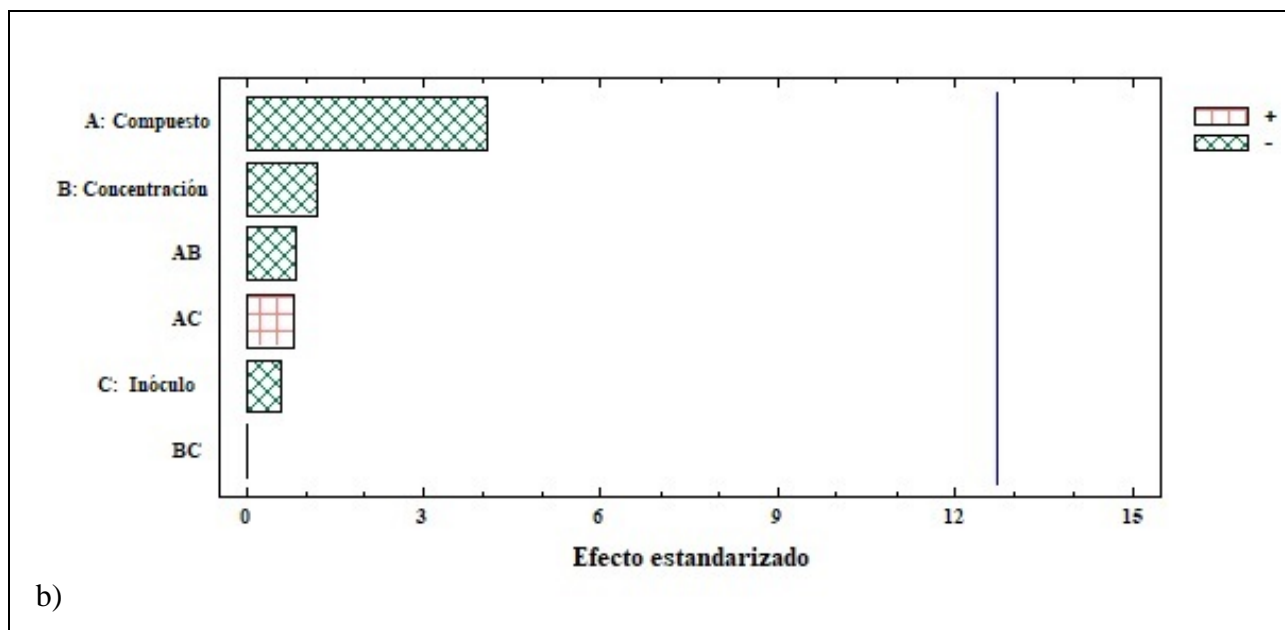


Figura 17 a) Gráfico de efectos principales. b) Diagrama de Pareto para porcentaje de remoción (%). Compuesto: BPA, SDF; Concentración: 50, 500 $\mu\text{g L}^{-1}$; Inóculo: H/A, MET.

3.2.2 Evaluación de la hidrólisis enzimática como alternativa de pretratamiento.

Las pruebas fueron realizadas para estudiar el efecto de una enzima tipo amilasa en la hidrólisis del almidón, como alternativa para el pretratamiento de aguas residuales con alto componente orgánico (como la empleada en este estudio). Es importante resaltar que la fase hidrolítica de la degradación anaerobia ha sido reportada como una etapa limitante en el tratamiento de aguas residuales con alta carga orgánica. De esta manera, los pretratamientos son una alternativa que permite optimizar la eficiencia de remoción del componente orgánico durante los tratamientos biológicos (Gómez Tovar, 2008).

3.2.2.1 Actividad amilasa total.

De acuerdo con el procedimiento descrito previamente, la actividad enzimática se calculó a partir de la pendiente máxima de las curvas obtenidas de concentración de almidón frente al tiempo, los factores de dilución 500 y 1000 de la enzima empleada permitieron obtener un ajuste R^2 mayor a 0.98. Finalmente, la actividad enzimática amilasa total calculada fue de $1200 \text{ mg almidón} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, la actividad se definió como los mgL^{-1} de almidón transformados en un minuto por la acción de la enzima presente en la muestra. Con base en la actividad amilasa total se realizaron las pruebas de hidrólisis enzimática con el almidón.

3.2.2.2 Pruebas de hidrólisis enzimática

Los resultados de la prueba revelaron una alta actividad por parte de la enzima α -amilasa que pudo evidenciarse con la reducción de la concentración del almidón después de dos horas de reacción (Tabla 8). La cuantificación del almidón fue realizada con la curva de calibración del método yodo/almidón (Tabla 5). Al final del experimento se encontró que la mayor remoción de almidón fue alcanzada en las unidades experimentales

con 1.2 y 2.3 mL de la enzima. Sin embargo, la concentración final obtenida en las muestras con la mayor adición de la enzima (2.3 mL) fue levemente mayor a la concentración final obtenida en las muestras con la adición intermedia de la enzima (1.2 ml); es decir, en este rango de trabajo el mayor aumento de la enzima no generó la mayor degradación. Este mismo comportamiento fue identificado durante la determinación de la actividad α -amilasa total para los menores y mayores factores de dilución evaluados, esto sugiere que la enzima altera su comportamiento hidrolítico cuando la adición de esta es muy baja o demasiado alta. De allí la importancia de evaluar previamente su actividad y la dosificación adecuada que permita realizar la hidrólisis óptima del medio sin alterar su funcionamiento. Con base en los resultados obtenidos, la adición intermedia de la enzima (1.2 mL) fue la que permitió obtener los mejores resultados en cuanto a la disminución de la concentración de almidón en el medio. En general, los resultados obtenidos mostraron un efecto sustancial de la enzima en la hidrólisis parcial del almidón a dextrinas (licuefacción), indicando que la α -amilasa es una opción adecuada de pretratamiento, que facilitaría la etapa hidrolítica durante el proceso anaerobio, mejorando así la eficiencia de remoción del componente orgánico presente en el agua residual.

Tabla 8. Concentración de almidón obtenida después de someter las muestras a tres concentraciones de la enzima α -amilasa con un tiempo de reacción de dos horas

Descripción del ensayo	Concentración mg almidón L ⁻¹
Concentración inicial de almidón	4007.37 \pm 0.0006
0.2 mL Réplica1	117.89 \pm 17.37
0.2 mL Réplica2	
1.2 mL Réplica1	0.33 \pm 0.03
1.2 mL Réplica2	
2.3 mL Réplica1	17.89 \pm 4.96
2.3 mL Réplica2	

3.2.3 Evaluación de la hidrólisis mediante la variación del pH.

El objetivo principal del ensayo fue verificar que el rango de pH en el que operaron los sistemas EGSB no desencadenara la hidrólisis parcial del almidón, dado que esto podría generar una interferencia con el proceso de degradación biológica evaluado. Los pH seleccionados (4.5, 6.5 y 8.0) abarcaron el rango de operación del reactor H/A y MET.

Los resultados obtenidos al realizar variaciones en el pH no reflejaron un cambio sustancial en la concentración de almidón en el medio (Tabla 9), la variación obtenida se atribuye a la incertidumbre del procedimiento y al método espectrofotométrico empleado. Esto sugiere que el pH no tuvo un efecto hidrolítico en la estructura del almidón, en el rango de pH usado en los reactores durante la operación de los sistemas EGSB.

Tabla 9. Concentraciones obtenidas en la prueba de hidrólisis por pH con un tiempo de reacción de dos horas

Descripción del ensayo	Concentración de almidón (mg L ⁻¹)	Disminución (mg L ⁻¹)
Muestra almidón, t=0	2980.90 ± 22.02	-
Muestra pH 4.5, t=2h	2770.69 ± 57.47	210.21
Muestra pH 6.5, t=2h	2858.38 ± 43.24	122.52
Muestra pH 8.0, t=2h	2804.72 ± 17.42	176.18

3.3 CONCLUSIONES.

Los porcentajes de remoción obtenidos con el BPA en los tratamientos en batch con biomasa H/A y MET, fueron relacionados principalmente con la sorción como mecanismo predominante, seguido por la hidrólisis. En contraste con esto, los resultados obtenidos con el SDF en los tratamientos con biomasa H/A y MET, indicaron que la biodegradación fue el mecanismo predominante bajo las condiciones del ensayo. Sin embargo, la degradación obtenida fue parcial, con porcentajes de remoción inferiores a 43% y 41% para los experimentos con inóculo H/A y MET respectivamente.

Los resultados de las pruebas estadísticas indicaron que los factores evaluados no tuvieron un efecto significativo sobre el porcentaje de remoción del BPA y SDF bajo las condiciones del experimento. En el caso del SDF, los resultados sugieren que la remoción obtenida está relacionada con un mecanismo de biodegradación, donde los consorcios hidrolíticos/acidogénicos tuvieron el rol principal sobre la degradación del compuesto.

Se presume que las remociones obtenidas que fueron vinculadas a un proceso de biodegradación están relacionadas con mecanismos de cometabolismo, puesto que los PPCPs empleados en el estudio fueron dosificados en concentraciones muy bajas y no representan un aporte significativo de carbono para ser empleados como sustrato por parte de los microorganismos.

El contacto de la biomasa con cada PPCP no generó efectos adversos (tóxicos o inhibidores) en las poblaciones microbianas en el rango de concentración evaluado. En los experimentos con biomasa H/A esto fue verificado con el control acidogénico, donde la concentración de AGVs producidos fue similar a la de las muestras con BPA y SDF. Por otro lado, la inhibición de la biomasa MET fue evaluada en los experimentos control, particularmente con la remoción de COT, donde la eliminación del sustrato fue similar tanto en el control como en las muestras con BPA y SDF. No obstante, la baja remoción del sustrato altamente biodegradable fue un indicador de la disminución de la actividad metanogénica, tanto en los experimentos control como en las muestras.

Las pruebas enzimáticas indicaron que la α -amilasa es una opción adecuada de pretratamiento, que permitiría incrementar la eficiencia de remoción de la carga orgánica en aguas residuales con una elevada concentración de almidón.

Los ensayos indicaron que el rango de pH en el que operaron los sistemas EGSB, no desencadenó un efecto hidrolítico en la estructura del almidón, por lo tanto, el pH no se considerada una interferencia para el experimento.

4 PRUEBAS EN CONTINUO CON SISTEMAS ANAEROBIOS EGSB.

4.1 MATERIALES Y MÉTODOS.

4.1.1 Montaje de los sistemas EGSB.

Se instalaron tres reactores anaerobios EGSB en el laboratorio del Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación (GDCON) de la Universidad de Antioquia - Facultad de Ingeniería, ubicado en la Sede de Investigación Universitaria (SIU). Los reactores fueron previamente construidos en acrílico a escala de laboratorio con un volumen útil de 3.4 litros. La geometría y dimensionamiento de los sistemas empleados fue reportada por Londoño (2018).

Los reactores fueron operados con flujo continuo ascendente, en cada reactor el afluente ingresaba por la parte inferior donde era distribuido de manera uniforme por medio de una placa perforada y controlado por una bomba peristáltica. En la parte superior cada reactor contaba con dos dispositivos de salida, uno encargado de recircular parte del efluente, también controlado por una bomba peristáltica y otro encargado de evacuar el efluente excedente; de esta forma, el caudal de alimentación y recirculación pudo ser regulado durante toda la operación de los sistemas EGSB. La experimentación se llevó a cabo bajo condiciones mesófilas, a temperatura ambiente (22 a 26 °C). Adicionalmente, los reactores fueron instalados en un espacio cerrado evitando al máximo la exposición a condiciones ambientales desfavorables que pudieran afectar el comportamiento en la degradación de los contaminantes. La Figura 18 muestra el esquema del sistema EGSB empleado en la experimentación.

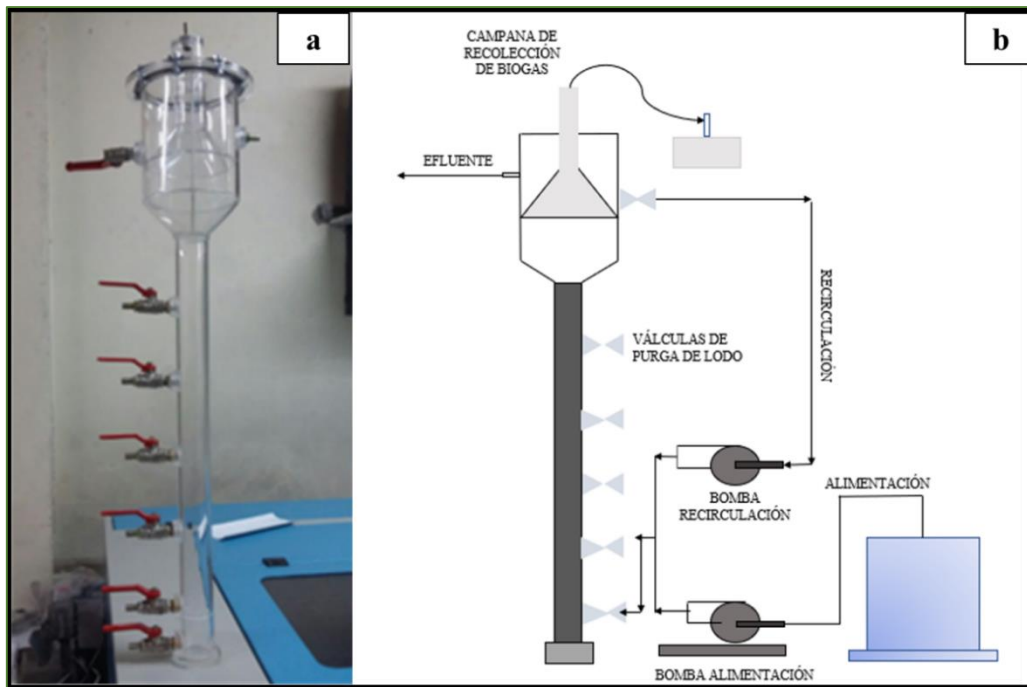


Figura 18 a) Imagen del reactor EGSB empleado en este estudio (Londoño, 2018) y b) Esquema del sistema EGSB con alimentación y recirculación de caudal.

4.1.2 Arranque experimental de los sistemas EGSB.

En cada reactor se realizó el arranque y optimización hasta alcanzar las condiciones adecuadas para realizar la remoción de la materia orgánica y evaluar la biodegradación del bisfenol A y sildenafil. La Figura 19 presenta el esquema general del montaje experimental empleado en este estudio.

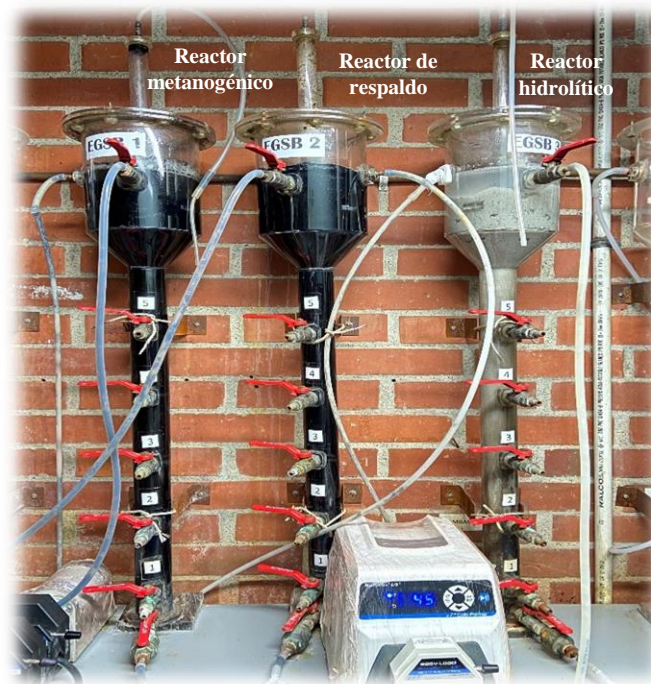


Figura 19 Montaje experimental de los sistemas EGSB instalados en el grupo GDCON

El sistema EGSB 1 (izquierda) fue empleado para evaluar la degradación de los PPCPs bajo la ruta completa de la digestión anaerobia, de ahora en adelante nombrado reactor metanogénico (MET). El sistema EGSB 2 (centro) fue empleado como un reactor de respaldo, este fue aclimatado para ser empleado en caso de que los otros reactores se desestabilizaran por las cargas aplicadas durante la operación; y el sistema EGSB 3 (izquierda) fue empleado para evaluar la degradación de los PPCPs bajo condiciones hidrolíticas/acidogénicas, de ahora en adelante nombrado reactor hidrolítico (H/A).

4.1.3 Estrategia operacional.

○ Reactor metanogénico

El reactor metanogénico fue operado con flujo continuo por un periodo de 414 días divididos en 5 fases de operación, de acuerdo con la estrategia operacional planteada en la Tabla 10.

En la fase I se ejecutó el periodo de aclimatación de la biomasa sin la adición de microcontaminantes. Este proceso se llevó a cabo con un aumento progresivo de la carga orgánica volumétrica (COV) desde 0.5 gDQO/L.d hasta llegar a 3 gDQO/L.d. Como criterio del estado de actividad de la biomasa se empleó la remoción de la materia orgánica en términos de DQO con valores por encima del 80%. De forma paralela, el reactor de respaldo fue aclimatado con la misma metodología que el reactor metanogénico.

A partir de la fase II se inició la aplicación de la mezcla de los microcontaminantes BPA y SDF, entre la fase II y V se aplicaron cargas crecientes de los PPCPs (co-sustrato) desde 0.06 hasta 0.24 mgDQO/L.d; por otro lado, la carga orgánica volumétrica del sustrato también se incrementó gradualmente en cada fase hasta llegar a 14.4 gDQO/L.d en la fase V. El reactor fue operado con una velocidad ascensional de 2 m/h.

Para evaluar la degradación bajo la ruta anaerobia completa, el sistema EGSB metanogénico se operó manteniendo las condiciones idóneas para alcanzar un equilibrio en el reactor, de forma que permitiera el crecimiento de los consorcios microbianos que intervienen en todas las etapas de la digestión anaerobia: microorganismos hidrolíticos, acidogénicos, acetogénicos y metanogénicos.

Tabla 10. Estrategia operacional para la evaluación de la degradación de los PPCPs bajo la ruta completa.

Reactor	Descripción	Tiempo de experimentación (Días)	TRH (h)	Carga mix PPCPs afluente (mgDQO/L.d)	COV afluente (gDQO/L.d)
EGSB RUTA COMPLETA	Fase I	0-29	24	-	0,5
		30-48	24		1
		49-62	24		2
		63-261	24		3
	Fase II	262-283	20	0,06	3,6

Reactor	Descripción	Tiempo de experimentación (Días)	TRH (h)	Carga mix PPCPs afluente (mgDQO/L.d)	COV afluente (gDQO/L.d)
	Fase III	284-322	10	0,12	7,2
	Fase IV	323-394	8	0,15	9
	Fase V	395-414	5	0,24	14,4

○ **Reactor hidrolítico**

En cuanto al reactor hidrolítico, este fue operado con flujo continuo por un periodo de 414 días, divididos en 2 fases de operación de acuerdo con la estrategia operacional planteada en la Tabla 11.

En la fase I se realizó el arranque del reactor sin la adición de microcontaminantes, durante este tiempo se llevó a cabo el proceso de aclimatación de la biomasa con una COV desde 1 gDQO/L.d hasta llegar a 8 gDQO/L.d. Para lograr las condiciones favorables para la fase hidrolítica, este reactor fue operado con un rango de pH alrededor de 5.0-5.5, el rango óptimo para los microorganismos hidrolíticos y acidogénicos (Zhou et al., 2018).

Durante la fase II se inició la aplicación de la mezcla de los contaminantes BPA y SDF. El reactor se operó usando un tiempo de retención hidráulico de 12 horas, se evaluó una carga de 0.1 mgDQO/L.d de los PPCPs en conjunto y una COV del sustrato de 8 gDQO/L.d durante toda la operación. El reactor fue operado con una velocidad ascensional de 3.4 m/h. Para evaluar la degradación bajo condiciones hidrolíticas, se mantuvieron las condiciones de pH y alcalinidad establecidas durante el arranque.

Tabla 11. Estrategia operacional para la evaluación de la degradación de los PPCPs bajo condiciones hidrolíticas.

Reactor	Descripción	Tiempo de experimentación (Días)	TRH (h)	Carga mix PPCPs afluente (mgDQO/L.d)	COV afluente (gDQO/L.d)
EGSB REACTOR HIDROLÍTICO	Fase I	0-29	24	-	1
		30-48	12		4
		49-62	12		6
		63-261	12		8
	Fase II	262-414	12	0,1	8

Durante el desarrollo de la experimentación se monitorearon los parámetros de la Tabla 12 para realizar el seguimiento del reactor metanogénico e hidrolítico; y evaluar posteriormente su eficiencia en la remoción de materia orgánica y los PPCPs. El

seguimiento de los reactores fue llevado a cabo mediante caracterizaciones del afluente, efluente y del lodo de cada reactor. Esto se logró, realizando muestreos durante el arranque y toda la operación de los sistemas EGSB. Los parámetros analizados, el punto de muestreo y la frecuencia de recolección se presentan en la Tabla 12.

Tabla 12. Estrategia de muestreo y recolección de datos durante la operación de los reactores.

Fase de muestra	Parámetro	Frecuencia de recolección	Punto de muestreo	Volumen de la muestra	Día
Líquida	pH	Diaria	Afluente/Efluente	50 mL	Lunes-Domingo
	Alcalinidad	Diaria	Afluente/Efluente		Lunes-Domingo
	DQO	2/ Semana	Afluente/Efluente	50 mL	Martes y Viernes
	AGVs	1/ Semana	Efluente	50 mL	Martes y Viernes
	NTK	1 / Semana	Afluente	100 mL	Martes /Fase inicial
	Fosforo total				
	PPCPs	2/ Semana	Afluente/Efluente	50 mL	Martes y Viernes
Sólida/ Biomasa	ST	Caracterización completa antes del montaje / Al final de cada fase/ completa al final de la experimentación	Lodo proveniente de reactor UASB de Planta Colanta/ Válvulas ubicadas en el cuerpo del reactor EGSB	200 mL	--
	SV				
	IVL				
	Vsed				
	Distribución por tamaño				
	Densidad				
	SEM			2 mL	
Gaseosa	Metano	1/Semana	Campaña de recolección de biogás	500 mL	Martes y Viernes

4.1.4 Preparación del agua residual.

Para la preparación del agua residual sintética (ARS) se adoptó el procedimiento reportado por Rodríguez & Peñuela. (2017), empleando una fuente de carbono diferente (almidón). El ARS se preparó adicionando 0.05 g/L de urea, bicarbonato de sodio (dosificado de acuerdo con la carga) y almidón como fuente de carbono, la cantidad adicionada estuvo sujeta a la estrategia operacional. Adicionalmente, la matriz acuosa fue enriquecida con los macronutrientes y micronutrientes respectivos para el metabolismo anaerobio según lo reportado por Londoño et al. (2012).

Para solubilizar la fuente de carbono, se adicionó una cantidad previamente pesada de almidón de papa en un erlenmeyer de 1 litro y se diluyó en agua a temperatura ambiente, esta mezcla fue sometida a agitación y calentamiento constante (sin dejar

hervir) hasta observar la disolución completa (Figura 20). Dado que las concentraciones evaluadas durante la experimentación fueron altas, este proceso debió realizarse en varias etapas para asegurar la correcta dilución de todo el almidón.

Durante la fase de operación, la adición de los microcontaminantes al ARS se hizo de manera controlada para lograr solubilizar los componentes en todo el volumen de agua. Para lograr la máxima solubilidad del bisfenol A y el sildenafil se prepararon soluciones concentradas en metanol con la mezcla de los estándares de los PPCPs, luego se diluyó una alícuota específica de esta solución en 3 litros del ARS y se sometió a agitación constante durante 4 horas empleando una plancha de agitación; posteriormente, se mezcló con el resto del volumen de alimentación, realizando múltiples enjuagues al recipiente donde se realizó la mezcla inicial y se aforó, finalmente el volumen total fue agitado vigorosamente.

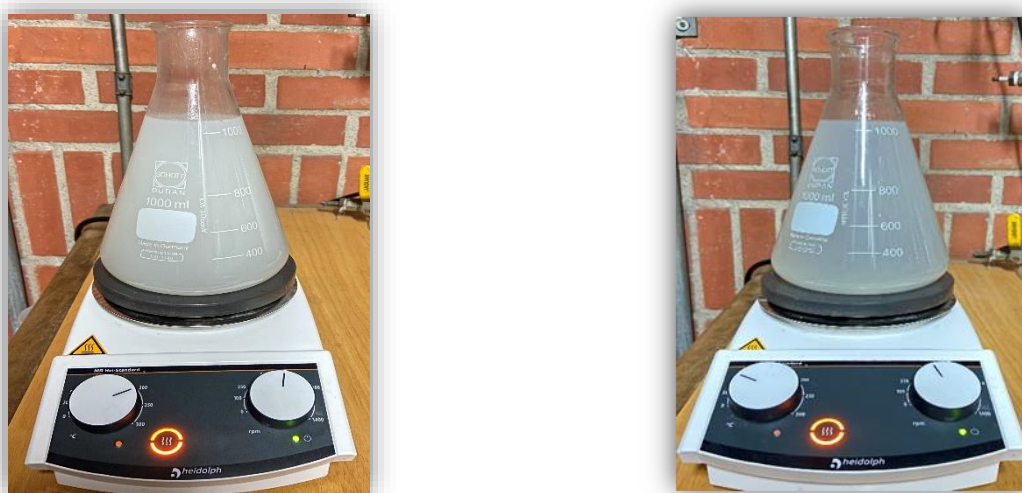


Figura 20 Fotografía del proceso de dilución de almidón mediante calentamiento a) antes de la dilución (izquierda). b) después de la dilución (derecha).

4.1.5 Métodos analíticos.

Todos los análisis fueron realizados en el grupo de investigación GDCON, el laboratorio está acreditado por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia (IDEAM), bajo los lineamientos de la norma NTC-ISO/IEC 17025 “Requisitos generales de competencia de laboratorios de ensayo y calibración”.

4.1.5.1 Análisis de la fase líquida.

○ pH

Es la medida de la actividad de los iones hidrógeno por medio de mediciones potenciométricas (APHA, 2017). El pH es un parámetro importante para controlar en los sistemas anaerobios, dada su gran influencia en el metabolismo microbiano. Adicionalmente, gran parte de los tratamientos químicos realizados en el agua dependen del mismo (Rodríguez, 2015).

La determinación se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito en el apartado 4500 H+ B. “Electrometric Method” de los protocolos normalizados del Standard Methods para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, 2017). El equipo empleado para las mediciones fue un pH metro 7110 WTW.

- **Alcalinidad.**

Es una medida de la capacidad buffer del medio que permite controlar el pH. La alcalinidad puede generarse por hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos de elementos como los iones de calcio, magnesio, sodio, potasio o amonio, donde los bicarbonatos de calcio y magnesio son los precursores más comunes (Londoño, 2018). La capacidad buffer se refiere con frecuencia a la alcalinidad bicarbonática del sistema anaerobio, que proporciona resistencia a cambios significativos y rápidos en el pH.

En los reactores anaerobios, el monitoreo de la alcalinidad bicarbonática, es tan importante como el seguimiento del pH, dado que este parámetro está en una escala logarítmica, un cambio pequeño en el pH implica el consumo de una gran cantidad de alcalinidad, reduciendo así la capacidad tampón del medio. En términos operacionales debe mantenerse una alta alcalinidad bicarbonática en el sistema para tener una buena capacidad buffer (Antonio & Acosta, 2017). Un enfoque empleado para monitorear los reactores anaerobios metanogénicos es la relación entre la alcalinidad intermedia/alcalinidad parcial (AI/AP). Se ha encontrado que una relación AI/AP de 0.3 garantiza el funcionamiento adecuado del proceso (Londoño, 2018).

La determinación de la alcalinidad se realizó de acuerdo con el protocolo descrito en el apartado 2320 B “Tritation method” de los protocolos normalizados del Standard Methods para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, 2017). Para la cuantificación de la alcalinidad se usó el titulador automático 848 titrino plus.

- **Demanda química de oxígeno (DQO)**

Se define como la cantidad de oxígeno equivalente (mg.L^{-1}) necesaria para oxidar químicamente los compuestos oxidables que están presentes en la muestra. La cantidad del oxidante se expresa en términos de su equivalente de oxígeno y el ion dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) es el oxidante empleado. Los compuestos orgánicos y algunos inorgánicos están sujetos a la oxidación, sin embargo el componente orgánico predomina en la mayoría de los casos (APHA, 2017).

Es posible obtener correlaciones entre la DQO y la DBO para aguas residuales específicas, esto permite utilizar la medida de la DQO en la monitorización y control de procesos de tratamiento de aguas residuales. Adicionalmente, el cociente entre la DBO y la DQO es una relación que indica la biodegradabilidad de los compuestos presentes en el agua residual (Molina, 2007).

La DQO se determinó de acuerdo con el protocolo descrito en el apartado 5220 D. “Closed Reflux, Colorimetric Method” de los protocolos normalizados del Standard Methods para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, 2017). La cuantificación

se realizó siempre con las soluciones y curva de calibración para rango alto, dentro del intervalo de 100-1000 mg O₂/L, cuando las muestras analizadas sobrepasaron el límite superior, fueron diluidas con agua desionizada sin cloro.

- **Nitrógeno total kjeldahl (NTK)**

El nitrógeno está presente en el agua residual en diferentes formas como nitrógeno orgánico, amonio, nitritos o nitratos de acuerdo con su estado de oxidación. Todas estas formas pueden relacionarse bioquímicamente, incluyendo el N₂ en forma gaseosa y forman parte del ciclo del nitrógeno (Molina, 2007). El nitrógeno total Kjeldahl es la suma del nitrógeno orgánico y el nitrógeno amoniacal. Es importante conocer la concentración de nitrógeno para evaluar la tratabilidad de las aguas residuales mediante tratamientos biológicos, si la concentración de nitrógeno es insuficiente, se requiere la adición de este para lograr que el componente biológico cuente con los nutrientes necesarios para realizar la biodescomposición.

La determinación del NTK se realizó de acuerdo con el protocolo descrito en el apartado 4500-Norg “Macro- Kjeldahl Method and 4500 NH₃ B-C Titrimetric method” del Standard Methods para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, 2017).

- **Fósforo**

El fosforo al igual que el nitrógeno, es un nutriente esencial para el ciclo celular de los organismos. Las formas más comunes de fósforo son los ortofosfatos, polifosfatos y fosforo orgánico. Los ortofosfatos como PO₄⁻³, HPO₄⁻², H₂PO₄⁻ y H₃PO₄, son adecuados para el metabolismo biológico.

La determinación de fósforo se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito en el apartado 4500-P E “Ascorbic acid method” del Standard Methods para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, 2017).

- **Carbono orgánico total (COT)**

Este parámetro permite cuantificar de forma directa el contenido de orgánico total en el agua, el COT no depende del estado de oxidación de la materia orgánica y no mide otros elementos ligados orgánicamente como el nitrógeno ni los elementos inorgánicos que pueden contribuir a la demanda química de oxígeno; por lo tanto, no suministra la misma información que la DQO o la DBO₅. En el análisis de COT, la muestra se inyecta en el equipo de análisis, y luego pasa a un reactor que está a una temperatura mayor de 680°C, que contiene un catalizador, en donde los compuestos orgánicos se transforman en dióxido de carbono (CO₂), el cual es cuantificado en un detector infrarrojo no dispersivo (NDIR) (ASTM, 2019). La concentración de CO₂ es directamente proporcional a la concentración de carbono en una relación CO₂/C = 44/12. La determinación es más rápida que el parámetro DQO, pero requiere un equipamiento más robusto y por ende costoso.

Las muestras se cuantificaron en un analizador de carbono total TOC-L Shimadzu CPH/CPN con un reactor a alta temperatura. El flujo de gas auxiliar (aire) fue de 150 mL/min, la presión de gas de suministro fue 209.9 kPa y la temperatura del horno fue de 679.9 °C. El carbono orgánico total fue cuantificado siguiendo el método normalizado ASTM D7573 “High temperature catalytic combustion and infrared detection” (ASTM, 2019).

- **Ácidos grasos volátiles (AGVs)**

Se denominan Ácidos Grasos Volátiles a los ácidos acético, propiónico, butírico, n-butírico, i-valérico y n-valérico, y su presencia se debe a que son productos intermedios en la digestión anaerobia, la acumulación de estos compuestos refleja un desequilibrio cinético entre los productores y los consumidores de ácidos. Diversos investigadores identifican el aumento en la concentración de AGVs en el efluente como uno de los factores que más afecta la dinámica de los digestores anaerobios (Molina, 2007). En este sentido, el incremento de AGVs y la baja capacidad tampón tienen un efecto marcado en el pH, haciendo que disminuya y ocurra la subsecuente desestabilización del reactor (Ponsá et al., 2008). En cuanto a la cuantificación de los ácidos grasos volátiles, la mayor dificultad identificada son los costos asociados, dado que el método más común para su medida es la cromatografía gaseosa, lo cual requiere el uso de equipos robustos.

La cuantificación de los ácidos grasos volátiles fue realizada mediante cromatografía gaseosa empleando un cromatógrafo de gases (GC) 6890 plus (Agilent technologies, USA) equipado con un inyector split/splitless 7683B (Agilent technologies, USA) y un detector de ionización de llama (FID) (Agilent technologies, USA). Las condiciones de trabajo para el inyector fueron, la temperatura de inyección: 150 °C, modo de inyección split (10:1) y volumen de inyección de 2 µL. La columna utilizada para la separación fue una DB-WAX de 30 m x 530 µm y 1 µm de espesor de fase estacionaria (Agilent technologies, USA) y se utilizó un flujo constante de 5 mL/min de gas helio al 99.999 % de pureza. El gradiente de temperatura utilizado en el horno fue temperatura inicial de 80 °C y se mantuvo durante 1 minuto, luego se incrementó hasta 150 °C a 20 °C/min, finalmente, se incrementó hasta 190 °C a 5 °C/min. La temperatura del detector fue de 240 °C, el flujo de nitrógeno fue de 20 mL/min, el flujo de hidrógeno fue de 30 mL/min y el flujo de aire fue de 300 mL/min. El tiempo de análisis fue de 12.50 minutos.

Para la metodología fue empleado un material de referencia con una mezcla de ácidos grasos volátiles con 6 componentes: ácidos butíricos, acético, isobutírico, valérico, isovalérico y propiónico, con una concentración de 1000 mg/L; posteriormente fue preparada una solución intermedia de 100mg/L empleada para las curvas de calibración. Los AGVs fueron cuantificados de acuerdo con el procedimiento del apartado 5560 B “Chromatographic Separation Method for Organic and Volatile Acids” de los protocolos normalizados del Standard Methods para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, 2017). El rango de trabajo del método fue 5 – 100 mg/L, cuando las muestras analizadas sobrepasaron el límite superior fueron diluidas.

- **Análisis de PPCPs en la fase líquida.**

La cuantificación de BPA y SDF fue llevada a cabo mediante cromatografía líquida empleando un cromatógrafo líquido ACQUITY UPLC H-Class equipment (Waters, USA), acoplado a un espectrómetro de masas Xevo TQD (Manchester, UK), equipado con una fuente de ionización por electrospray, UHPLC-MS/MS. El control de los equipos y la adquisición de datos se realizaron con el software Masslynx v. 4.1 (Waters, USA). La columna empleada para la separación fue POROSHELL 120 de 2.7 μm de tamaño de partícula, 100 \AA de tamaño de poro, 100 x 2.1 mm (Agilent technologies, USA).

En cuanto a las condiciones del cromatógrafo, la fase móvil A estuvo compuesta por agua:ácido acético al 0.1% y la fase móvil B estuvo compuesta por acetonitrilo:metanol (1:1). El gradiente de separación utilizado fue 2 % de B en 0 minutos y se mantuvo 0.5 minutos, luego se incrementó a 100 % de B en 3.0 minutos y se mantuvo hasta 6 minutos, finalmente, se disminuyó B a 2 % a los 6.1 minutos hasta 11 minutos. El flujo de la fase móvil se fijó en 0,3 mL/min y el volumen de inyección fue de 20 μL . La temperatura de la columna fue de 40°C. En cuanto a los parámetros para el espectrómetro de masas Xevo TQD, el voltaje del capilar fue fijado en 2.25 kV, la temperatura de la fuente fue 150°C, la temperatura de solvatación fue 450°C con un flujo de 400 L/hr y el flujo del gas del Cono fue de 50 L/hr, todas las condiciones mencionadas se mantuvieron para ionización en ESI (-) y ESI (+). El tiempo de análisis fue de 11 minutos.

Para la cuantificación de las muestras se implementó un método interno desarrollado por el grupo GDCON basado en las metodologías reportadas en el método EPA 1694 “Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS” para la cuantificación de PPCPs en agua (Environmental Protection Agency, 2007). En la Figura 21 se observa el cromatograma de un estándar de bisfenol A y sildenafil obtenido mediante UHPLC/MS/MS en la matriz agua.

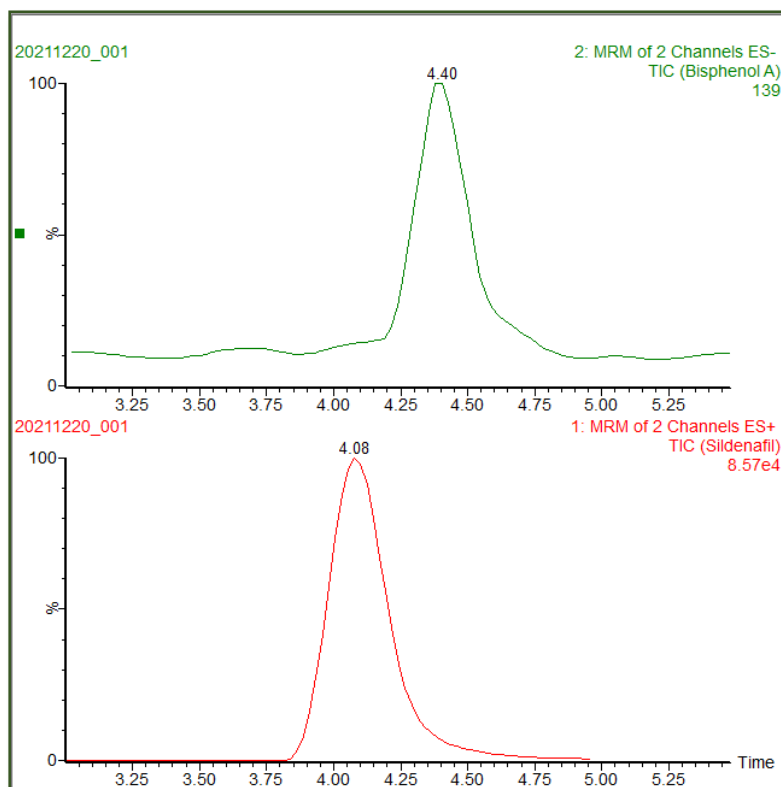


Figura 21 Cromatograma de un estándar de bisfenol A y sildenafil obtenido mediante UHPLC/MS/MS en la matriz agua.

○ **Metodología de lectura directa**

Las muestras fueron previamente servidas en eppendorf de 1,5 mL y centrifugadas en un equipo MiniSpin a 13000 RPM durante 15 minutos; posteriormente, se tomó 1 mL del sobrenadante y este fue trasferido a un vial ámbar de vidrio para cromatografía. Finalmente, las muestras fueron analizadas empleando un método de lectura directa en el UHPLC-MS/MS bajo las condiciones mencionadas previamente. El rango de trabajo del método fue 5 – 100 μgL^{-1} .

○ **Preparación de estándares de PPCPs**

Inicialmente fueron preparadas soluciones concentradas individuales de 1000 mgL^{-1} en metanol a partir de materiales de referencia de bisfenol A y sildenafil. Posteriormente, fue preparada una solución intermedia (20 mgL^{-1}) y una solución de trabajo de $500 \mu\text{gL}^{-1}$ con la mezcla de los microcontaminantes, esta última fue empleada para las curvas de calibración. Por otro lado, para dopar el agua residual sintética suministrada a los reactores (afluente), fueron preparadas soluciones concentradas de 100 y 200 mgL^{-1} con la mezcla de los PPCPs.

Para las pruebas de biodegradación por lotes fueron preparadas soluciones concentradas individuales de 1000 mgL^{-1} , y soluciones de trabajo de 100 mgL^{-1} y 10 mgL^{-1} con la mezcla de los PPCPs.

4.1.5.2 Análisis de la fase gaseosa.

○ Metano

En la digestión anaerobia, la materia orgánica es convertida en metano y dióxido de carbono (en mayor proporción), y otros gases como el hidrogeno, el sulfuro de hidrogeno entre otros, este proceso ocurre mediante la acción combinada de diferentes poblaciones bacterianas en ausencia de oxígeno. La formación de metano y dióxido de carbono corresponde a la etapa final de una serie de reacciones metabólicas en las que los compuestos orgánicos son degradados completamente. Durante el proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica intervienen diversos grupos de microorganismos, principalmente las bacterias hidrolíticas y fermentativas, las bacterias acetogénicas y las arqueas, los cuales usan en forma secuencial los productos metabólicos generados por cada grupo (Díaz et al., 2002). En los reactores, las bacterias y las arqueas deben estar en un equilibrio dinámico, se debe carecer de oxígeno disuelto, conservar un rango de pH entre 6.8-7.6 , y mantener una alcalinidad suficiente para prevenir la caída del pH por debajo de 6.2, valor en el que los microorganismos metanogénicos y la producción de metano decrece (Romero, 2000).

La cuantificación del metano fue realizada con un cromatógrafo de gases (GC) 7890B (Agilent technologies, USA) equipado con un detector de ionización de llama (FID) (Agilent technologies, USA) y un sistema de tres válvulas. La metodología fue realizada por inyección manual. La columna utilizada fue una HayeSep Q 80/100 de 1/8” (Agilent technologies, USA). El metanizador del detector fue empleado por el equipo para cuantificar el metano. La temperatura del horno fue de 100°C, la temperatura del metanizador fue 325°C, y el loop de la muestra fue de 1mL. La temperatura del detector fue de 250 °C, el flujo de nitrógeno fue de 2 mL/min, el flujo de hidrogeno fue de 48 mL/min, y el flujo de aire fue de 500 mL/min. El tiempo de análisis fue de 3 minutos.

Para la curva de calibración fue empleado un material de referencia con metano al 99.99% v/v de pureza y helio como gas de balance. El estándar empleado en la calibración fue preparado usando un dilutor. Para realizar la curva de calibración, el dilutor fue conectado al loop; adicionalmente, se hicieron variaciones en la presión de los canales que controlan el estándar de metano y el gas de dilución; de forma paralela el flujo resultante fue medido con un flujómetro ADM (Agilent technologies, USA) conectado a la posición de salida de la muestra. De esta manera fue establecida la relación entre la presión de cada canal y el flujo, esta metodología fue elegida dado que el control electrónico de presión (EPC) del GC permite establecer únicamente valores de presión en el equipo mas no de flujo (Hoyos Ossa et al., 2021). El rango de trabajo del método fue $1.46618 \times 10^5 - 9.99900 \times 10^5$ ppmv de CH₄. El metano fue cuantificado de acuerdo a la metodología analítica reportada por (Hoyos Ossa et al., 2021).

Recolección de las muestras: La recolección se realizó por un periodo de 24 horas, estas fueron almacenadas en bolsas Tedlar de plástico con capacidad de 0.5 litros.

4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.2.1 Parámetros de monitoreo y control.

Previo a la adición de los PPCPs se realizó el arranque y puesta en marcha de los reactores EGSB, el proceso de arranque de los sistemas fue la fase más larga y tenía como objetivo acondicionar los microorganismos al nuevo sustrato, estandarizar las condiciones de funcionamiento de los reactores y garantizar condiciones de estabilidad en el momento de evaluar la respuesta de los sistemas, frente al contacto con los microcontaminantes. La Tabla 13 muestra los parámetros seleccionados para el monitoreo y control de los sistemas.

Tabla 13. Parámetros operacionales seleccionados para el control de los sistemas EGSB

EGSB	Parámetro de control	Valor de control establecidos
Metanogénico	pH	6.8-7.4
	Alcalinidad intermedia/alcalinidad parcial	0.3
Hidrolítico/acidogénico	pH	5.0-5.5
	Alcalinidad parcial	0 mg CaCO ₃ /L
	Alcalinidad intermedia	200-600 mg CaCO ₃ /L

4.2.1.1 EGSB metanogénico.

La Figura 22 muestra la variación del pH y la relación AI/AP durante la operación del reactor metanogénico, este sistema fue operado bajo la aplicación de cargas crecientes de la mezcla de BPA y SDF (entre 0.06 y 0.24 mgDQO/L). En la fase I el sistema tuvo fluctuaciones bastante pronunciadas en el pH y en la relación de alcalinidad, esto fue relacionado con el proceso de arranque y aclimatación de los microorganismos. En las fases siguientes, el pH presentó fluctuaciones dentro del rango establecido, a excepción de los días posteriores a los cambios de fase, donde el aumento de la carga orgánica generaba un desequilibrio transitorio en el sistema, esto se evidenciaba con el descenso del pH, el aumento de la relación AI/AP por encima de 0.3 y la disminución de la eficiencia de remoción de DQO. En cuanto a la relación AI/AP, la fase III y IV presentaron las mayores fluctuaciones para este parámetro, el incremento de esta relación indicó la disminución de la alcalinidad parcial debido al aumento de la concentración de AGVs en el reactor, reduciendo así la capacidad tampón del medio. Esta respuesta en las variables mencionadas es común en los sistemas biológicos anaerobios cuando se realizan perturbaciones, entre ellas el incremento de la carga orgánica (Antonio & Acosta, 2017). Para contrarrestar estos cambios y mantener una buena capacidad buffer, fue dosificado continuamente bicarbonato de sodio en el alimento del reactor y se incrementó la dosis de este cuando fue necesario.

Durante la incorporación de los microcontaminantes los valores de pH fluctuaron en el rango 6.8–8.4, de modo que en algunos puntos de la experimentación el pH estuvo por encima del rango deseado. La información reportada en la literatura indica que los

microorganismos productores de metano tienen un crecimiento óptimo en el rango de pH entre 6.6 y 7.4; no obstante, una vez alcanzada la estabilidad en la producción de metano, toleran un rango de pH más amplio (Londoño, 2018). En este sentido, los resultados muestran que los reactores se operaron en condiciones de pH y alcalinidad adecuadas para el desarrollo metabólico de los microorganismos que hacen parte de la ruta completa de la digestión anaerobia.

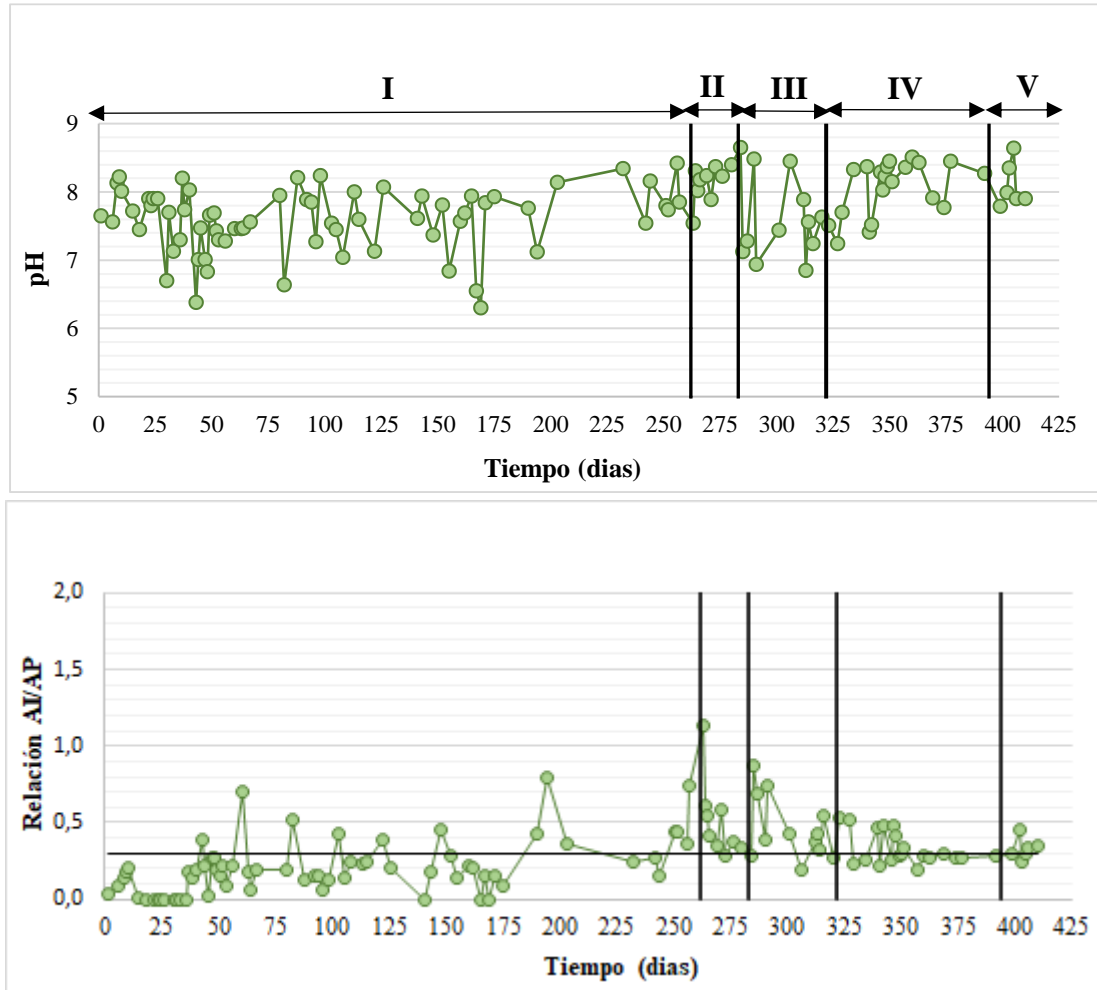


Figura 22 Variación del pH y de la relación alcalinidad parcial/alcalinidad intermedia a través de las fases de operación para el EGSB MET.

4.2.1.2 EGSB hidrolítico/acidogénico

La Figura 23 muestra la variación del pH y la alcalinidad parcial e intermedia durante la operación del reactor hidrolítico, en este sistema se evaluó una carga de 0.10 mgDQO.L⁻¹ con la mezcla de BPA y SDF. De acuerdo con la estrategia de aclimatación, la dosificación del bicarbonato de sodio para este reactor fue mínima con el fin de facilitar el descenso del pH. En la fase I el pH y la alcalinidad intermedia tuvieron fluctuaciones bastante pronunciadas; sin embargo, al final de la fase de arranque la alcalinidad parcial se volvió nula, a partir de este punto el pH del medio pudo descender a valores alrededor de 5. En la fase II la alcalinidad parcial se mantuvo nula, el pH y la alcalinidad intermedia fluctuaron entre 4.7 a 5.5 y 113 a 570 mg/L CaCO₃ respectivamente.

La información reportada en la literatura indica que los microorganismos hidrolíticos y acidogénicos tienen un crecimiento óptimo en el rango de pH 5.0-5.5, pero pueden tolerar un rango de pH más amplio (Zhou et al., 2018). Teniendo en cuenta que en este sistema se buscaba la inhibición de los consorcios metanogénicos, los valores de pH y alcalinidad intermedia obtenidos a lo largo de la operación del reactor favorecieron un desequilibrio cinético en el reactor, lo que permitió el desplazamiento de los consorcios metanogénicos y la predominancia de los microorganismos acidogénicos. La actividad de los microorganismos acidogénicos fue verificada mediante la cuantificación de los ácidos grasos volátiles, el comportamiento de este parámetro es explicado en el rendimiento del sistema H/A (ítem 4.2.3).

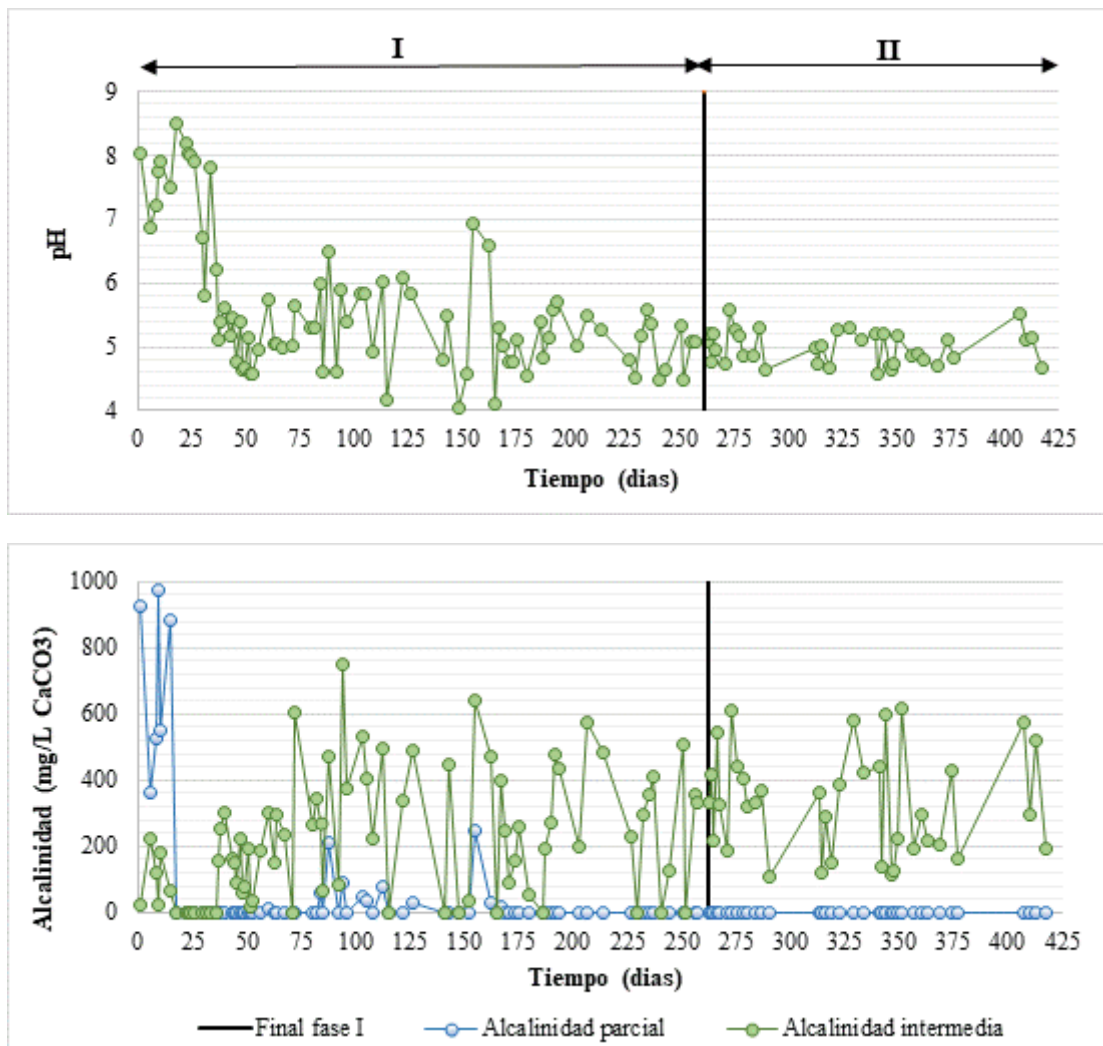


Figura 23 Variación del pH y de la alcalinidad parcial e intermedia a través de las fases de operación para el EGSB H/A.

4.2.2 Rendimiento del sistema EGSB metanogénico

Los experimentos en continuo con el sistema EGSB metanogénico bajo la aplicación de cargas ascendentes de BPA y SDF, fueron evaluados a partir de los siguientes aspectos: el rendimiento del sistema en términos de la disminución de la DQO, la producción de metano y AGVs; los coeficientes biocinéticos; y la remoción de cada

uno de los PPCPs. Por otro lado, el rendimiento también fue evaluado a través de la evolución fisicoquímica y microbiológica de la biomasa granular que es discutida en el capítulo 5.

4.2.2.1 Remoción de DQO

La Figura 24 presenta la remoción de la DQO en el tiempo de operación del EGSB metanogénico. En la fase I (aclimatación), los porcentajes de remoción de la DQO oscilaron entre 68%-98%, lo cual indicó la adaptación de los microorganismos al nuevo sustrato, a los parámetros de operación establecidos en el reactor y; por ende, condiciones de estabilidad para culminar el periodo de arranque y evaluar las diferentes cargas de los orgánicas. En las siguientes fases de operación se observaron fluctuaciones apreciables en el porcentaje de remoción de la DQO, en los días posteriores al incremento de la carga operacional, esta respuesta era esperada como parte de los mecanismos de adaptación de los microorganismos cuando existen perturbaciones externas.

En la fase II (cargas de $3.6 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$) el porcentaje de remoción de la DQO se mantuvo alrededor del 78%. En la fase III (carga de $7.2 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$), la eficiencia disminuyó alcanzando valores promedio de 63%. Posteriormente, la fase IV (carga de $9 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$) presentó notables fluctuaciones en el porcentaje de eliminación de la DQO, este hecho hizo que la operación en esta fase se prolongara con el objetivo de darle un mayor tiempo a los microorganismos para adaptarse a la carga orgánica suministrada; después de 69 días de operación (en esta etapa) la remoción alcanzó porcentajes alrededor del 55%. Esta eficiencia fue considerada aceptable para pasar a la siguiente fase de operación, dada la carga suministrada al reactor en este punto de la experimentación; no obstante, la respuesta del sistema evidenció que el reactor estaba llegando a su capacidad de carga orgánica límite.

Finalmente, en la fase V tras suministrar una carga de $14.4 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, se produjo un notable descenso en la eficiencia del sistema, donde la remoción disminuyó hasta porcentajes alrededor del 30%. Dado que en este punto la eliminación de la materia orgánica en el reactor era muy baja, se finalizó la operación del sistema. El declive observado en el porcentaje de remoción fue atribuido a un proceso de disminución de la actividad metanogénica por una sobrecarga orgánica. La inhibición de microorganismos por defecto y por exceso de sustrato ha sido reportada previamente y debe tenerse en cuenta durante los tratamientos biológicos para optimizar los procesos (Díaz et al., 2002; Molina, 2007).

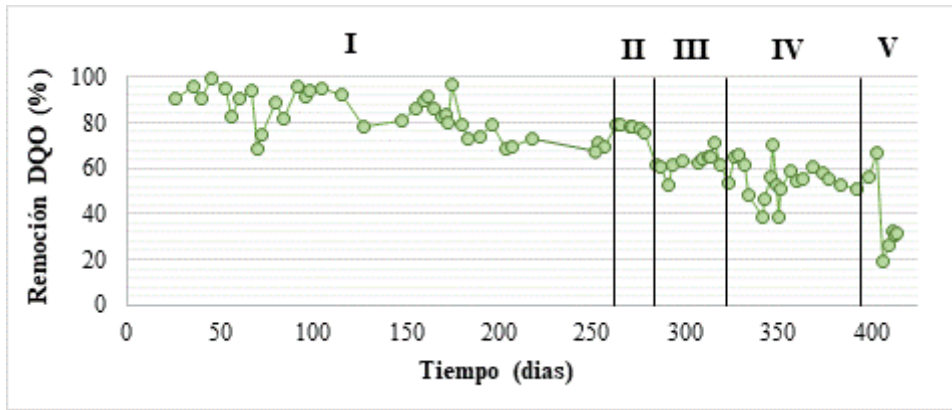


Figura 24 Rendimiento en la remoción de la DQO durante la operación del EGSB MET.

La Figura 25 muestra la remoción de DQO promedio alcanzada en cada fase vs la carga suministrada al sistema. Se evidencia que el porcentaje de eliminación de la DQO disminuyó gradualmente a medida que se incrementó la COV en el reactor. En este sentido, los resultados sugieren que la carga orgánica proveniente del sustrato tuvo un efecto marcado sobre la eficiencia de remoción.

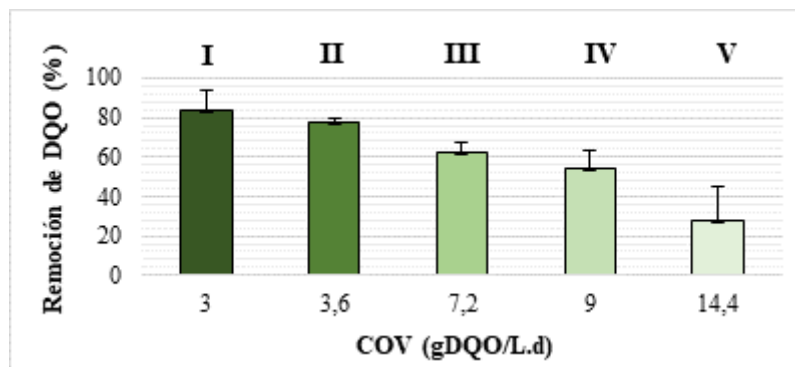


Figura 25 Rendimiento promedio en la disminución de la DQO para cada carga evaluada durante la operación del EGSB MET.

4.2.2.2 Producción de metano

El porcentaje de metano en el biogás fue monitoreado para verificar la actividad de los microorganismos metanogénicos (Figura 26). El descenso más notable en la producción de metano fue observado en los días posteriores al cambio de cada fase; indicando una disminución transitoria de la actividad de los consorcios productores de metano. Adicionalmente, durante la etapa IV se identificaron notables fluctuaciones en la producción de metano, de forma semejante al comportamiento de la remoción de DQO. En concordancia con esto, se ha documentado que los microorganismos metanogénicos son altamente sensibles a perturbaciones como sobrecargas orgánicas e hidráulicas (Molina, 2007). Por otro lado, los resultados obtenidos permitieron confirmar que las condiciones de operación del EGSB favorecieron la ruta metabólica para la producción del metano durante toda la operación del reactor.

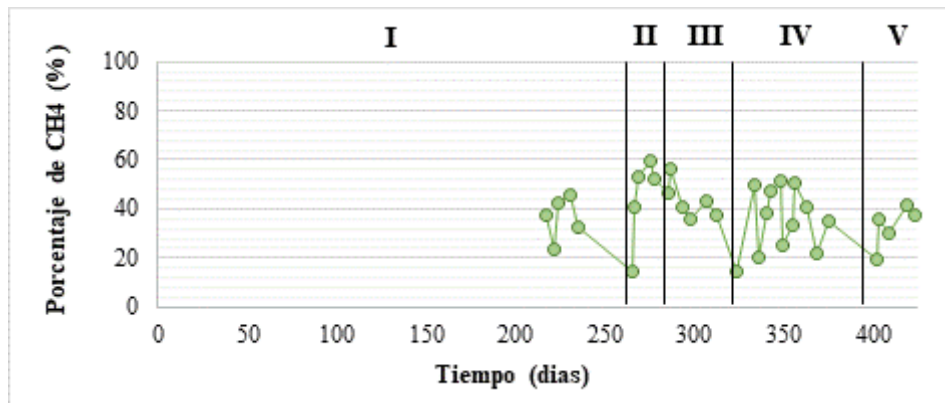


Figura 26 Porcentaje de metano en el biogás durante la operación del EGSB MET

La Figura 27 presenta la concentración promedio de AGVs producidos en cada fase del reactor metanogénico. Los ácidos grasos volátiles se encuentran entre los principales productos de la acidogénesis de la materia orgánica, es importante hacer seguimiento y control de estos, dado que su excesiva acumulación en reactores metanogénicos indica un desequilibrio cinético entre los productores y los consumidores de ácidos. Un efecto muy referenciado que ocurre como consecuencia de la acumulación AGVs en un sistema con baja capacidad tampón, es la disminución del pH, lo cual conlleva a una desestabilización y posterior acidificación del reactor (Londoño, 2018). Por otra parte, la identificación de los AGVs individuales producidos es importante, ya que pueden proporcionar información valiosa sobre las vías metabólicas implicadas en el proceso (Parawira et al., 2004). La Figura 27 muestra de forma global que los principales AGVs sintetizados en la ruta metabólica de la degradación del sustrato fueron, ácido acético y propiónico, seguidos por el ácido butírico en muy baja concentración. En cuanto al ácido valérico, iso-valérico e iso-butírico, su concentración estuvo por debajo del límite de cuantificación del método (5 mgL^{-1}) durante la mayor parte de la experimentación. Se ha reportado que entre los principales productos intermedios sintetizados durante la degradación anaerobia de carbohidratos como el almidón (sustrato empleado en el experimento), se encuentra el ácido acético, butírico y propiónico; en este sentido, los resultados obtenidos tienen concordancia con información previamente reportada (Parawira et al., 2004).

Por otro lado, se evidencia que la mayor producción de ácidos grasos volátiles en el reactor ocurrió durante las fases III y V; este comportamiento se atribuye a que en dichas fases la carga aumentó en una mayor proporción. Dado que el ácido acético es considerado el principal precursor del metano (Rodríguez, 2015), el incremento en la concentración de este compuesto en el efluente de un sistema biológico indica una menor actividad por parte de los microorganismos metanogénicos en la transformación de este producto intermedio a metano. En este sentido, aquellas fases que mostraron una notable reducción en la eficiencia con respecto a la fase anterior (III y V), coinciden con la mayor producción de AGVs, y de forma específica de ácido acético, esto confirma que la acumulación transitoria de estos compuestos implicó una menor transformación de los productos intermediarios en metano, es decir una menor actividad de los consorcios metanogénicos en el reactor. Por otro lado, durante la fase IV, también se presentó una

producción significativamente alta de ácidos grasos; sin embargo, los resultados sugieren que la extensión de esta etapa permitió una mayor adaptación de los microorganismos metanogénicos a la carga introducida al reactor.

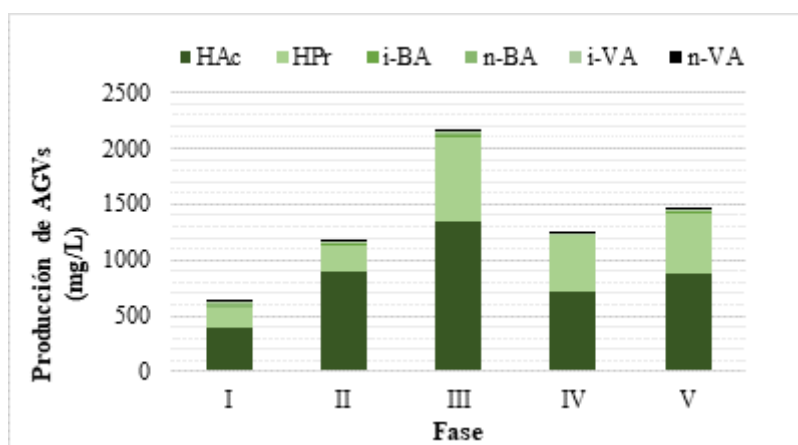


Figura 27 Variación promedio de la producción de AGVs en cada fase de operación para el EGSB MET. Ácido Hac: Acético HPr: Propiónico, i-BA: Iso-butírico, n-BA:Butírico, i-VA: Iso-valérico, n-VA:Valérico.

4.2.2.3 Coeficientes biocinéticos

Se calcularon los coeficientes biocinéticos Y , K_s y μ_{max} en el reactor EGSB metanogénico empleando un modelo basado en la cinética de Monod (Tabla 14). El grado de ajuste obtenido en la regresión lineal indicó que el modelo empleado es apto para describir el proceso anaerobio de este estudio. Este modelo ha sido ampliamente usado en sistemas anaerobios para determinar las constantes cinéticas en reactores UASB y EGSB con múltiples sustratos (Işık & Sponza, 2005; Rodríguez, 2015; Sponza & Uluköy, 2008). El coeficiente K_s obtenido en este estudio arrojó un valor que se encuentra por encima de los rangos reportados en la literatura para reactores anaerobios con una configuración igual o semejante. Un mayor coeficiente de saturación, indica una posible pérdida de afinidad de los microorganismos por el sustrato, en este caso, materia orgánica cuantificada como DQO, lo cual se ve reflejado en la disminución de μ_{max} . En cuanto al valor del rendimiento (Y), este fue menor comparado con la literatura, indicando que en el reactor EGSB evaluado, la cantidad de biomasa generada por gramo de DQO degradada fue inferior; no obstante, se destaca que los valores reportados emplearon condiciones operacionales y un sustrato diferente al de este estudio.

Los resultados sugieren que el incremento de la COV (aportada por el sustrato), tuvo una influencia negativa en el proceso de remoción de la materia orgánica en los ensayos en continuo, lo cual se vio reflejado en la pérdida de eficiencia del sistema metanogénico. En este sentido, el tiempo de retención hidráulica cobra gran importancia en el tratamiento de efluentes con alta carga orgánica.

Tabla 14. Coeficientes biocinéticos de sistemas anaerobios empleando el modelo basado en la cinética de Monod

Tasa máxima de crecimiento μ_{max} (d^{-1})	Coefficiente saturación media K_S (gL^{-1})	R^2	Coefficiente producción de biomasa Y ($g\ SSV/g\ DQO$)	R^2	Referencia
0.037	10.509	0.968	0.008	0.947	Obtenidos experimentalmente
0.339	0.187	0.956	0.168	0.966	*(Rodríguez, 2015)
0.105	>4	--	0.125	--	** (Işık & Sponza, 2005)

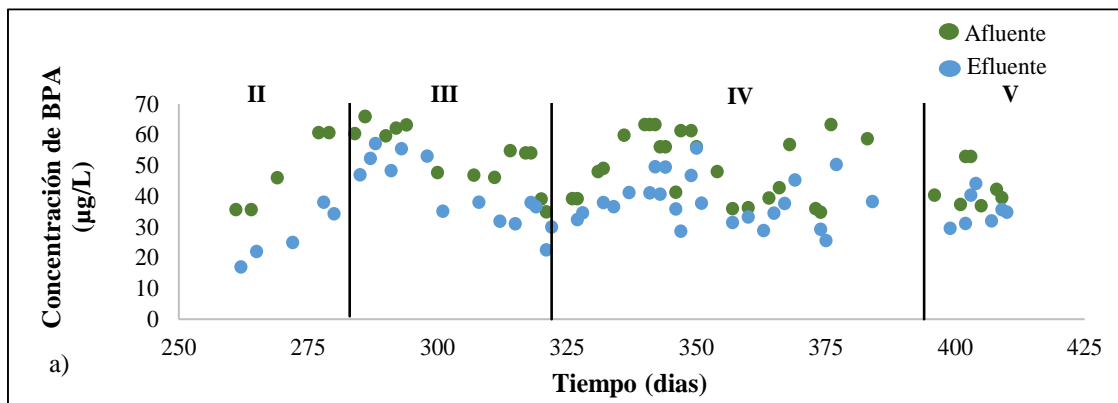
*Reactor EGSB, agua residual sintética (Sustrato: dextrosa; VCO 3.39 g/L.d; Vup 6 m/h; Temperatura ambiente).

**Reactor UASB, agua residual sintética industria textil (Sustrato: dextrosa; VOC: 1- 15.80 g/L.d; TRH: 0.25-4.16).

4.2.2.4 Evaluación de la remoción de los PPCPs

BPA

Los ensayos fueron realizados en cuatro fases, estas se caracterizaron por la aplicación de cargas ascendentes de BPA y SDF en el rango de 0.06 a 0.24 $mgDQO.L^{-1}.d^{-1}$. La Figura 28 muestra el comportamiento del sistema EGSB metanogénico en la remoción del BPA. En la fase II se evidenció una relativa disminución en la concentración de BPA en el efluente del reactor. En contraste con esto, a partir de la fase III de operación no se observaron diferencias apreciables en la concentración del BPA en el afluente y efluente del sistema, indicando un bajo porcentaje de eliminación del compuesto. En resumen, el sistema EGSB MET presentó eficiencias en la remoción del BPA de 43.4%, 24.3%, 23% y 17.8% para las fases II, III y IV y V respectivamente.



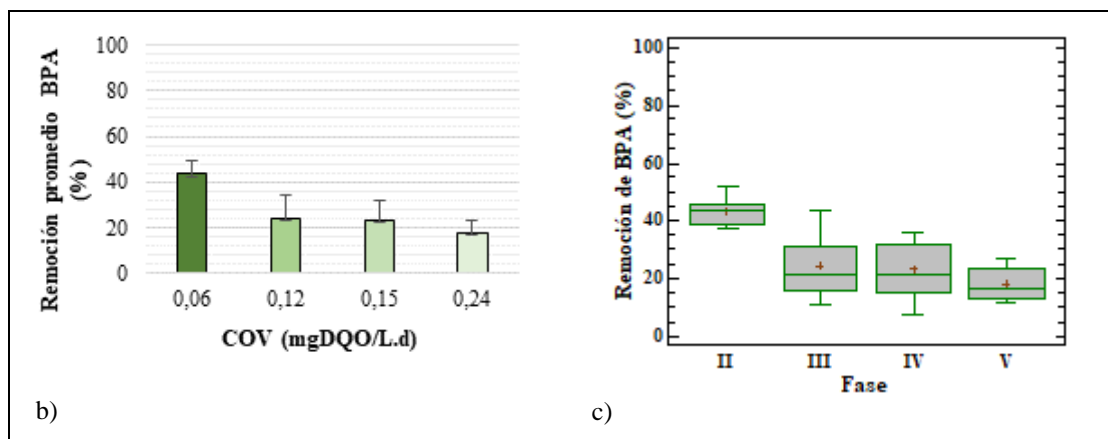


Figura 28 Comportamiento de la remoción de BPA para el reactor EGSB MET.
a) Variación en el tiempo de la concentración de BPA para el afluente y efluente del sistema. b) Remoción promedio de BPA en cada fase. c) Variación de la remoción de BPA en cada fase.

La Figura 28b muestra la remoción promedio de BPA vs la carga aplicada de los microcontaminantes y la Figura 28c indica la variación de la remoción en cada fase de operación. Los resultados obtenidos sugieren que la carga aplicada de los microcontaminantes no tuvo incidencia en el porcentaje de remoción del BPA. Por otro lado, dadas las características fisicoquímicas de bisfenol A y los mecanismos de remoción identificados en los ensayos por lotes, los datos obtenidos sugieren que la sorción sobre la biomasa tuvo un rol dominante en la fase II, donde inició la dosificación de los microcontaminantes, seguido por una factible saturación de la biomasa presente en el reactor, hecho reflejado en la disminución en la remoción del BPA en fases posteriores. En concordancia con los resultados obtenidos, Kang and Kondo (2002) reportó porcentajes de biodegradación inferiores al 10% bajo condiciones anaerobias; y de forma semejante, Limam et al. (2013) indicó que los microorganismos anaerobios tienen una baja capacidad para degradar el BPA; sin embargo el proceso de biodegradación está influenciado por el tipo de microorganismos y las condiciones operacionales. En este sentido, los rangos de remoción obtenidos en esta investigación están entre la media de biodegradación reportada para este microcontaminante en la mayoría de los estudios; no obstante, se resalta que los estudios en torno a la biodegradación del bisfenol A en sistemas continuos bajo condiciones anaerobias son limitados.

SDF

La Figura 29 muestra el comportamiento del sistema EGSB metanogénico en la remoción del SDF. Durante la fase II y III se identificaron los mayores porcentajes de eliminación del microcontaminante; por otro lado, la fase IV se caracterizó por un notable descenso en la eficiencia de eliminación del compuesto al final de la etapa. Finalmente, en la fase V se obtuvo la menor eficiencia de remoción durante toda la operación del sistema. En resumen, el sistema EGSB metanogénico presentó eficiencias promedio en la remoción del SDF de 63.2%, 62.8%, 33.3% y 11.8% para las fases II, III y IV y V respectivamente.

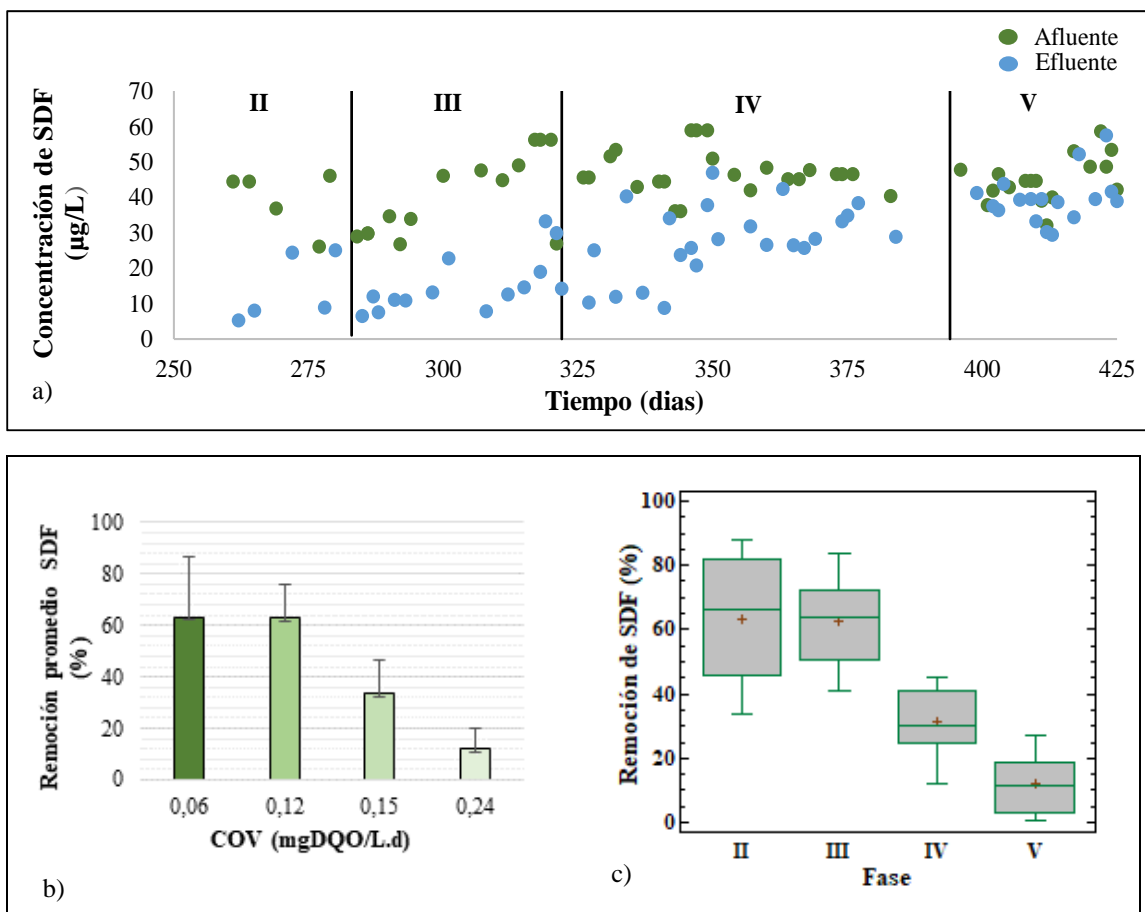


Figura 29 Comportamiento de la remoción de SDF para el reactor EGSB MET. a) Variación en el tiempo de la concentración de SDF para el afluente y efluente del sistema. b) Remoción promedio de SDF en cada fase. c) Variación de la remoción de SDF en cada fase.

La Figura 29b muestra la remoción promedio de SDF vs la carga aplicada de los microcontaminantes, y la Figura 29c indica la variación de la remoción en cada fase de operación. Los resultados sugieren que el aumento de la carga y la disminución implícita del TRH tuvo un efecto negativo sobre el porcentaje de remoción, dado que se identificó un descenso gradual en la eficiencia a medida que el TRH era más bajo. Este comportamiento podría atribuirse a que el tiempo de contacto entre los microorganismos y el co-sustrato no fue suficiente para favorecer los mecanismos de eliminación.

Dado que el coeficiente de partición reportado para el SDF indica que este compuesto tiene una muy baja tendencia a sorberse de forma apreciable sobre el lodo (Son et al., 2022); y teniendo en consideración los resultados obtenidos en la evaluación de los mecanismos de remoción, los resultados obtenidos en el sistema continuo para el sildenafil sugieren la presencia de mecanismos de biodegradación en un bajo porcentaje. Los datos sobre el destino y el comportamiento del sildenafil en el medio ambiente son limitados (Baker & Kasprzyk-Hordern, 2011; Papageorgiou et al., 2016); por lo tanto, la eficiencia de los sistemas anaerobios en la remoción del SDF ha sido poco documentada. Suanon et al. (2017) reportó eficiencias negativas de remoción del sildenafil en digestores anaerobios; de modo que, el rendimiento global obtenido en el sistema EGSB metanogénico fue mayor al estudio mencionado previamente; no obstante, se destaca que

el comportamiento de los microcontaminantes depende de aspectos como las características fisicoquímicas y la configuración del reactor (Papageorgiou et al., 2016).

4.2.3 Rendimiento del sistema EGSB hidrolítico/acidogénico

Los experimentos en continuo con el sistema EGSB hidrolítico bajo la aplicación del BPA y SDF, fueron evaluados a partir del rendimiento en la producción de AGVs y la remoción de los PPCPs. Por otro lado, también fueron evaluados a través de la evolución fisicoquímica y microbiológica de la biomasa granular que es discutida en el capítulo 5.

4.2.3.1 Producción de AGVs

La Figura 30 presenta el comportamiento en la producción de AGVs expresado como DQO a través del tiempo de operación del reactor hidrolítico, este parámetro fue de gran importancia dado que permitió medir la actividad de los microorganismos hidrolíticos/acidogénicos a través del tiempo. Se ha reportado que la fermentación es una etapa limitante durante el proceso de degradación anaerobia para estructuras complejas de alto peso molecular (Londoño, 2018). La degradación directa del almidón es un proceso ineficiente debido a la baja velocidad de hidrólisis de este, principalmente cuando se encuentra a altas concentraciones. Por esta razón, fue necesario realizar un proceso de aclimatación de la biomasa a este sustrato, a fin de incrementar la actividad enzimática del lodo y, por ende, mejorar el rendimiento hidrolítico del reactor.

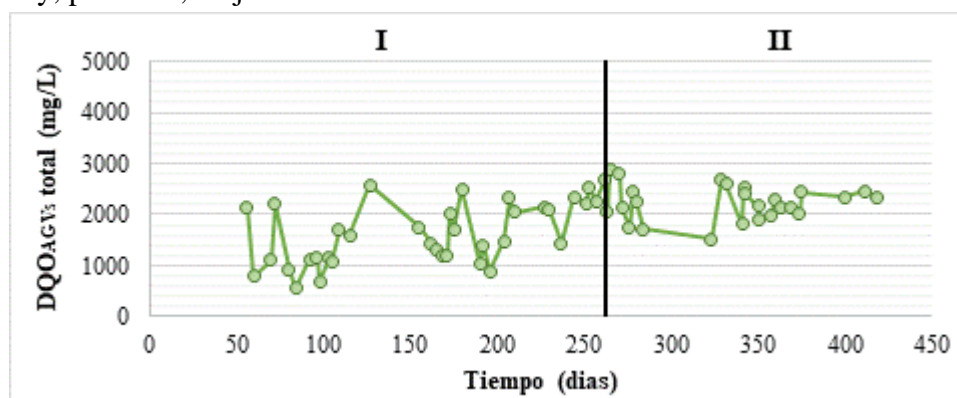


Figura 30 Comportamiento de la producción de AGVs expresado como DQO durante la operación del EGSB H/A. La DQO_{AGVs} total hace referencia a la suma de las concentraciones de Ácido Acético, Propiónico, i-Butírico, Butírico, i-valérico y Valérico en mg DQO/L.

Durante la fase I (arranque) el reactor fue sometido a cargas crecientes de almidón entre 1 y 8 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. La Figura 30 evidencia una apreciable fluctuación en la DQO_{AGV} en la fase inicial, esta respuesta es característica en el arranque de sistemas biológicos como parte de los mecanismos de adaptación de los microorganismos presentes en el sistema, y en este caso particular, de la transición hacia un reactor hidrolítico. La DQO_{AGV} se define como la fracción de la DQO del afluente que es transformada en forma de AGVs, a través del metabolismo de los microorganismos hidrolíticos y acidogénicos (Rodríguez, 2015). Por otra parte, la Figura 31 muestra la variación en la producción de cada tipo de AGV durante la operación del EGSB H/A. En

la fase I el incremento en la concentración del ácido acético, fue un indicador de la baja transformación de este producto intermediario en metano (Parawira et al., 2004). El criterio empleado para culminar la aclimatación fue la supresión de la fase metanogénica, esto fue logrado una vez que el sistema EGSB alcanzó las condiciones favorables para los microorganismos hidrolíticos/acidogénicos.

Durante la fase II el reactor fue operado con una COV de 8 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ y un tiempo de retención hidráulico de 12 horas. El comportamiento de la DQO_{AGV} indicó que las condiciones de operación favorecieron la ruta metabólica para la producción de AGVs, siendo este un indicador de la actividad de los microorganismos hidrolíticos/acidogénicos durante toda la fase. Por otra parte, la inhibición de los microorganismos metanogénicos fue verificada mediante la cuantificación de metano en el biogás producido, donde se obtuvieron resultados inferiores al límite de cuantificación durante toda la fase II de operación.

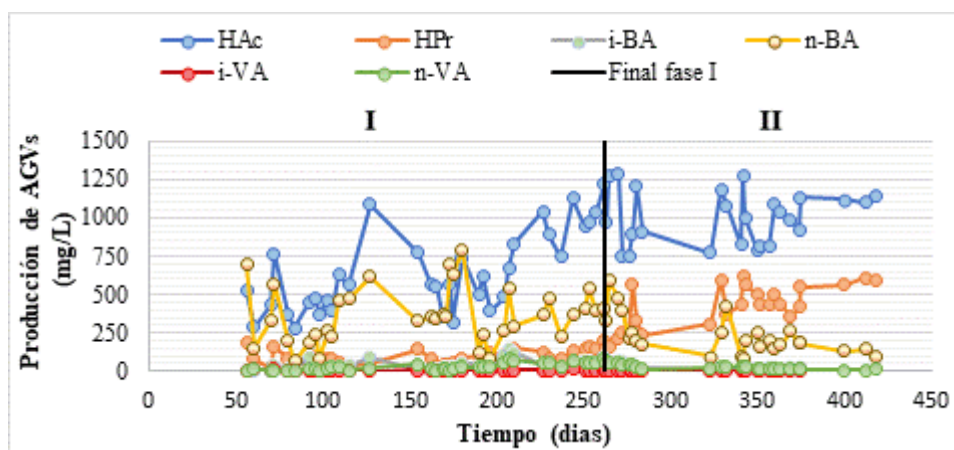
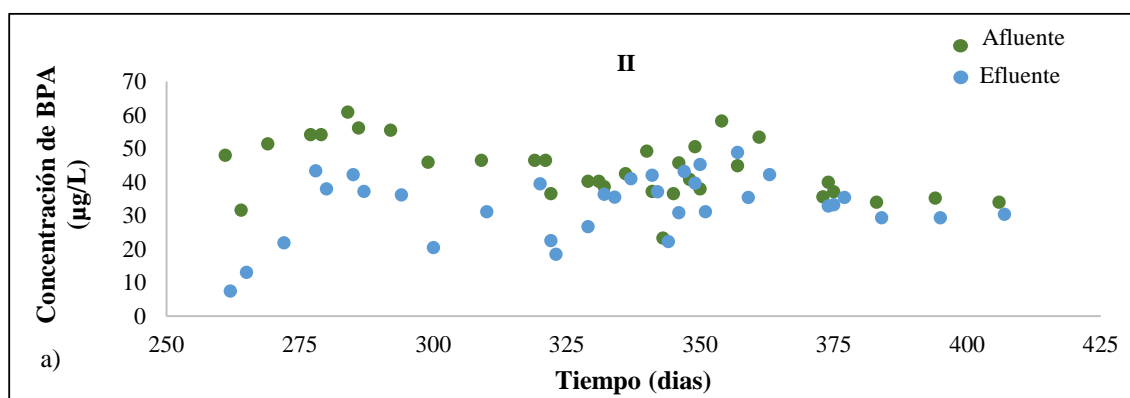


Figura 31 Variación de la producción de AGVs durante la operación del EGSB H/A. Ácido Hac: Acético HPr: Propiónico, i-BA: Iso-butírico, n-BA:Butírico, i-VA: Iso-valérico, n-VA:Valérico.

La Figura 31 muestra que los productos de la fermentación del almidón en el efluente del reactor durante la fase II, fueron principalmente ácido acético y propiónico, seguidos por el ácido butírico en menor proporción. En concordancia con los resultados obtenidos, se ha reportado que los ácidos acético, propiónico, butírico e iso-butírico son producidos a través de la fermentación anaerobia de carbohidratos y proteínas (Horiuchi et al., 2002). En cuanto a los ácidos valérico e iso-butírico, estos fueron cuantificados en concentración inferiores a 50 mgL⁻¹; finalmente, la concentración del ácido iso-valérico estuvo por debajo del límite de cuantificación de la metodología (5 mgL⁻¹) durante toda la operación del sistema. De acuerdo con lo indicado por Parawira et al. (2004), la producción de los ácidos butírico, iso-butírico e iso-valérico, es mínima durante la digestión de sustratos no proteínicos; en este sentido, los resultados obtenidos tienen concordancia con investigaciones reportadas previamente.

4.2.3.2 Evaluación de la remoción de PPCPs

Los ensayos con el EGSB hidrolítico/acidogénico fueron realizados en una fase, esta se caracterizó por la aplicación de una carga de $0.1 \text{ mgDQOL}^{-1}\text{d}^{-1}$ con la mezcla de BPA y SDF. La Figura 32 a y b muestra la variación en el tiempo de la concentración de BPA y SDF para el afluente y efluente del sistema EGSB hidrolítico. Por otro lado, la Figura 33 muestra la variación de la remoción para cada microcontaminante durante la operación del sistema. De manera semejante al sistema metanogénico, el bisfenol A presentó los mayores porcentajes de remoción en el inicio de la fase; sin embargo, después de varios días de operación, la eficiencia de eliminación disminuyó y se mantuvo alrededor del 20% hasta culminar la operación. Algunos autores sugieren que los principales mecanismos que afectan el destino de los microcontaminantes en el ambiente son la sorción y la biotransformación, estos parecen estar interrelacionados porque la sorción puede modificar las tasas de biotransformación y la biodisponibilidad de los PPCPs durante la digestión anaerobia (Barret et al., 2010; Gonzalez-Gil et al., 2018). Teniendo en cuenta que el bisfenol A es un compuesto con tendencia lipofílica, lo anterior tiene concordancia con el comportamiento observado en la remoción del BPA durante los ensayos realizados, los cuales indicaron la presencia de un mecanismo de sorción inicial seguido por un mecanismo de biodegradación después de la saturación de la biomasa presente en el sistema. En el caso del SDF, el porcentaje de remoción tuvo un valor promedio de 26% desde el inicio de la fase y se mantuvo alrededor de este valor durante toda la operación. Finalmente, los resultados obtenidos indicaron que el BPA y el SDF presentaron una baja remoción mediante el tratamiento con el sistema H/A.



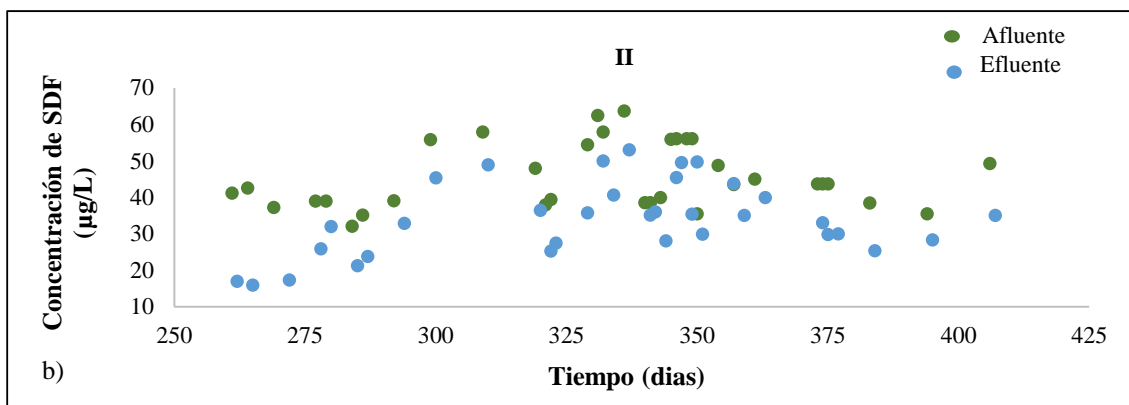


Figura 32 Variación en el tiempo de la concentración de a) BPA y b) SDF para el afluente y efluente del sistema H/A.

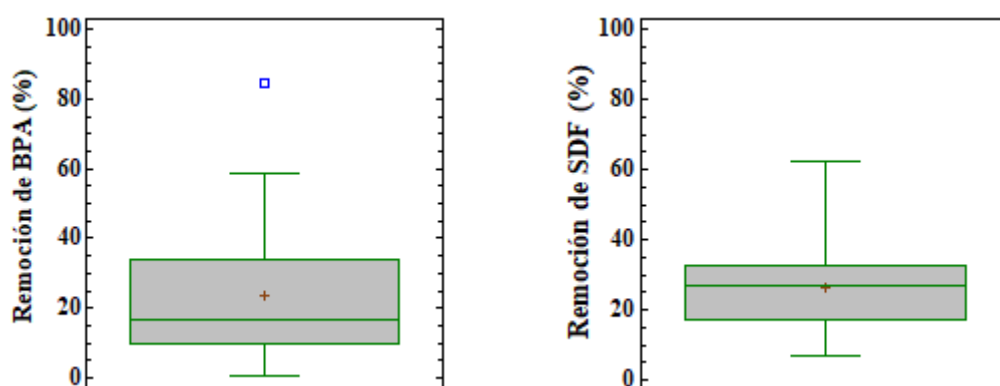


Figura 33 Variación de la remoción de BPA y SDF durante la fase de operación del sistema H/A.

La Figura 34 muestra la remoción promedio obtenida para los PPCPs en el EGSB hidrolítico, contrastada con la remoción media obtenida en la fase III del sistema metanogénico. Para la comparación fue seleccionada esta etapa, dado que la carga aplicada de los microcontaminantes en este punto de la operación ($0.12 \text{ mgDQOL}^{-1}\text{d}^{-1}$) era de un orden de magnitud semejante a la carga evaluada en el reactor hidrolítico ($0.1 \text{ mgDQOL}^{-1}\text{d}^{-1}$). Dado que la remoción alcanzada en ambos sistemas (MET e H/A) fue semejante para los dos PPCPs evaluados, los resultados sugieren que la ruta metabólica empleada por los consorcios hidrolíticos/acidogénicos tuvo un mayor aporte en la degradación de los compuestos, bajo las condiciones experimentales empleadas en este estudio. Sin embargo, se aclara que un porcentaje de la remoción obtenida en el BPA está relacionada con mecanismos de eliminación no biológicos. Se presume que la fermentación del almidón podría haber dado lugar a una mayor biotransformación cometabólica debido a la alta actividad de las enzimas hidrolasas.

Carneiro et al. (2020) indicaron que la biodegradación del BPA se ve significativamente favorecida bajo condiciones acetogénicas/metanogénicas; así mismo, reporta que la actividad acidogénica también contribuye (en menor grado) a la biodegradación de este compuesto. No obstante, se ha determinado que la biodegradación de los microcontaminantes depende en cierta medida de las actividades enzimáticas

desarrolladas en cada proceso biológico, de manera que el aporte de cada fase de la digestión anaerobia puede diferir de acuerdo a las condiciones operacionales de los sistemas, las cuales pueden estimular o inhibir actividades enzimáticas y por ende, algunas rutas metabólicas (Gonzalez-Gil et al., 2019). Lo anterior, permite explicar las diferencias obtenidas con la información reportada en la literatura.

Cabe señalar que no se encontraron reportes en la literatura (revistas indexadas) sobre el aporte de las fases de la digestión anaerobia a la biodegradación del sildenafil; por lo tanto, la información obtenida en este estudio es un punto de referencia para futuras investigaciones. Es importante resaltar que se desconocen las vías de biotransformación anaerobia para la mayoría de los PPCPs.

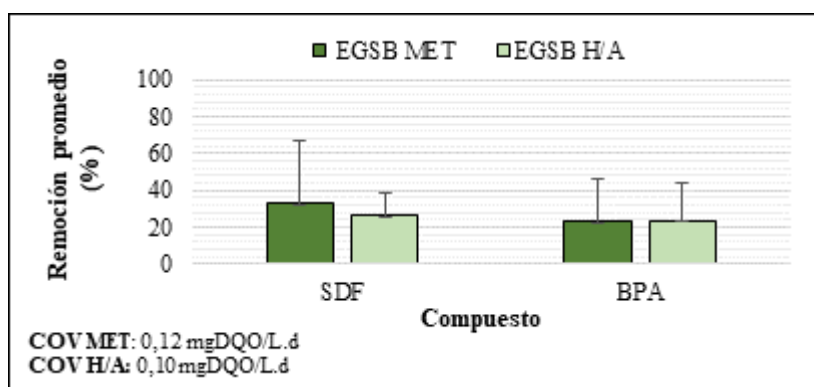


Figura 34 Comparación de la remoción de BPA y SDF después del tratamiento en el sistema MET e H/A.

4.3 CONCLUSIONES.

El sistema EGSB metanogénico alcanzó eficiencias de remoción de 78%, 63%, 55% y 28% para las cargas orgánicas volumétricas 3.6, 7.2, 9 y 14.4 gDQOL⁻¹d⁻¹ respectivamente. El comportamiento reveló que el incremento de la COV aportada por el sustrato tuvo una influencia negativa en el proceso de remoción de la materia orgánica, lo cual se vio reflejado en la pérdida de eficiencia del reactor. Esto indica que, el tiempo de retención hidráulica es un parámetro de gran importancia en el tratamiento de efluentes con alta carga orgánica, pues es necesario garantizar un tiempo mínimo de contacto entre la biomasa y el sustrato.

El rango de concentración empleado en el estudio permitió evaluar la remoción de los microcontaminantes en un intervalo de concentración cercano al que han sido reportados en la entrada de PTARs, representando un escenario más real y semejante a las condiciones encontradas en el medio ambiente.

Los resultados obtenidos en los experimentos en continuo y en batch con el SDF, sugieren que los consorcios hidrolíticos/acidogénicos tuvieron el rol principal sobre la degradación del compuesto bajo las condiciones empleadas en este estudio. No obstante, se aclara que los consorcios metanogénicos podrían tener incidencia en la biotransformación del compuesto, pero las condiciones evaluadas no favorecieron la estimulación de enzimas específicas que podrían tener un rol importante en la biodegradación del SDF. Por lo tanto, es importante realizar estudios posteriores que

permitan profundizar en la incidencia de los consorcios acetogénicos y metanogénicos en la biodegradación del sildenafil.

De acuerdo con los resultados obtenidos en los experimentos con el BPA, la sorción fue el mecanismo predominante durante los experimentos en batch, en contraste con esto, los experimentos en continuo indicaron la presencia de mecanismos de sorción al comienzo de la fase, seguido por posibles mecanismos de biodegradación después de la saturación de la biomasa presente en el sistema.

Los resultados obtenidos indicaron que el BPA y el SDF presentaron una baja remoción mediante el tratamiento anaerobio con el sistema metanogénico e hidrolítico.

Las diferencias en los porcentajes de remoción obtenidos en los ensayos en continuo y en batch, sugieren que las condiciones operacionales de los sistemas biológicos pueden estimular o inhibir actividades enzimáticas y, por ende, algunas rutas metabólicas relacionadas con la biodegradación de los microcontaminantes.

El conocimiento de los mecanismos de degradación de los microcontaminantes puede potencializar el uso y adecuación de las tecnológicas biológicas existentes, para lograr mayores porcentajes de remoción.

Resulta imperativo profundizar en las capacidades metabólicas y la red enzimática de las comunidades microbianas presentes en los sistemas de tratamiento, para determinar su potencial de biotransformación de los microcontaminantes.

5 ANÁLISIS DE LA BIOMASA

5.1 MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1.1 Inóculo.

El inóculo para los reactores fue recolectado de un sistema anaerobio UASB de la planta de tratamiento de aguas residuales de producción láctea (Colanta), ubicada en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia (Colombia). Se realizó una caracterización inicial para evaluar su potencial como inóculo, para ello se cuantificaron: Sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), índice volumétrico de lodos (IVL), velocidad de sedimentación (V_s), distribución por tamaño, densidad y microscopia electrónica de barrido (SEM). La relación STV/ST se empleó para evaluar de forma indirecta el contenido de biomasa activa en el lodo. También, se realizaron caracterizaciones parciales al final de cada fase y una caracterización final completa para analizar la presencia y adaptación de biomasa activa.

Dado que el contenido relativo de sólidos disueltos en la biomasa era muy bajo respecto a los sólidos suspendidos, se optó por utilizar los sólidos volátiles (SV) como medida de la biomasa presente en el lodo anaerobio y de forma análoga, los sólidos (ST) como medida de los sólidos suspendidos totales (SST) (Molina, 2007).

5.1.2 Análisis de la fase sólida

Los siguientes parámetros fueron realizados para caracterizar la biomasa:

- **Sólidos totales (ST) y volátiles (SV)**

Los sólidos que hacen parte de la biomasa pueden ser de naturaleza orgánica (volátiles) e inorgánica, siendo predominantes los orgánicos, la mayor parte de estos se encuentran en forma insoluble en el agua, por lo que la concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) se emplea como una medida indirecta de la biomasa presente en el lodo (Molina, 2007). Siendo un parámetro útil para el control de las operaciones con reactores biológicos.

Dado que el contenido relativo de sólidos disueltos en el lodo usado en este trabajo fue bajo respecto a los sólidos suspendidos, se optó por utilizar los sólidos volátiles (SV) como medida de la biomasa presente en el lodo anaerobio y de forma análoga, los sólidos (ST) se tomaron como medida de los sólidos suspendidos totales (SST).

Los sólidos totales (ST) se determinaron de acuerdo con el apartado 2540 B “Total Solids Dried at 103-105°C”, los sólidos volátiles totales (SV) de acuerdo al apartado 2540 E “Fixed and volatile Solids Ignited at 550°C” de los protocolos normalizados del Standard Methods para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, 2017).

- **Distribución por tamaño**

Es un parámetro que permite comparar diferentes lodos o estudiar la evolución de la biomasa en el tiempo, es de gran utilidad cuando se operan reactores con presencia de lodo granular.

El procedimiento fue realizado de acuerdo a la metodología referenciada por (Londoño, 2018). Para el ensayo se empleó un estereoscopio BST-606 (BOECO) y el cálculo del tamaño se llevó a cabo usando una hoja milimetrada, el diámetro medio correspondió al promedio de los segmentos medios más largos y cortos correspondientes a cada gránulo.

- **Velocidad de sedimentación (Vs)**

Los sistemas anaerobios EGSB pertenecen a la categoría de reactores de tercera generación, esto los dota de la capacidad de independizar el tiempo de retención celular (TRC) del tiempo de retención hidráulico (TRH), logrando retener grandes cantidades de biomasa que alcanzan altas velocidades de sedimentación. Es un parámetro importante porque los gránulos anaerobios que tienen buenas características de sedimentación evitan el lavado de biomasa en el reactor (Owusu-Agyeman et al., 2019). El ensayo se llevó a cabo de acuerdo con la metodología reportada por (Molina, 2007).

- **Índice volumétrico de lodos (IVL)**

Es el volumen en mililitros ocupado por 1 gramo de sólidos suspendidos totales del lodo de estudio, después de 30 minutos de sedimentación (APHA, 2017), es un indicador de la capacidad de compactación que tiene un lodo y es de utilidad en el control de procesos biológicos (Londoño, 2018).

El ensayo fue realizado de acuerdo al apartado 2710 D “Sludge Volume Index” de los protocolos normalizados del Standard Methods para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, 2017). Para este ensayo se usó el mismo lodo utilizado en el ensayo de velocidad de sedimentación.

El valor del IVL se expresa en mL g ST-1 y se calcula de acuerdo con la ecuación:

$$IVL = \frac{V_{30 \text{ min}}}{C_{SST} \cdot V \cdot F} \quad \text{Ecuación 24}$$

Donde:

V_{30min}: volumen ocupado por el lodo pasados 30 min de sedimentación; **CSST**: concentración de sólidos totales de la muestra de lodo empleada (g/L); **V**: volumen de la probeta; **F**: factor de dilución empleado en el ensayo.

- **Densidad de los gránulos**

Este parámetro indica el grado de compactación de los biosólidos y se correlaciona con otras características como la Vs y el IVL. Para calcular la densidad de los gránulos (g SSV.L-1) se llevó a cabo el método descrito por (Beun et al., 2001; F. Molina et al., 2008). Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología de las muestras de biomasa fue estudiada usando un microscopio electrónico de barrido, para la preparación inicial se llevó a cabo el lavado, la fijación y la deshidratación de las muestras de acuerdo a la metodología descrita por (Rodríguez, 2015). Adicionalmente, para llevar a cabo el análisis, se realizó un recubrimiento de la muestra con oro usando un revestidor de bombardeo iónico y por último se observó la muestra en el microscopio SEM.

5.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.2.1 Caracterización del inóculo empleado en la experimentación.

Inicialmente se realizó la caracterización de la biomasa proveniente del sistema anaerobio UASB de la planta de tratamiento de aguas residuales de la empresa Colanta, ubicada en el municipio de San Pedro de los Milagros. La biomasa era un lodo anaerobio de conformación granular, las principales características físicas y de la conformación del lodo se presentan en la Tabla 15 y Figura 35.

Tabla 15. Caracterización inicial de la biomasa (inóculo) empleada en la experimentación

PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO
ST	g/L	48,32
SV	g/L	36,26
SV/ST	%	74,94
IVL	mL/g	23,60
Vs	m/h	19,20
Densidad	g/L	23,91
Diámetro medio de gránulos	mm	2,2

Para la biomasa caracterizada, se obtuvieron los valores 48.32 gL^{-1} y 36.26 gL^{-1} para los ST y SV respectivamente; con una relación SV/ST de 0.75, indicando que aproximadamente el 75% de los sólidos totales presentes en la biomasa granular son de naturaleza orgánica, esta condición indicó la presencia de una alta concentración de microorganismos con respecto al material inerte que hace parte de la conformación del lodo granular, representado un inóculo potencial para el arranque del reactor. Posteriormente a la caracterización inicial, cada reactor EGSB fue inoculado con 40 g SSV/L del lodo anaerobio evaluado.

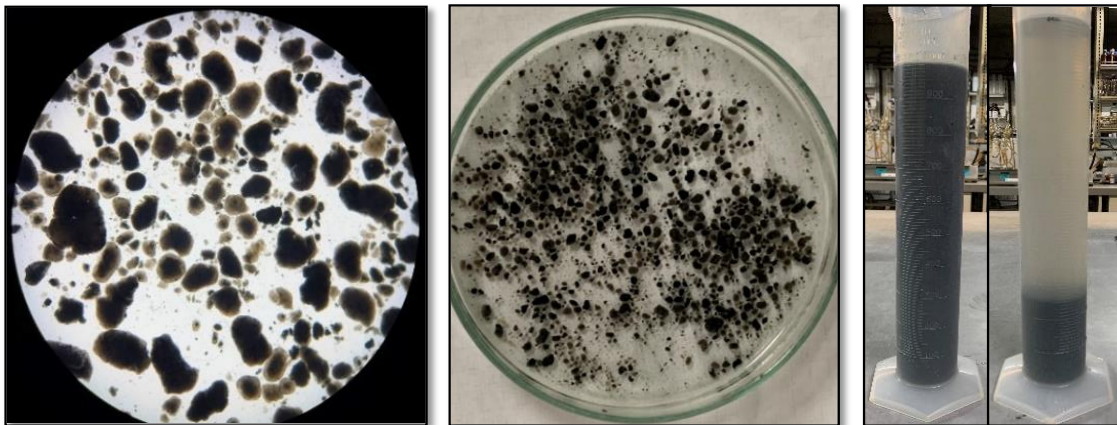


Figura 35 Imágenes de la forma, tamaño y sedimentación de los gránulos del inóculo anaerobio empleado en la experimentación.

Se evaluaron las principales características físicas estudiadas en la biomasa granular entre las cuales se encuentran la velocidad de sedimentación (V_{sed}), el índice volumétrico de lodos (IVL), la distribución por tamaño y la densidad. Para la caracterización también se tomaron imágenes con un microscopio electrónico de barrido (SEM) para estudiar la morfología de los gránulos.

○ **Velocidad de sedimentación (V_{sed}) e Índice volumétrico de lodos (IVL)**

La sedimentabilidad es un componente de gran importancia para la caracterización de los lodos, se evalúa de manera conjunta teniendo en cuenta los parámetros IVL y V_{sed} , lo que permite conocer las características de sedimentabilidad y compactación de los lodos (Londoño, 2018).

En la caracterización inicial realizada en este estudio el valor de la velocidad de sedimentación fue $19.2 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$. Schmidt (1996) reportó que la velocidad de sedimentación para lodos granulares varía entre $18\text{-}100 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$; donde los valores típicos se sitúan entre $18\text{-}50 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$. Posteriormente, Díaz et al. (2002), indicaron que la V_{sed} media en lodos granulares presentes en reactores UASB de alta carga oscila entre 53 y $100 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$. Aunque el valor obtenido para la V_{s} del lodo granular analizado no es muy alto comparado con los valores reportados inicialmente, Ghangrekar et al. (2005) señalaron que existen reportes para la velocidad de sedimentación de lodos en sistemas UASB entre $2\text{-}90 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ y; para lodos granulares de muy buenas características entre $18\text{-}100 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$. De manera semejante, Molina (2007) encontró que la retención de la biomasa en reactores con lecho suspendido se puede lograr con gránulos anaerobios que alcancen velocidades de sedimentación mayores a $1 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$; de modo que, el resultado obtenido se encuentra dentro de un orden de magnitud adecuado para este tipo de lodo. Adicionalmente, se ha determinado que la composición mineral de la biomasa influye directamente en propiedades físicas como la densidad, que también tiene incidencia en la velocidad de sedimentación de los gránulos, hecho que puede explicar la diferencia de valores de V_{sed} reportados en la literatura (Molina, 2007).

La velocidad de sedimentación del lodo es un factor crítico porque regula la separación de los sólidos de la fase líquida y afecta la calidad del efluente en sistemas de tratamiento biológicos de aguas residuales (Li & Yu, 2011). En el caso del lodo analizado, su V_{sed} presentó un buen comportamiento de asentamiento lo cual es esencial para obtener efluentes altamente clarificados (Figura 35). Por otro lado, el valor obtenido para el IVL fue $23,60 \text{ mL/g}$. De acuerdo con Rodríguez (2015), el índice volumétrico de lodos indica el grado de sedimentabilidad y compactación; y puede ser clasificado de acuerdo con la Tabla 16.

Tabla 16. Clasificación del IVL de acuerdo con el grado de sedimentabilidad del lodo
(Rodríguez, 2015)

IVL (mL/g)	Grado de sedimentabilidad
≤ 100	Buena sedimentabilidad
100-200	Aceptable
≥ 200	Sedimentabilidad pobre (Bulking)

De acuerdo con la Tabla 16, el valor obtenido para el IVL sugiere que el lodo estudiado tiene buenas propiedades de sedimentación y compactación, características deseadas para alcanzar una mayor retención de biomasa y para mantener un alto tiempo de retención de lodos en el sistema de tratamiento. Por otro lado, Ghangrekar et al. (2005) indicaron que valores en el IVL cercanos o inferiores a $50 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, y velocidades de sedimentación que varían entre 2 y $90 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ son características esperadas en lodos granulares producidos en reactores anaerobios de flujo ascendente.

○ **Densidad y granulometría**

En cuanto a la densidad y la granulometría, estos parámetros también están relacionados con características hidrodinámicas como la V_{sed} y el IVL (Molina, 2007).

De acuerdo con las condiciones de funcionamiento de los reactores de lodos granulares, un mayor tamaño en la biomasa y valores relativamente altos en la densidad de los gránulos individuales hace que el lodo se asiente rápidamente, lo que simplifica la separación de aguas residuales tratadas de la biomasa (Liu & Tay, 2004). Según Rodríguez (2015), la densidad de la biomasa granular empleada para inocular un reactor EGSB fue de 38.78 g.L^{-1} ; posteriormente, Londoño (2018) reportó que la densidad de la biomasa de tipo granular empleada para inocular un reactor de la misma configuración fue de 25.90 g.L^{-1} . De acuerdo con la Tabla 16, el valor de la densidad de los gránulos para la biomasa caracterizada fue de $23,91 \text{ g.L}^{-1}$, aunque el resultado es ligeramente inferior a los valores reportados en la literatura se encuentra dentro del orden de magnitud reportado para lodos granulares.

Por otro lado, el valor del diámetro medio hallado para los gránulos estudiados fue 2.2 mm. De acuerdo con lo reportado en la revisión realizada por Liu & Tay (2004), el diámetro del lodo granular en un sistema UASB puede variar entre 0.14 a 5 mm. No obstante; Díaz et al. (2002), indicaron que el diámetro medio de los gránulos para una biomasa granular se encuentra en un rango más estrecho entre 0.8 a 2.2 mm. En este sentido, el valor determinado en el presente estudio se encuentra dentro de los rangos de variación encontrados en la literatura para lodos granulares; aunque, la distribución por tamaño de la biomasa granular depende de múltiples factores como el sustrato, estrés hidráulico, la producción de polímeros extracelulares, entre otros (Molina, 2007).

Adicionalmente, es importante destacar que el tamaño de los gránulos anaerobios tiene un doble efecto en el rendimiento de los sistemas anaerobios de flujo ascendente, si es demasiado pequeño, es probable que se lave fácilmente fuera del reactor conduciendo a una inestabilidad operativa; por otro lado, si el gránulo es de gran tamaño puede reducir la transferencia de masa dentro del sistema (Liu & Tay, 2004).

- **Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

La morfología y la estructura interna de los gránulos fueron observadas a través de la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM), la Figura 36 muestra las imágenes tomadas durante la caracterización inicial del lodo.

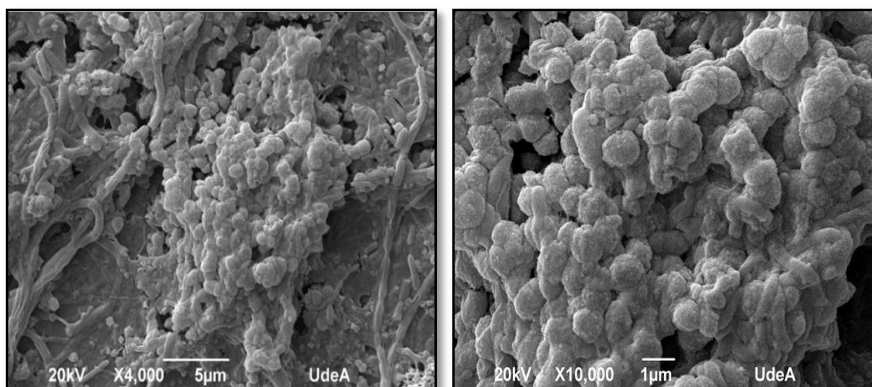


Figura 36 Fotografías SEM correspondientes a la morfología del estado inicial del lodo (inóculo) empleado en la experimentación.

Las imágenes SEM presentan diversas estructuras de buena conformación con formas relativamente regulares, la morfología de los gránulos observados sugiere la presencia de diferentes morfotipos bacterianos, principalmente cocos y diplococos; y microorganismos de tipo filamentosos en menor proporción en los gránulos observados. La presencia de estos consorcios microbianos está relacionada con las características de operación del sistema UASB y el tipo de aguas residuales de donde fue tomado el lodo (Londoño, 2018). Por otro lado, se observaron algunas cavidades y agujeros especialmente en la imagen tomada con el aumento X10.000, estudios realizados previamente han revelado la presencia de este tipo de cavidades, las cuales se definieron como canales para el transporte de gases, sustrato, o metabolitos (MacLeod et al., 1990; Rodríguez, 2015).

5.2.2 Análisis de la variación de las características físicas de la biomasa granular a través de las etapas de operación en el sistema EGSB metanogénico y EGSB hidrolítico/acidogénico

Los experimentos en continuo bajo la aplicación de diferentes cargas de los PPCPs también fueron evaluados a través de la evolución fisicoquímica y microbiológica de la biomasa granular anaerobia en el tiempo. Los resultados obtenidos son presentados en las siguientes secciones.

5.2.2.1 Evaluación de los ST y SV en los sistemas EGSB

Al finalizar cada una de las etapas se realizaron análisis de la biomasa para ambos reactores, la concentración de ST, SV y su relación en cada una de las fases de la operación se presenta en la Figura 37 y la Figura 38, para el reactor metanogénico e hidrolítico respectivamente. El comportamiento de la Figura 37 muestra que para el EGSB metanogénico hubo un incremento en los parámetros ST y SV en la fase II, donde las concentraciones al final de la fase fueron 65.36 y 48.37 g.L⁻¹ respectivamente; adicionalmente, la relación de SV/ST estuvo por encima del 70% en las primeras dos fases de operación, esto indica que una alta proporción de los sólidos presentes en la biomasa del reactor eran de naturaleza orgánica, esto sugiere que la incorporación de los PPCPs BPA y el SDF al igual que la carga evaluada en la fase II (3.6 gDQO/L.d) no causaron perturbaciones en el reactor, sino que por el contrario permitieron el aumento de la concentración de microorganismos con respecto al material inerte que hacía parte de la conformación del lodo granular. En las fases posteriores la concentración de ST, SV y la relación SV/ST disminuyó a medida que aumentó la carga en el reactor, alcanzando los valores 37.93, 22.22 g.L⁻¹ y 58% respectivamente, al final de la fase V con una carga de 14.4 gDQO/L.d. Los resultados sugieren que la disminución paulatina de la concentración de los ST y SV estuvo vinculada con el aumento de la carga orgánica en cada fase, lo cual indujo perturbaciones que generaron la pérdida parcial de biomasa en el reactor en cada cambio de fase. Adicionalmente, la disminución también pudo estar ligada a la purga de lodos que se le realizaba para la evaluación de cada uno de los parámetros de seguimiento.

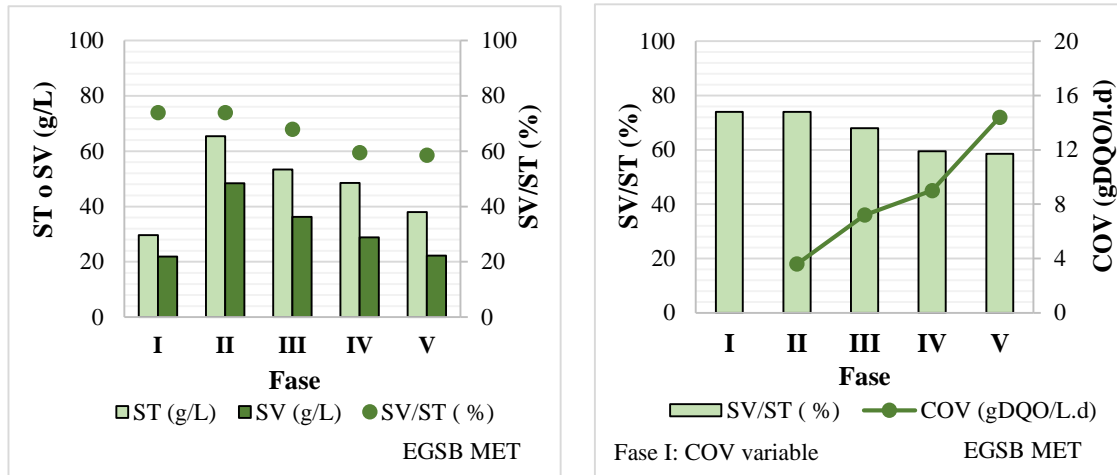


Figura 37 Concentración de ST , SV y relación SV/ST para el sistema EGSB metanogénico a través de las fases de operación.

Para el reactor hidrolítico (Figura 38), los ST y SV disminuyeron alcanzando las concentraciones 15.28 y 13.85 g.L^{-1} , respectivamente al final de la fase II ; sin embargo, la relación SV/ST se mantuvo por encima del 80%, indicando un alto contenido de materia orgánica, correlacionada con biomasa anaerobia en el reactor. De este modo, se evidenció una menor concentración de sólidos en comparación con el reactor metanogénico. La notable reducción en la concentración de sólidos en el reactor hidrolítico estuvo relacionada con la disminución de la densidad y pérdida de granulometría del lodo que será mencionada posteriormente.

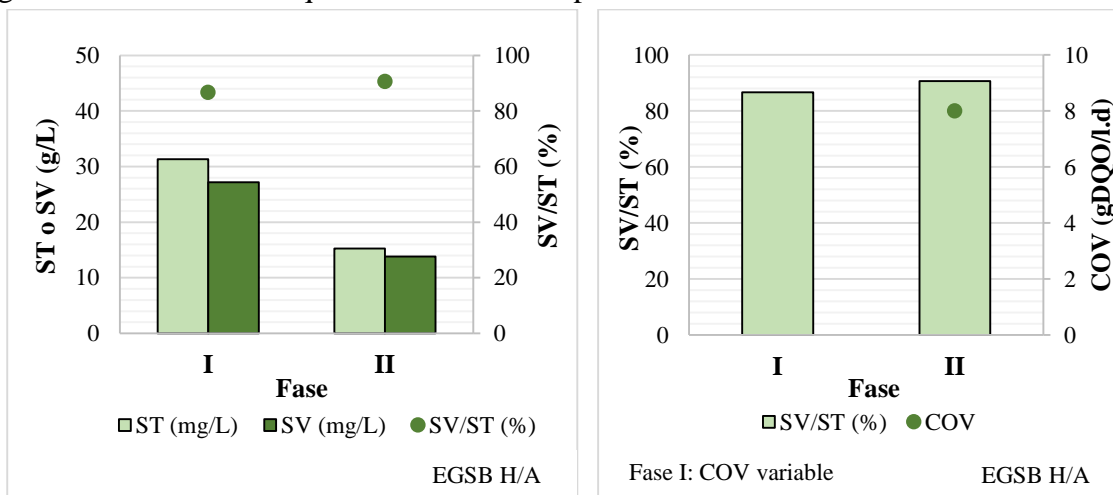


Figura 38 Concentración de ST, SV y relación SV/ST para el sistema EGSB hidrolítico/acidogénico a través de las fases de operación.

5.2.2.2 Evaluación del IVL y la velocidad de sedimentación en los sistemas EGSB

La Figura 39 muestra la variación del índice volumétrico de lodos (IVL) y la velocidad de sedimentación (V_s) para el EGSB MET e H/A. Para el reactor metanogénico se observó una disminución gradual en el IVL en las primeras tres fases de operación, y de forma paralela un aumento en la V_{sed} , reflejando la estabilización del reactor frente a las cargas a las cuales fue sometido. Los valores obtenidos para ambos parámetros

indicaron un buen comportamiento de asentamiento del lodo, esto permitió obtener efluentes altamente clarificados en dichas fases de operación. En contraste con esto, al final de la fase IV y V donde se evaluaron las mayores cargas (9 y 14.4 gDQO/L), el IVL aumentó y la V_{sed} disminuyó en relación con las primeras fases, lo que indicó una dificultad por parte del reactor para adaptarse a las cargas orgánicas volumétricas evaluadas, dichos resultados tienen concordancia con la pérdida de sólidos observada en la Figura 37. En cuanto al reactor hidrolítico, en la fase II se identificó una tendencia similar en el IVL y la V_{sed} al aumentar la carga a 8 gDQO/L. Al comparar el comportamiento del IVL y la V_{sed} , se identifica una relación inversa entre estos parámetros, ya que mientras el IVL disminuye, la velocidad aumenta, este comportamiento ha sido reportado previamente en sistemas biológicos EGSB con lodo granular (Rodríguez, 2015).

Finalmente, a pesar de las variaciones observadas en el IVL a través de la operación de los reactores, los valores obtenidos para este parámetro permitieron seguir clasificando el lodo de ambos sistemas como lodo con buenas propiedades de sedimentación, según la clasificación presentada en la Tabla 16 para registros de $IVL < 100$.

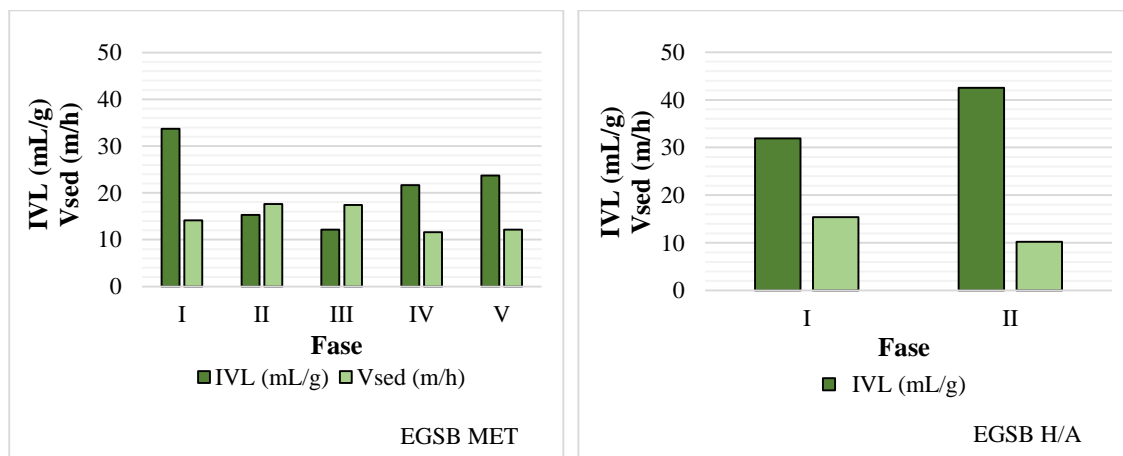


Figura 39 Variación del índice volumétrico de lodos y la velocidad de sedimentación para el EGSB metanogénico y el EGSB hidrolítico/acidogénico a través de las fases de operación.

5.2.2.3 Evaluación de la densidad y la granulometría en los sistemas EGSB

La caracterización inicial arrojó una densidad de 23.91 g.L^{-1} , y después de finalizar la aclimatación de los reactores (fase I) la densidad calculada fue 18.51 y 14.60 g.L^{-1} para el EGSB MET y H/A respectivamente. La disminución en la densidad para ambos sistemas con respecto a la inicial indica una etapa de arranque y aclimatación de los microorganismos a unas nuevas condiciones específicas que incluyen carga, tipo de materia orgánica y pH, siendo un comportamiento reportado en estudio previos (Rodríguez, 2015). Por otro lado, los resultados obtenidos para la densidad al final de la operación de los reactores fueron 14.01 y 8.90 g.L^{-1} para el reactor metanogénico e hidrolítico respectivamente. De modo que la biomasa obtenida al final de la

experimentación estaba conformada por gránulos bacterianos con una menor densidad pero que seguían siendo compactos.

En cuanto a la granulometría, la caracterización inicial arrojó un valor de diámetro promedio de los gránulos de 2.2 mm con una mayor predominancia de los gránulos con tamaños entre 2.1-2.5 mm. Posteriormente, los resultados obtenidos para la granulometría al final de la operación de los reactores (Figura 40) fueron 1.7 mm, con mayor predominancia de los gránulos con tamaños entre 1.1-1.5 mm para el reactor metanogénico; y 1.3 mm con mayor predominancia de los gránulos con tamaños entre 0.5-1 mm en el reactor hidrolítico.

Con base en lo anterior, los cambios más drásticos en la biomasa se presentaron en el reactor hidrolítico, donde hubo una disminución de aproximadamente el 40% en la densidad, lo cual se vio reflejado en el tamaño y en la sedimentabilidad del lodo; en consecuencia, la presencia de gránulos más pequeños hizo que parte del lodo se lavara por fuera del reactor. Los cambios observados en la biomasa se presentaron desde la fase I, dado que el sistema operó con cargas altas desde el inicio de la operación y hubo un cambio en el pH del medio como parte de la estrategia de arranque orientada a la inhibición de los consorcios metanogénicos. La transición observada en la morfología del lodo obedece a la alteración del modelo estructural organizado por capas que ha sido reportado previamente para la conformación microbiológica de gránulos provenientes de sistemas anaerobios. Algunos autores indican que esta distribución microbiana en los gránulos depende fuertemente de la termodinámica y la cinética de degradación del sustrato individual, razón por la cual, diversas vías catabólicas pueden dar lugar a diferentes estructuras granulares (Liu et al., 2003). Sumado a esto, también existen reportes de que factores como el pH y la alcalinidad tienen incidencia en la formación del lodo granular e influyen en características como la densidad, consistencia y tamaño (Londoño, 2018). Teniendo en cuenta lo anterior, durante el establecimiento del reactor hidrolítico/acidogénico y la subsecuente inhibición de los consorcios metanogénicos, se esperaba obtener cambios en la conformación de la biomasa.

Finalmente, en el caso del reactor metanogénico, los mayores cambios en la densidad y tamaño de los gránulos se presentaron entre las fases IV y V, donde se observa la mayor alteración en la sedimentabilidad, teniendo en cuenta que son parámetros correlacionados. No obstante, la variación observada en estos parámetros no fue tan marcada para la conformación granular de la biomasa proveniente de este reactor.

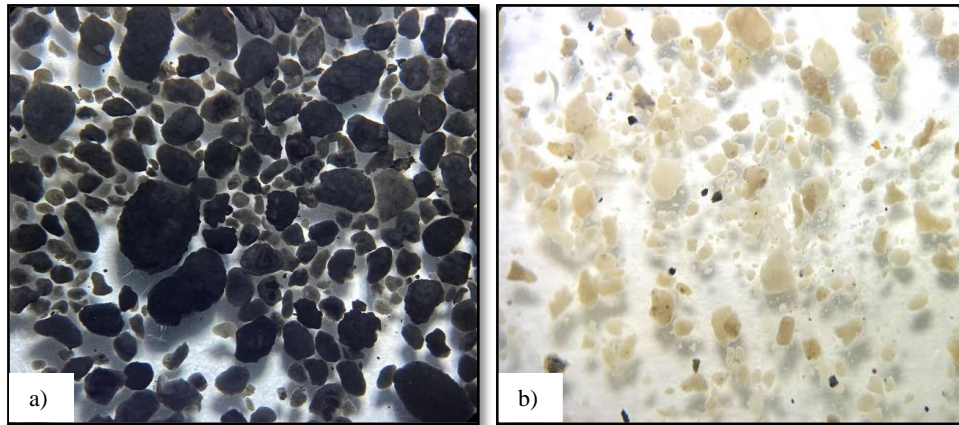


Figura 40 Imágenes de la morfología del lodo al final de la operación en a) EGSB metanogénico b) EGSB hidrolítico

5.2.2.4 Análisis con microscopio de barrido (SEM) de la morfología de los gránulos de los sistemas EGSB.

La Figura 41 muestra la morfología de los gránulos del sistema metanogénico e hidrolítico después del culminar todas las fases de operación. Los gránulos del EGSB blanco fueron tomados del reactor de respaldo, este fue usado como control y permitió establecer las condiciones base para el análisis de la morfología del lodo, dado que fue aclimatado empleando el mismo sustrato (almidón) que los otros sistemas, y nunca fue sometido a altas cargas orgánicas, ni puesto en contacto con los microcontaminantes BPA y SDF.

Para el EGSB MET las imágenes SEM mostraron alteraciones en la conformación microbiana superficial del gránulo, se observa una pérdida de la estructura rugosa, y a diferencia de los gránulos del EGSB empleado como control, no se visualizan estructuras relacionadas con conformación microbiana en la superficie, lo que está relacionado con las alteraciones encontradas en la granulometría y en la sedimentabilidad de la biomasa. Por otro lado, las imágenes SEM de los gránulos provenientes del EGSB H/A sugieren la presencia de microorganismos de tipo filamentoso, cocos y diplococos cuya estructura se encuentra ligeramente deformada en la mayoría de los gránulos observados; adicionalmente, se evidencian algunos rompimientos en la estructura interior de los gránulo, que indican afectaciones en la conformación del lodo, lo cual tiene concordancia con las variaciones obtenidas en la granulometría y en los parámetros de sedimentabilidad en dicho sistema.

En resumen, el reactor EGSB usado como control permitió establecer las condiciones base, que fueron usadas para comparar los resultados obtenidos con los otros reactores que estuvieron expuestos a cargas con la mezcla de los microcontaminantes BPA y SDF. Los resultados obtenidos indican mayores afectaciones en la morfología del sistema metanogénico (sometido a mayores cargas); se presume que las alteraciones fueron generadas principalmente por el efecto de la carga orgánica a la que fueron sometidos los microorganismos y no propiamente a la presencia de los PPCPs. Para

confirmar esto, el efecto de los PPCPs fue evaluado con la actividad de la biomasa en los ensayos en batch y con el rendimiento de los sistemas EGSB en los sistemas en continuo.

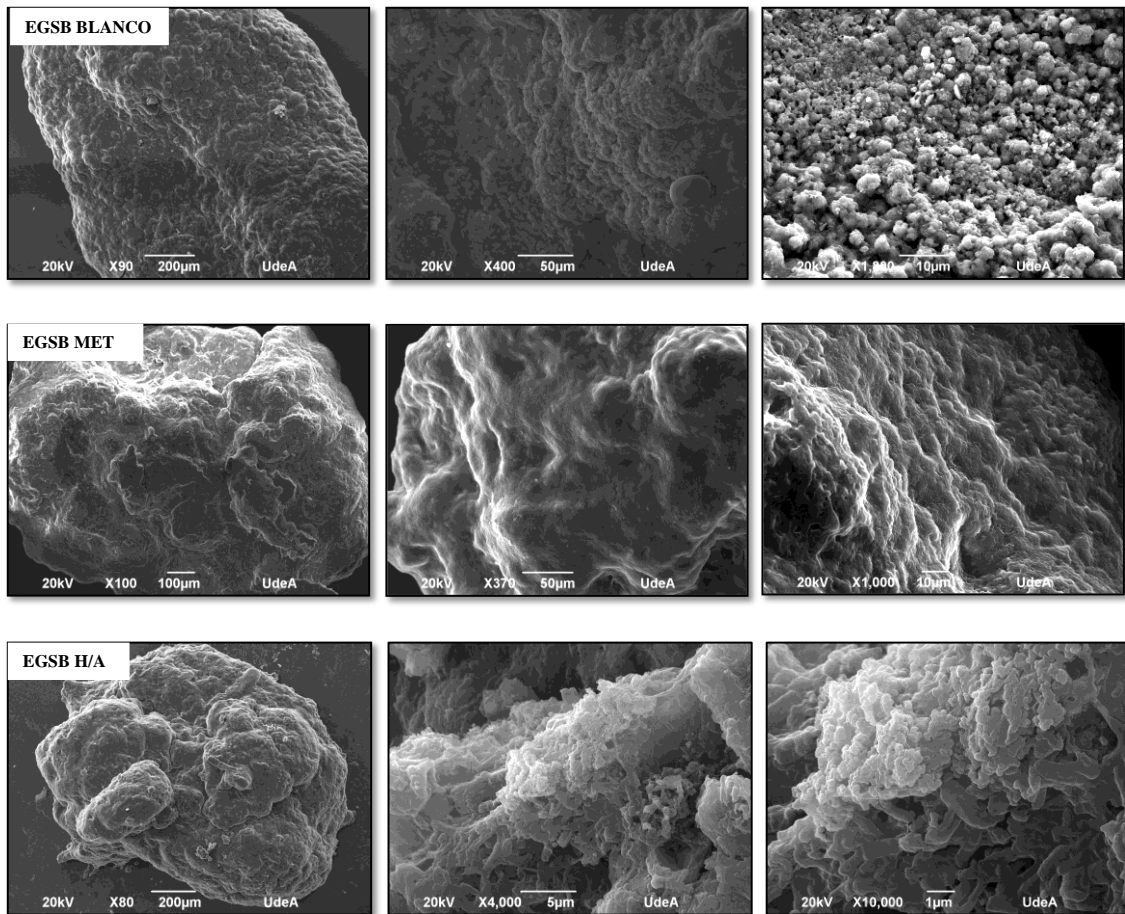


Figura 41 Imágenes SEM del análisis de la morfología de los gránulos correspondientes al EGSB blanco, metanogénico e hidrolítico al final de la operación.

5.3 CONCLUSIONES.

Los resultados sugieren que la disminución paulatina de la concentración de los ST y SV en el sistema EGSB metanogénico, estuvo vinculada con el aumento de la carga orgánica (proveniente del sustrato) en cada fase. Por otro lado, la notable reducción en la concentración de sólidos en el reactor hidrolítico sugiere que la disminución de la densidad y la pérdida de granulometría del lodo estuvo relacionada con el desplazamiento de algunos consorcios de microorganismos como parte de la transición a un sistema hidrolítico.

A pesar de las variaciones observadas en el IVL a través de la operación de los reactores, los valores obtenidos para este parámetro permitieron seguir clasificando el lodo de ambos sistemas como biomasa con buenas propiedades de sedimentación.

Los resultados obtenidos indicaron afectaciones en las características físicas de la biomasa proveniente del reactor hidrolítico, lo cual se vio reflejado en la alteración del tamaño y la sedimentabilidad del lodo. La transición observada en la morfología obedece

a la alteración del modelo estructural organizado por capas que ha sido reportado previamente para la conformación microbiológica de gránulos provenientes de sistemas anaerobios.

Los resultados obtenidos indicaron afectaciones en la morfología del sistema metanogénico (sometido a mayores cargas); se presume que las alteraciones fueron generadas principalmente por el incremento de la carga orgánica proveniente del sustrato, y no propiamente a la carga orgánica aportada por los PPCPs. Es importante aclarar que la carga orgánica generada por el aporte de los microcontaminantes (co-sustrato) es muy baja, comparada con la aportada por el sustrato.

6 REFERENCIAS.

- Alvarino, T., Suarez, S., Lema, J. M., & Omil, F. (2014). Understanding the removal mechanisms of PPCPs and the influence of main technological parameters in anaerobic UASB and aerobic CAS reactors. *Journal of Hazardous Materials*, 278, 506–513. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.06.031>
- Alvarino, T., Suarez, S., Lema, J., & Omil, F. (2018). Understanding the sorption and biotransformation of organic micropollutants in innovative biological wastewater treatment technologies. *Science of the Total Environment*, 615, 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.278>
- Antonio, M., & Acosta, C. (2017). Evaluación de un digestor anaerobio de fases separadas para el tratamiento de lactosuero de la microempresa “Lácteos La Delicia La Frontera.”
- APHA. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. In American Public Health Association.
- Arcos, M. C. (2005). Fate of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) in Sewage Treatment Plants focusing on the anaerobic digestion of sludge. Universidad Santiago de Compostela.
- Arias, A., Alvarino, T., Allegue, T., Suárez, S., Garrido, J. M., & Omil, F. (2018). An innovative wastewater treatment technology based on UASB and IFAS for cost-efficient macro and micropollutant removal. *Journal of Hazardous Materials*, 359, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.042>
- ASTM. (2019). Standard test method for total carbon in water by ultraviolet, or persulfate oxidation, or both and infrared detection. In *Annual book of ASTM standards*. <https://www.astm.org/d7573-18ae01.html>
- Babić, S., Horvat, A. J. M., Mutavdžić Pavlović, D., & Kaštelan-Macan, M. (2007). Determination of pKa values of active pharmaceutical ingredients. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(11), 1043–1061. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2007.09.004>
- Baker, D. R., & Kasprzyk-Hordern, B. (2011). Multi-residue analysis of drugs of abuse in wastewater and surface water by solid-phase extraction and liquid chromatography–positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(12), 1620–1631.

<https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2011.01.060>

- Baker, D. R., & Kasprzyk-Hordern, B. (2013). Spatial and temporal occurrence of pharmaceuticals and illicit drugs in the aqueous environment and during wastewater treatment: New developments. *Science of The Total Environment*, 454–455, 442–456. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2013.03.043>
- Barceló, D., & López, M. J. (2010). Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Panel Científico-Técnico de Seguimiento de La Política de Aguas. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC.
- Barret, M., Carrère, H., Latrille, E., Wisniewski, C., & Patureau, D. (2010). Micropollutant and sludge characterization for modeling sorption equilibria. *Environmental Science & Technology*, 44(3), 1100–1106. <https://doi.org/10.1021/ES902575D>
- Belhaj, D., Baccar, R., Jaabiri, I., Bouzid, J., Kallel, M., Ayadi, H., & Zhou, J. L. (2015). Fate of selected estrogenic hormones in an urban sewage treatment plant in Tunisia (North Africa). *Science of the Total Environment*, 505, 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.018>
- Beun, J. J., Heijnen, J., & Van Loosdrecht, M. C. . (2001). N-Removal in a granular sludge sequencing batch airlift reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 75(1), 82–92. <https://doi.org/10.1002/BIT.1167>
- Bianco, G., Foti, L., Pascale, R., Lelario, F., Coviello, D., Brienza, M., Bufo, S. A., & Scrano, L. (2021). Phosphodiesterase-5 (PDE-5) Inhibitors as Emergent Environmental Contaminants: Advanced Remediation and Analytical Methods. *Water* 2021, Vol. 13, Page 2859, 13(20), 2859. <https://doi.org/10.3390/W13202859>
- Blair, B., Nikolaus, A., Hedman, C., Klaper, R., & Grundl, T. (2015). Evaluating the degradation, sorption, and negative mass balances of pharmaceuticals and personal care products during wastewater treatment. *Chemosphere*, 134, 395–401. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.04.078>
- Boleda, M. R., Galceran, M. T., & Ventura, F. (2011). Behavior of pharmaceuticals and drugs of abuse in a drinking water treatment plant (DWTP) using combined conventional and ultrafiltration and reverse osmosis (UF/RO) treatments. *Environmental Pollution*, 159(6), 1584–1591. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.02.051>
- Bolong, N., Ismail, A. F., Salim, M. R., & Matsuura, T. (2009). A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. *Desalination*, 239(1–3), 229–246. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2008.03.020>
- Bonnot, K., Benoit, P., Mamy, L., & Patureau, D. (2022). Transformation of PPCPs in the environment: Review of knowledge and classification of pathways according to parent molecule structures. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 1–23. <https://doi.org/10.1080/10643389.2022.2045159>
- Brausch, J. M., & Rand, G. M. (2011). A review of personal care products in the aquatic environment: Environmental concentrations and toxicity. *Chemosphere*, 82(11), 1518–1532. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.018>

- Canales, A., De Celis, R., Salado, H., & Feria, A. (2003). XENOESTRÓGENOS: FUNCIÓN Y EFECTOS. 1(2). www.xenogenesis.udg.mx/vol1/art2www.ciatej.net.mx.México.-www.imss.gob.mx.
- Carballa, M., Omil, F., Alder, A. C., & Lema, J. M. (2006). Comparison between the conventional anaerobic digestion of sewage sludge and its combination with a chemical or thermal pre-treatment concerning the removal of pharmaceuticals and personal care products. *Water Science and Technology*, 53(8), 109–117. <https://doi.org/10.2166/wst.2006.241>
- Carneiro, R. B., Gonzalez-Gil, L., Londoño, Y. A., Zaiat, M., Carballa, M., & Lema, J. M. (2020). Acidogenesis is a key step in the anaerobic biotransformation of organic micropollutants. *Journal of Hazardous Materials*, 389, 121888. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121888>
- Cartagena, C. J. (2011). Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: productos farmaceuticos*. *Revista Lasallista de Investigación*, 8(2).
- Çeçen, F., Kocamemi, B. A., & Aktaş, Ö. (2010). Metabolic and Co-metabolic Degradation of Industrially Important Chlorinated Organics Under Aerobic Conditions. In *Xenobiotics in the Urban Water Cycle* (pp. 161–178). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3509-7_9
- Cousins, I. T., Staples, C. A., Klečka, G. M., & Mackay, D. (2010). A Multimedia Assessment of the Environmental Fate of Bisphenol A. 8(5), 1107–1135. <https://doi.org/10.1080/1080-700291905846>
- Croom, K. F., & Curran, M. P. (2012). Sildenafil. *Drugs* 2008 68:3, 68(3), 383–397. <https://doi.org/10.2165/00003495-200868030-00009>
- Damià Barceló, L., & José López de Alda, M. (2008). Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Panel Científico-Técnico Se Seguimiento de La Política de Aguas, 1–27.
- De Felice, B., Argenziano, C., Guida, M., Trifuoggi, M., Russo, F., Condorelli, V., & Inglese, M. (2009). Molecular characterization of microbial population dynamics during sildenafil citrate degradation. *Molecular Biotechnology*, 41(2), 123–132. <https://doi.org/10.1007/S12033-008-9112-1>
- Deblonde, T., Cossu-Leguille, C., & Hartemann, P. (2011). Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 214(6), 442–448. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.08.002>
- Delgadillo-Mirquez, L., Lardon, L., Steyer, J. P., & Patureau, D. (2011). A new dynamic model for bioavailability and cometabolism of micropollutants during anaerobic digestion. *Water Research*, 45(15), 4511–4521. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.05.047>
- Delgado, N., Bermeo, L., Hoyos, D. A., Peñuela, G. A., Capparelli, A., Marino, D., Navarro, A., & Casas-Zapata, J. C. (2020). Occurrence and removal of pharmaceutical and personal care products using subsurface horizontal flow constructed wetlands. *Water Research*, 187, 116448. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2020.116448>

- Delgado, N., Capparelli, A. L., Marino, D. J. G., Navarro, A. F., Peñuela Mesa, G. A., & Ronco, A. E. (2018). Adsorption of Pharmaceuticals and Personal Care Products on Granular Activated Carbon. *Journal of Surface Engineered Materials and Advanced Technology*, 06(04), 183–200. <https://doi.org/10.4236/JSEMAT.2016.64017>
- Delgado, N., Navarro, A., Marino, D., Peñuela, G. A., & Ronco, A. (2019). Removal of pharmaceuticals and personal care products from domestic wastewater using rotating biological contactors. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/S13762-018-1658-2/TABLES/4>
- Díaz, M. C., Espitia Vargas, S. E., & Molina Pérez, F. (2002). Digestión anaerobia: una aproximación a la tecnología. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/49691>
- Dionisi, D., Bertin, L., Bornoroni, L., Capodicasa, S., Papini, M. P., & Fava, F. (2006). Removal of organic xenobiotics in activated sludges under aerobic conditions and anaerobic digestion of the adsorbed species. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 81(9), 1496–1505. <https://doi.org/10.1002/jctb.1561>
- Dodgen, L. K., Li, J., Wu, X., Lu, Z., & Gan, J. J. (2014). Transformation and removal pathways of four common PPCP/EDCs in soil. *Environmental Pollution*, 193, 29–36. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2014.06.002>
- Doran, P. M. (1998). *Principios de ingeniería de los bioprocesos*. Acirbia.
- Ebele, A. J., Abdallah, M. A. E. ., & Harrad, S. (2017). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*, 3(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.12.004>
- Ellis, J. B. (2006). Pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in urban receiving waters. *Environmental Pollution*, 144(1), 184–189. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.12.018>
- Environmental Protection Agency. (2007). Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS. <http://www.epa.gov/waterscience>
- Environmental Protection Agency. (2010). Bisphenol A Action Plan (CASRN 80-05-7) CA Index Name: Phenol, 4,4'-(1-methylethylidene)bis-.
- Fischer, K., & Majewsky, M. (2014). Cometabolic degradation of organic wastewater micropollutants by activated sludge and sludge-inherent microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(15), 6583–6597. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5826-0>
- Fürhacker, M., Scharf, S., & Weber, H. (2000). Bisphenol A: Emissions from point sources. *Chemosphere*, 41(5), 751–756. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00466-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00466-X)
- García-Gómez, Gortáres-Moroyoqui, P., & P, D. (2011). Contaminantes emergentes: efectos y tratamientos de remoción Emerging contaminants: effects and removal treatments. *Revista Química Viva*, 2, 96–105.
- Geissen, V., Mol, H., Klumpp, E., Umlauf, G., Nadal, M., van der Ploeg, M., van de Zee, S. E. A. T. M., & Ritsema, C. J. (2015). Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. *International Soil and Water Conservation Research*, 3(1), 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.iswcr.2015.03.002>

- Ghangrekar, M. M., Asolekar, S. R., & Joshi, S. G. (2005). Characteristics of sludge developed under different loading conditions during UASB reactor start-up and granulation. *Water Research*, 39(6), 1123–1133. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2004.12.018>
- Ghattas, A. K., Fischer, F., Wick, A., & Ternes, T. A. (2017). Anaerobic biodegradation of (emerging) organic contaminants in the aquatic environment. *Water Research*, 116, 268–295. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.02.001>
- Gogoi, A., Mazumder, P., Tyagi, V. K., Tushara Chaminda, G. G., An, A. K., & Kumar, M. (2018). Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundwater for Sustainable Development*, 6, 169–180. <https://doi.org/10.1016/J.GSD.2017.12.009>
- Gómez Tovar, F. (2008). Métodos secuenciales de pretratamiento químico y enzimático de residuos agrícolas para la producción de metano. <https://repositorio.ipicyt.edu.mx/handle/11627/52>
- Gonzalez-Gil, L., Krah, D., Ghattas, A. K., Carballa, M., Wick, A., Helmholz, L., Lema, J. M., & Ternes, T. A. (2019). Biotransformation of organic micropollutants by anaerobic sludge enzymes. *Water Research*, 152, 202–214. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.12.064>
- Gonzalez-Gil, L., Mauricio-Iglesias, M., Serrano, D., Lema, J. M., & Carballa, M. (2018). Role of methanogenesis on the biotransformation of organic micropollutants during anaerobic digestion. *Science of the Total Environment*, 622–623, 459–466. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.004>
- Herbert, L. P., Becker-Krail, D. B., & Cory, W. C. (2015). Persistent phototransformation products of vardenafil (Levitra®) and sildenafil (Viagra®). *Chemosphere*, 134, 557–562. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2014.12.011>
- Hernandez-Ruiz, S., Abrell, L., Wickramasekara, S., Chefetz, B., & Chorover, J. (2012). Quantifying PPCP interaction with dissolved organic matter in aqueous solution: Combined use of fluorescence quenching and tandem mass spectrometry. *Water Research*, 46(4), 943–954. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2011.11.061>
- Hernando, M. D., Mezcuca, M., Fernández-Alba, A. R., & Barceló, D. (2006). Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*, 69(2 SPEC. ISS.), 334–342. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.037>
- Horiuchi, J. I., Shimizu, T., Tada, K., Kanno, T., & Kobayashi, M. (2002). Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. *Bioresource Technology*, 82(3), 209–213. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00195-X](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00195-X)
- Hoyos Ossa, D. E., Gallego Rios, S. E., Rodríguez Loaiza, D. C., & Peñuela, G. A. (2021). Implementation of an analytical method for the simultaneous determination of greenhouse gases in a reservoir using FID/μECD gas chromatography. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. https://doi.org/10.1080/03067319.2021.1900148/SUPPL_FILE/GEAC_A_1900148_SM6366.DOCX
- Huang, Y. Q., Wong, C. K. C., Zheng, J. S., Bouwman, H., Barra, R., Wahlström, B., Neretin, L., & Wong, M. H. (2012). Bisphenol A (BPA) in China: A review of

- sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environment International*, 42(1), 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.04.010>
- Işik, M., & Sponza, D. T. (2005). Substrate removal kinetics in an upflow anaerobic sludge blanket reactor decolorising simulated textile wastewater. *Process Biochemistry*, 40(3–4), 1189–1198. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2004.04.014>
- Jiang, J. Q., Yin, Q., Zhou, J. L., & Pearce, P. (2005). Occurrence and treatment trials of endocrine disrupting chemicals (EDCs) in wastewaters. *Chemosphere*, 61(4), 544–550. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.02.029>
- Kang, J. H., & Kondo, F. (2002). Bisphenol a degradation by bacteria isolated from river water. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(3), 265–269. <https://doi.org/10.1007/S00244-002-1209-0>
- Kang, Jeong Hun, Aasi, D., & Katayama, Y. (2008). Bisphenol A in the Aquatic Environment and Its Endocrine-Disruptive Effects on Aquatic Organisms. <Http://Dx.Doi.Org.Ezproxy.Unal.Edu.Co/10.1080/10408440701493103>, 37(7), 607–625. <https://doi.org/10.1080/10408440701493103>
- la Farré, M., Pérez, S., Kantiani, L., & Barceló, D. (2008). Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *Trends in Analytical Chemistry*, 27, 991–1007. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.09.010>
- Lee, D. G., Zhao, F., Rezenom, Y. H., Russell, D. H., & Chu, K. H. (2012). Biodegradation of triclosan by a wastewater microorganism. *Water Research*, 46(13), 4226–4234. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.05.025>
- Lee, W. S., Chua, A. S. M., Yeoh, H. K., & Ngoh, G. C. (2014). A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids. *Chemical Engineering Journal*, 235, 83–99. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.09.002>
- Li, W. W., & Yu, H. Q. (2011). Physicochemical characteristics of anaerobic H₂-producing granular sludge. *Bioresource Technology*, 102(18), 8653–8660. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2011.02.110>
- Limam, I., Mezni, M., Guenne, A., Madigou, C., Driss, M. R., Bouchez, T., & Mazéas, L. (2013). Evaluation of biodegradability of phenol and bisphenol A during mesophilic and thermophilic municipal solid waste anaerobic digestion using ¹³C-labeled contaminants. *Chemosphere*, 90(2), 512–520. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2012.08.019>
- Liu, Y., & Tay, J. H. (2004). State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. *Biotechnology Advances*, 22(7), 533–563. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2004.05.001>
- Liu, Y., Xu, H. Lou, Yang, S. F., & Tay, J. H. (2003). Mechanisms and models for anaerobic granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Water Research*, 37(3), 661–673. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00351-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00351-2)
- Londoño, Y. (2018). Estudio de la dinámica de sistemas egsb en la degradación biológica de triclosan, metilparabeno y benzofenona-3. Universidad de Antioquia.
- Londoño, Y. A., & Peñuela, G. A. (2017). Study of anaerobic biodegradation of

- pharmaceuticals and personal care products: application of batch tests. *International Journal of Environmental Science and Technology* 2017 15:9, 15(9), 1887–1896. <https://doi.org/10.1007/S13762-017-1562-1>
- Londoño, Yudy Andrea, & Peñuela, G. A. (2015). Anaerobic biological treatment of methylparaben in an expanded granular sludge bed (EGSB). *Water Science and Technology*, 71(11), 1604–1610. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.118>
- Londoño, Yudy Andrea, Rodríguez, D. C., & Peñuela, G. (2012). The operation of two EGSB reactors under the application of different loads of oxytetracycline and florfenicol. *Water Science and Technology*, 66(12), 2578–2585. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.485>
- López, I., & Borzacconi, L. (2011). Modelling of an EGSB treating sugarcane vinasse using first-order variable kinetics. *Water Science and Technology*, 64(10), 2080–2088. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.697>
- MacLeod, F. A., Guiot, S. R., & Costerton, J. W. (1990). Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1598–1607. <https://doi.org/10.1128/AEM.56.6.1598-1607.1990>
- Magro, C., Mateus, E. P., Paz-Garcia, J. M., & Ribeiro, A. B. (2020). Emerging organic contaminants in wastewater: Understanding electrochemical reactors for triclosan and its by-products degradation. *Chemosphere*, 247, 125758. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125758>
- Mailler, R., Gasperi, J., Coquet, Y., Deshayes, S., Zedek, S., Cren-Olivé, C., Cartiser, N., Eudes, V., Bressy, A., Caupos, E., Moilleron, R., Chebbo, G., & Rocher, V. (2015). Study of a large scale powdered activated carbon pilot: Removals of a wide range of emerging and priority micropollutants from wastewater treatment plant effluents. *Water Research*, 72, 315–330. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.047>
- Merlin Christy, P., Gopinath, L. R., & Divya, D. (2014). A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 34, 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.010>
- Mohapatra, D. P., Brar, S. K., Dayal Tyagi, R., & Surampalli, R. Y. (2011). Occurrence of bisphenol A in wastewater and wastewater sludge of CUQ treatment plant. *Journal of Xenobiotics*, 1. <https://doi.org/10.4081/xeno.2011.e3>
- Molina, F., García, C., Roca, E., & Lema, J. M. (2008). Characterization of anaerobic granular sludge developed in UASB reactors that treat ethanol, carbohydrates and hydrolyzed protein based wastewaters. *Water Science and Technology*, 57(6), 837–842. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.067>
- Molina, Francisco. (2007). Comportamiento dinámico de digestores anaerobios. *Vasa*, 6–250. isbn-10: 84-612-1689-5
- Montani, D., Chaumais, M. C., Savale, L., Natali, D., Price, L. C., Jaïs, X., Humbert, M., Simonneau, G., & Sitbon, O. (2009). Phosphodiesterase type 5 inhibitors in pulmonary arterial hypertension. *Advances in Therapy* 2009 26:9, 26(9), 813–825. <https://doi.org/10.1007/S12325-009-0064-Z>

- Morales, B. M., & Molina Córdoba, M. (2015). Evaluación de factores que pueden influir en el proceso de sacarificación-fermentación simultáneas para la producción de etanol a partir de materiales amiláceos. *Revista Ingeniería*, 25(1). <https://doi.org/10.15517/RI.V25I1.14665>
- Narumiya, M., Nakada, N., Yamashita, N., & Tanaka, H. (2013). Phase distribution and removal of pharmaceuticals and personal care products during anaerobic sludge digestion. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.05.032>
- Owusu-Agyeman, I., Eyice, Ö., Cetecioglu, Z., & Plaza, E. (2019). The study of structure of anaerobic granules and methane producing pathways of pilot-scale UASB reactors treating municipal wastewater under sub-mesophilic conditions. *Bioresource Technology*, 290, 121733. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.121733>
- Papageorgiou, M., Kosma, C., & Lambropoulou, D. (2016). Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in Central Greece. *Science of The Total Environment*, 543, 547–569. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2015.11.047>
- Parawira, W., Murto, M., Read, J. S., & Mattiasson, B. (2004). Volatile fatty acid production during anaerobic mesophilic digestion of solid potato waste. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 79(7), 673–677. <https://doi.org/10.1002/JCTB.1012>
- Patiño, Y., Díaz, E., & Ordóñez, S. (2015). Performance of different carbonaceous materials for emerging pollutants adsorption. *Chemosphere*, 119, S124–S130. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.025>
- Peng, J., Wang, X., Yin, F., & Xu, G. (2019). Characterizing the removal routes of seven pharmaceuticals in the activated sludge process. *Science of the Total Environment*, 650, 2437–2445. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.004>
- Phan, H. V., Wickham, R., Xie, S., McDonald, J. A., Khan, S. J., Ngo, H. H., Guo, W., & Nghiem, L. D. (2018). The fate of trace organic contaminants during anaerobic digestion of primary sludge: A pilot scale study. *Bioresource Technology*, 256, 384–390. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.040>
- Ponsá, S., Ferrer, I., Vázquez, F., & Font, X. (2008). Optimization of the hydrolytic-acidogenic anaerobic digestion stage (55 °C) of sewage sludge: Influence of pH and solid content. *Water Research*, 42(14), 3972–3980. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.07.002>
- Porter, A. W., Wolfson, S. J., Häggblom, M., & Youn, L. Y. (2020). Microbial transformation of widely used pharmaceutical and personal care product compounds. *F1000Research* 2020 9:130, 9, 130. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21827.1>
- PubChem. (2022). *Compuestos químicos*. Verlag der Zeitschrift für Naturforschung. <https://doi.org/10.5560/ZNB.2012-0073>
- Qiu, W., Zhan, H., Hu, J., Zhang, T., Xu, H., Wong, M., Xu, B., & Zheng, C. (2019). The occurrence, potential toxicity, and toxicity mechanism of bisphenol S, a substitute

- of bisphenol A: A critical review of recent progress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 173, 192–202. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2019.01.114>
- Roberts, J., Kumar, A., Du, J., Hepplewhite, C., Ellis, D. J., Christy, A. G., & Beavis, S. G. (2016). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Australia's largest inland sewage treatment plant, and its contribution to a major Australian river during high and low flow. *Science of the Total Environment*, 541, 1625–1637. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.145>
- Rodriguez-Narvaez, O. M., Peralta-Hernandez, J. M., Goonetilleke, A., & Bandala, E. R. (2017). Treatment technologies for emerging contaminants in water: A review. *Chemical Engineering Journal*, 323, 361–380. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.04.106>
- Rodriguez, D. C. (2015). Caracterización Ambiental Y Efecto De Los Antibióticos En Un Sistema De Tratamiento Anaerobio Mediante La Determinación De La Toxicidad Metanogénica Y Resistencia De Genes Asociados.
- Rodríguez, D. C., Londoño, Y., & Peñuela, G. A. (2017). Application of batch tests to assess antibiotic loads in anaerobic processes. *Water Science and Technology*, 75(10), 2412–2421. <https://doi.org/10.2166/wst.2017.127>
- Rodríguez, D. C., & Peñuela, G. A. (2017). Hydrodynamic Performance of an Expanded Granular Sludge Bed Reactor for the Removal of Organic Matter. *Environmental Engineering Science*, 34(2), 80–88. <https://doi.org/10.1089/ees.2016.0070>
- Romero, J. A. (2000). Tratamiento De Aguas Residuales Teoria Y Principios De Diseño.
- Rubio-Clemente, A., Chica, E., & Peñuela, G. (2019). Evaluation of the UV/H₂O₂ system for treating natural water with a mixture of anthracene and benzo[a]pyrene at ultra-trace levels. *Environmental Science and Pollution Research International*, 26(5), 4381–4392. <https://doi.org/10.1007/S11356-018-2411-6>
- Salonia, A., Rigatti, P., & Montorsi, F. (2003). Sildenafil in erectile dysfunction: A critical review. *Current Medical Research and Opinion*, 19(4), 241–262. <https://doi.org/10.1185/030079903125001839>
- Schmidt, J. A. B. (1996). Granular Sludge Formation in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactors | Request PDF. *Biotechnology and Bioengineering*, 49, 229–246. https://www.researchgate.net/publication/227869321_Granular_Sludge_Formation_in_Upflow_Anaerobic_Sludge_Blanket_UASB_Reactors
- Schwarzenbach, R. P., Gschwend, P. M., & Imboden, D. M. (2002). Environmental Organic Chemistry. In *Environmental Organic Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/0471649643>
- Sharma, V. K., Anquandah, G. A. K., Yngard, R. A., Kim, H., Fekete, J., Bouzek, K., Ray, A. K., & Golovko, D. (2009). Nonylphenol, octylphenol, and bisphenol-A in the aquatic environment: A review on occurrence, fate, and treatment. *Environmental Science and Technology*, 44(5), 423–442. [Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10934520902719704](http://Dx.Doi.Org/10.1080/10934520902719704), <https://doi.org/10.1080/10934520902719704>
- Son, D. J., Kim, C. S., Park, J. W., Lee, J. H., Lee, S. H., Shin, S. K., & Jeong, D. H.

- (2022). Fate evaluation of pharmaceuticals in solid and liquid phases at biological process of full-scale municipal wastewater treatment plants. *Journal of Water Process Engineering*, 46, 102538. <https://doi.org/10.1016/J.JWPE.2021.102538>
- Sponza, D. T., & Uluköy, A. (2008). Kinetic of carbonaceous substrate in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor treating 2,4 dichlorophenol (2,4 DCP). *Journal of Environmental Management*, 86(1), 121–131. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2006.11.030>
- Suanon, F., Sun, Q., Li, M., Cai, X., Zhang, Y., Yan, Y., & Yu, C. P. (2017). Application of nanoscale zero valent iron and iron powder during sludge anaerobic digestion: Impact on methane yield and pharmaceutical and personal care products degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 321, 47–53. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2016.08.076>
- Tormo-Budowski, R., Cambroner-Heinrichs, J. C., Durán, J. E., Masís-Mora, M., Ramírez-Morales, D., Quirós-Fournier, J. P., & Rodríguez-Rodríguez, C. E. (2021). Removal of pharmaceuticals and ecotoxicological changes in wastewater using *Trametes versicolor*: A comparison of fungal stirred tank and trickle-bed bioreactors. *Chemical Engineering Journal*, 410, 128210. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2020.128210>
- Toušová, Z., Vrana, B., Smutná, M., Novák, J., Klučárová, V., Grabic, R., Slobodník, J., Giesy, J. P., & Hilscherová, K. (2019). Analytical and bioanalytical assessments of organic micropollutants in the Bosna River using a combination of passive sampling, bioassays and multi-residue analysis. *Science of the Total Environment*, 650, 1599–1612. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.336>
- Verlicchi, P., Galletti, A., Petrovic, M., & Barceló, D. (2010). Hospital effluents as a source of emerging pollutants: An overview of micropollutants and sustainable treatment options. *Journal of Hydrology*, 389(3–4), 416–428. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2010.06.005>
- Verlicchi, P., Zambello, E., & Al Aukidy, M. (2013). Removal of pharmaceuticals by conventional wastewater treatment plants. In *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 62, pp. 231–286). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62657-8.00008-2>
- Virkutyte, J. (2010). Treatment of Micropollutants in Water and Wastewater. In *Water Intelligence Online* (Vol. 9). <https://doi.org/10.2166/9781780401447>
- Virkutyte, J., Varma, R. S., & Jegatheesan, V. (2010). Treatment of Micropollutants in Water and Wastewater. In *Water Intelligence Online* (Vol. 9). IWA Publishing. <https://doi.org/10.2166/9781780401447>
- Wang, J., & Wang, S. (2016). Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from wastewater: A review. *Journal of Environmental Management*, 182, 620–640. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.07.049>
- Wang, L., Zhao, J., & Li, Y. (2014). Removal of bisphenol A and 4-n-nonylphenol coupled to nitrate reduction using acclimated activated sludge under anaerobic conditions. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 89(3), 391–400. <https://doi.org/10.1002/JCTB.4130>
- Wollenberger, L., Halling-Sørensen, B., & Kusk, K. O. (2000). Acute and chronic toxicity

of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 40(7), 723–730. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00443-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00443-9)

- Wooding, M., Rohwer, E. R., & Naudé, Y. (2017). Comparison of a disposable sorptive sampler with thermal desorption in a gas chromatographic inlet, or in a dedicated thermal desorber, to conventional stir bar sorptive extraction-thermal desorption for the determination of micropollutants in water. *Analytica Chimica Acta*, 984, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.06.030>
- Wu, L. H., Zhang, X. M., Wang, F., Gao, C. J., Chen, D., Palumbo, J. R., Guo, Y., & Zeng, E. Y. (2018). Occurrence of bisphenol S in the environment and implications for human exposure: A short review. *Science of The Total Environment*, 615, 87–98. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.09.194>
- Yang, Y., Ok, Y. S., Kim, K. H., Kwon, E. E., & Tsang, Y. F. (2017). Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: A review. *Science of the Total Environment*, 596–597, 303–320. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.102>
- Zhou, M., Yan, B., Wong, J. W. C., & Zhang, Y. (2018). Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. *Bioresource Technology*, 248(Pt A), 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.121>
- Zúñiga-Benítez, H., Aristizábal-Ciro, C., & Peñuela, G. A. (2016a). Heterogeneous photocatalytic degradation of the endocrine-disrupting chemical Benzophenone-3: Parameters optimization and by-products identification. *Journal of Environmental Management*, 167, 246–258. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.11.047>
- Zúñiga-Benítez, H., Aristizábal-Ciro, C., & Peñuela, G. A. (2016b). Photodegradation of the endocrine-disrupting chemicals benzophenone-and methylparaben using Fenton reagent: Optimization of factors and mineralization/biodegradability studies. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 59, 380–388. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.09.004>