



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE CIENCIAS

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

**ELIMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES
MEDIANTE MICROALGAS EN MEDIOS ACUOSOS**

Autora: Raquel Matía Herrezuelo

Tutores: Juan José Jiménez Sevilla

Rebeca López Serna

2024/2025

ÍNDICE

1. RESUMEN

2. INTRODUCCIÓN

2.1. USO DE MICROALGAS EN EL PROCESO DE DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES

2.2. CONTAMINANTES EMERGENTES

2.3. MECANISMOS DE ELIMINACIÓN DE CECs EN AGUAS RESIDUALES MEDIANTE MICROALGAS

2.4. ENSAYOS EN LABORATORIO Y EN CAMPO

2.5. DETERMINACIÓN DE CECs EN MUESTRAS ACUOSAS

3. OBJETIVOS

4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

4.1. INSTRUMENTACIÓN, MATERIAL Y REACTIVOS

4.2. PREPARACIÓN DE FOTOBIORREACTORES Y PATRONES

4.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE MEDIOS ACUOSOS

4.4. OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO

4.5. EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

4.6. PREPARACIÓN DE LÍNEAS DE CALIBRADO

4.7. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

5.2. IDENTIFICACIÓN DE CECs EN LAS AGUAS RESIDUALES.

5.3. CUANTIFICACIÓN DE LOS CECs EN LAS AGUAS RESIDUALES.

5.4. ELIMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES

5.5. CINÉTICAS DE DEGRADACIÓN.

6. CONCLUSIONES

7. BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

8. LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

9. ANEXO

1. Resumen.

La capacidad de los fotobiorreactores con microalgas para la eliminación de contaminantes emergentes en aguas residuales está siendo estudiada hoy en día mediante ensayos de laboratorio. En este trabajo se evalúa la capacidad de los fotobiorreactores para la eliminación de estos contaminantes en tres medios acuosos diferentes: un agua residual urbana, un agua residual ganadera y un medio sintético sencillo de crecimiento de microalgas. Los compuestos emergentes presentes en las aguas residuales se han identificado y se ha estudiado su degradación durante siete días. El medio sintético se dopó con determinados compuestos para hacer un estudio similar. A tal fin, la identificación de los compuestos en las aguas residuales y la determinación de la concentración de los contaminantes en el medio acuoso ha sido realizada después de una extracción en fase sólida y la posterior inyección de los extractos en un sistema HPLC-QTOF-MS/MS. Las cinéticas de degradación han sido establecidas en algunos casos. Los resultados sugieren que las microalgas son capaces de eliminar, o al menos disminuir, la concentración de los contaminantes presentes en las aguas residuales.

Abstract.

The capacity of photobioreactors with microalgae for the removal of emerging contaminants in wastewater is currently being studied through laboratory tests. This work evaluates the ability of photobioreactors to remove these contaminants in three different aqueous media: urban wastewater, livestock wastewater, and a simple synthetic medium for microalgae growth. The emerging compounds present in the wastewater were identified, and their degradation was studied over six days. The synthetic medium was spiked with specific compounds to conduct a similar study.

To this end, the identification of compounds in the wastewater and the determination of contaminant concentrations in the aqueous medium were carried out after solid-phase extraction and subsequent injection of the extracts into an HPLC-QTOF-MS/MS system. In some cases, degradation kinetics were established. The results suggest that microalgae are capable of removing or at least reducing the concentration of contaminants present in wastewater.

2. Introducción

2.1. Uso de microalgas en el proceso de depuración de aguas residuales.

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos que suelen encontrarse en entornos de agua, tanto dulce como salada. Son organismos unicelulares, aunque también pueden formar colonias.

En la actualidad, están siendo estudiadas y se están comenzando a emplear en el sector ambiental, en tratamientos de aguas residuales, debido a su capacidad para eliminar la materia orgánica en suspensión, y nutrientes inorgánicos como nitrógeno y fósforo. En particular, interesa conocer su capacidad de eliminación de microcontaminantes orgánicos.

El uso de estos microorganismos en el proceso de depuración de aguas residuales es una línea de investigación y desarrollo, que ha evolucionado significativamente desde sus inicios en el siglo XX.

El primer interés de la investigación por las microalgas surgió durante la década de 1950, debido a que los investigadores observaron su capacidad y eficacia para consumir dióxido de carbono y nutrientes presentes en el agua mediante la fotosíntesis. En 1953, William J. Oswald y Hardy Spinner investigaron en la Universidad de California el uso de estos microorganismos para la producción de biomasa y la depuración de aguas residuales.

En la década de 1960, se introdujeron los “Estanques de alta tasa de oxidación”, en los que se cultivaban microalgas y bacterias en sistemas de depuración de aguas residuales. Ambos organismos contribuían al tratamiento de las aguas, mediante un sistema simbiótico.

La crisis del petróleo en 1973, incentivó la búsqueda de fuentes de energía alternativas, estudiándose las microalgas como una fuente de producción de biomasa que podía ser utilizada para producir biocombustibles.

En los años 1980 y 1990, surgieron los primeros fotobiorreactores con microalgas para depurar aguas residuales, y se estudiaron métodos para optimizar las condiciones de cultivo de las algas, como la intensidad de la luz solar, el control de los niveles de nutrientes en el agua, el diseño de reactores y estanques...

En los últimos años, están ocurriendo grandes avances en esta tecnología para aumentar su eficiencia y aplicabilidad, debido al creciente interés en el cambio climático y en la necesidad de buscar alternativas sostenibles frente a la crisis ambiental.



Figura 1. Fotobiorreactor tubular en el Parque Botánico Biotecnológico de Ibiza para la producción de microalgas.

El uso de fotobiorreactores con microalgas para depurar aguas residuales es una técnica reciente, natural y sostenible, que puede llegar a ser económicamente factible si se consigue la reutilización de la biomasa crecida en los fotobiorreactores.

El agua residual puede ser de origen municipal, agrícola o industrial, y puede contener, en mayor o menor medida, depende de dónde se tome la muestra y de qué tipo de agua residual se trate, compuestos inorgánicos, como cloruros, carbonatos, nitrógeno o fósforo, y compuestos orgánicos, que provienen de lixiviaciones, excreciones o restos de alimentación. Además, puede contener contaminantes orgánicos, que provienen de fuentes industriales, domésticas, farmacéuticas y agrícolas, como productos farmacéuticos, pesticidas y herbicidas, detergentes, productos de cuidado personal...

Las microalgas son potencialmente capaces de eliminar, en mayor o menor medida, estos contaminantes presentes en el agua, mediante múltiples mecanismos biológicos y bioquímicos de eliminación explicados en las páginas siguientes.

Las microalgas son microorganismos con la capacidad de realizar la fotosíntesis, convirtiendo la luz solar, el agua y el dióxido de carbono, en oxígeno y biomasa. El oxígeno liberado es resultado de la fotólisis del agua, y la materia orgánica formada la sintetizan a partir de la forma oxidada de los bioelementos primordiales contenidos en las aguas residuales (C, N, P, S).

Al emplear microalgas para la depuración de aguas residuales, el oxígeno que liberan es tomado por bacterias aeróbicas presentes en el agua, y es usado en la degradación de contaminantes orgánicos, produciendo dióxido de carbono. Este dióxido de carbono que proviene de la respiración bacteriana, es utilizado nuevamente por las microalgas para realizar la fotosíntesis.

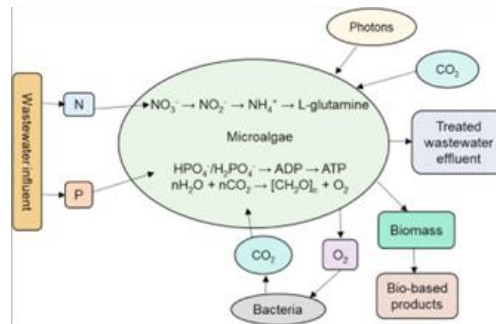


Figura 2. Metabolización de nutrientes de un agua residual por parte de microalgas, interacción con bacterias y producción de biomasa.

Por tanto, se genera una cooperación cíclica, muy beneficiosa para el proceso de depuración del agua, ya que ambos microorganismos (microalgas y bacterias), degradan contaminantes, y cada uno libera lo que el otro necesita para su metabolismo (Abate et al., 2024).

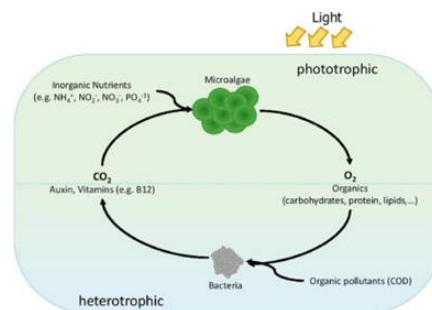


Figura 3. Ciclo simbiótico entre microalgas y bacterias en el tratamiento de aguas residuales.

Algunas de las ventajas del tratamiento de aguas residuales con microalgas son:

- *Reducción de contaminantes:* Las microalgas eliminan de manera eficiente nutrientes como nitrógeno y fósforo, contaminantes orgánicos, e incluso metales pesados presentes en el agua, como el cadmio, el cromo y el plomo (Sarma et al., 2024). Estos metales se adhieren a la pared celular de las microalgas o son absorbidos y acumulados en su interior.

Estos procesos se conocen como bioabsorción y bioacumulación, respectivamente.

Todo esto ayuda a reducir la contaminación de las masas de agua superficial, mejorando la calidad del medio ambiente.

- *Generación de O₂ y consumo de CO₂:* Este método no solo permite la depuración del agua residual eliminando contaminantes, sino que posibilita la captura de CO₂. Las microalgas en la fotosíntesis capturan dióxido de carbono de la atmósfera, lo que contribuye a la reducción de gases de efecto invernadero. Además, generan oxígeno, lo cual mejora la calidad del agua y beneficia a otros organismos acuáticos.

- *Reducción de eutrofización:* El agua residual contiene grandes concentraciones de nutrientes como nitrógeno, en forma de amonio y nitratos, y fósforo, en forma de fosfatos. Si estos nutrientes son liberados sin tratamiento previo, pueden causar la eutrofización en el ecosistema acuático, produciendo una proliferación descontrolada de algas, que forman una capa en la superficie del agua. Esto impide que la luz penetre hasta el fondo del ecosistema. Como consecuencia, la vegetación no puede realizar la fotosíntesis y muere. Otros microorganismos, como las bacterias, se alimentan de esa materia muerta, consumiendo el oxígeno que necesitan otras especies como peces y moluscos para vivir. Esta alteración hace inviable la existencia de la mayoría de las especies que formaban previamente el ecosistema (Ansa et al., 2011).

Al emplear fotobiorreactores con microalgas para la depuración de aguas residuales, se reduce la concentración de estos nutrientes en el agua, ya que las microalgas los toman para crecer (Rasoul-Amini et al., 2014).

- *Reducción de residuos:* A diferencia de los procesos de depuración convencionales que generan lodos residuales, el uso de microalgas genera una menor cantidad de lodos. Esto facilita la gestión de residuos, y los reduce.

- *Producción de biomasa:* El crecimiento de microalgas en los fotobiorreactores genera la correspondiente biomasa algal, que puede ser utilizada en diferentes sectores. Se pueden producir combustibles como el biodiésel o bioetanol, que son alternativas sostenibles a los combustibles fósiles (Esipovich et al., 2024). También se puede emplear para producir fertilizantes, que mejoran la calidad del suelo y proporcionan nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas (Hussain et al., 2021).

Por tanto, la generación de biomasa contribuye a una economía circular, y proporciona oportunidades económicas.

- *Sostenibilidad:* El uso de microalgas para el tratamiento de aguas residuales es un proceso ecológico, que reduce el impacto ambiental causado por otros métodos de depuración convencionales, o por los procedimientos de oxidación avanzada.

- *Bajo costo operacional:* Comparado con otros métodos convencionales, el tratamiento del agua residual con microalgas es un proceso muy poco costoso, ya que no requiere el uso de productos químicos como coagulantes y floculantes, ni de mucha energía, ya que la fotosíntesis aprovecha la luz solar (Abdelfattah et al., 2023).

- *Eliminación de microorganismos patógenos:* Existe una competencia entre microalgas y microorganismos patógenos en el agua residual por la absorción de nutrientes y otros componentes necesarios para ambos. Esta competencia causa la muerte y disminución de muchos microorganismos patógenos del agua residual (Abdelfattah et al., 2023).

Además, la presencia de microalgas en matrices acuosas puede influir en el pH del medio. Durante la fotosíntesis, las algas toman el CO₂ del agua, que, al estar disuelto, se encuentra como ácido carbónico. Por lo tanto, provocan que el medio tenga un pH mayor.

Esta variación de pH e incluso la generación de mucho oxígeno durante la fotosíntesis, provoca la muerte de muchas bacterias ([Ansa et al., 2011](#)) ([Abdelfattah et al., 2023](#)).

Por todas estas razones, el empleo de microalgas en los tratamientos de aguas residuales es actualmente uno de los retos planteados para la mejora de las EDAR (Estaciones Depuradoras de Agua Residual).

El desafío principal que se plantea es reescalar los fotobiorreactores de un tamaño medio al tamaño industrial, ya que los equipos necesarios tienen un precio elevado y flujos mucho mayores ([Acién et al., 2012](#)). Además, en sistemas al aire libre, la variabilidad de la intensidad y duración de la luz solar, en días nublados o invernales, puede afectar a la eficiencia del proceso. Y si se emplea iluminación artificial, el costo energético aumenta.

También, en aguas residuales turbias o con muchos sólidos, las microalgas no reciben suficiente luz o nutrientes, lo cual influye en la fotosíntesis de las algas y en la eficiencia del sistema ([Amenorfenyo et al., 2019](#)).

En la actualidad, hay diversas empresas por todo el mundo que han implementado fotobiorreactores con microalgas para tratar aguas residuales.

Un ejemplo es AlgaEnergy, con sede en España. Ha desarrollado y opera fotobiorreactores con microalgas para varias aplicaciones: producción de biomasa para suplementos alimenticios, bioestimulantes agrícolas y purificación de aguas residuales, contribuyendo a la eliminación de contaminantes como metales pesados y nutrientes...

Otras empresas que emplean microalgas con estos fines son Global Algae Innovations, con sede en Estados Unidos; Algatech, con sede en Israel; MicroBio Engineering en EEUU; Aqualia en España...

2.2. Contaminantes emergentes.

Los contaminantes emergentes (CECs, en inglés, Concerned Emergent Contaminants) son sustancias químicas que no están incluidas en los protocolos de los procesos de monitorización de las agencias regulatorias, y que están siendo reconocidas actualmente como contaminantes debido a su impacto negativo en el medio ambiente y en la salud humana.

La Directiva 2013/39/UE los define como *“contaminantes que en la actualidad no están incluidos en los programas de seguimiento sistemático en la Unión, pero que suponen un importante riesgo, lo cual exige su regulación, dependiendo de sus posibles efectos ecotoxicológicos y toxicológicos, y de sus niveles en el medio acuático”*.

Los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCPs, en inglés, Pharmaceuticals and Personal Care Products) son un grupo de microcontaminantes emergentes perjudiciales para los seres vivos cuando se produce una exposición crónica. En este grupo se incluyen medicamentos, como antibióticos, analgésicos, antidepresivos o anticonceptivos, y productos de cuidado personal, como ingredientes activos en champús, cremas, cosméticos y protectores solares. Se pueden encontrar en la naturaleza en concentraciones traza del orden de ng/L hasta µg/L.

Otros ejemplos de contaminantes emergentes son las hormonas y disruptores endocrinos, productos de limpieza y detergentes...

La presencia de CECs en el medio ambiente se debe a diversos factores, como su uso frecuente y cada vez más en auge, su vertido incorrecto, la ineficiencia de las actuales estaciones depuradoras de aguas residuales que, aunque permitan tratar las aguas residuales y convertirlas en potables, son incapaces de eliminarlos, sus estructuras estables que les proporcionan resistencia a la degradación...

En la actualidad, los medicamentos más comunes como los antibióticos o analgésicos son muy accesibles por la sociedad, por lo que tienen un consumo elevado. Al no ser

completamente eliminados en el cuerpo humano, se excretan. Si las plantas de tratamiento de aguas residuales no son capaces de eliminarlos, estos compuestos o sus metabolitos (moléculas en que se transforman en el cuerpo cuando son metabolizados), son detectados al analizar matrices medioambientales.

Son contaminantes peligrosos porque los fármacos que pasan a las aguas residuales no se consiguen eliminar totalmente en las depuradoras y, por tanto, se vierten en las aguas superficiales, siendo nuevamente captadas para el consumo humano. La ingesta de fármacos de forma frecuente puede provocar adicciones a medicamentos y, sobre todo, puede generar resistencia bacteriana a ellos. Además, hay algunos fármacos que pueden reaccionar entre sí y formar sustancias de las que se desconoce su toxicidad o efectos en el organismo, tanto humano como animal.

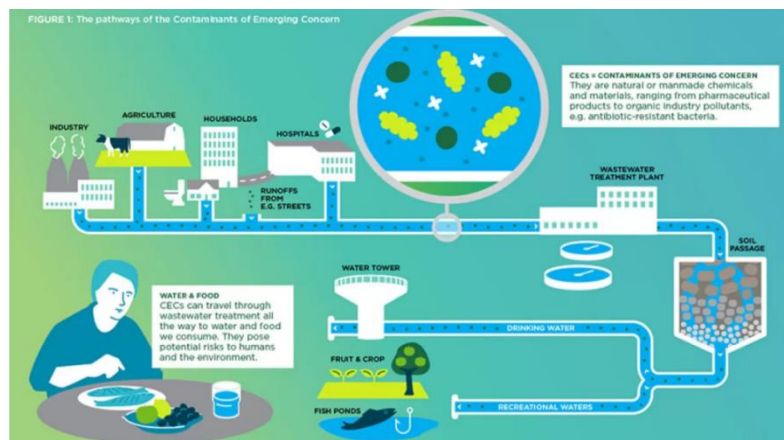


Figura 4. Ciclo de los contaminantes emergentes en el agua residual hasta el consumo humano.

En los purines, mezcla líquida compuesta principalmente por heces y orina de animales de granja, restos de alimentos no consumidos, agua de limpieza y otros residuos orgánicos generados en las explotaciones ganaderas, también se pueden detectar fármacos y otros CECs. Principalmente, se detectan drogas veterinarias, fármacos administrados a animales de granja para tratar o prevenir enfermedades. Estos compuestos se consumen en mayores cantidades en las granjas porcinas en comparación con las de otros animales.

Los antibióticos no se absorben bien en el tracto digestivo de los animales y su tasa de metabolización es relativamente baja, excretándose la mayor parte de ellos. Por tanto, la acumulación de purines en balsas del terreno y su uso como fertilizante, contribuye también a la disipación de CECs en el medioambiente.

En la actualidad, se han publicado muchos estudios acerca de cómo las microalgas son capaces de eliminar CECs en agua si son incluidas en plantas de tratamiento de agua residual.

Se ha observado que existe un gran número de contaminantes que pueden ser eliminados por estos microorganismos. Además, un mismo tipo de microalga puede ser capaz de eliminar más de un contaminante.

2.3. Mecanismos de eliminación de CECs en aguas residuales mediante microalgas.

Las microalgas son capaces de eliminar numerosos contaminantes provenientes de la agricultura, industria o ganadería. A continuación, se explican algunos de los mecanismos de eliminación de productos farmacéuticos y de cuidado personal en aguas residuales mediante microalgas ([Hena et al., 2021](#)).

Los CECs se pueden eliminar mediante múltiples mecanismos, que pueden darse combinados, siendo la bioadsorción uno de los más comunes.

La **bioadsorción** es un proceso biológico por el que organismos vivos, en este caso las microalgas, son capaces de captar y retener sustancias en sus superficies celulares.

Las microalgas constan de una pared celular que contiene celulosa, hemicelulosa, alginato, quitina, glicano, lignina y pectina.

Alrededor de las células de las microalgas, se encuentran las sustancias poliméricas extracelulares (EPS). Éstas se componen principalmente de polisacáridos, pero también pueden incluir lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y otras biomoléculas.

Las EPS forman una capa viscosa alrededor de las células. Su función es protegerlas de entornos hostiles, facilitar su adhesión a superficies u otras células, y la retención de ciertos contaminantes.

Tanto la pared celular como las EPS de las microalgas contienen cargas negativas debidas a la presencia de grupos funcionales como carboxilos, hidroxilos y fosfatos. Esto favorece las interacciones electrostáticas con moléculas de CECs cargadas positivamente, y como consecuencia, la adsorción de los microcontaminantes sobre la superficie celular de las microalgas.

Los mecanismos de eliminación de CECs pueden darse combinados. La contribución de la bioadsorción depende principalmente del tipo de microalga y microcontaminante, aunque también de más factores.

Se debe tener en cuenta la hidrofobicidad de los compuestos. Este parámetro se puede medir con el coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}). Cuanto mayor es este valor, la adsorción de compuestos sobre la superficie de las microalgas es mayor. También hay que tener en cuenta los coeficientes de distribución sólido-agua de los compuestos, ya que si este valor es bajo, los compuestos no se adsorben.

Se ha demostrado que el ciclo de oscuridad y luz también regula estos mecanismos. Durante la fase oscura, la adsorción suele ser el único fenómeno, o al menos el predominante. Mientras que en condiciones de luz, tanto la fotodegradación como la adsorción desempeñan un papel importante.

Se ha observado que muchos CECs se degradan a causa de la irradiación de la luz solar, lo que se conoce como **fotodegradación** o fotólisis.

Las microalgas requieren luz como fuente de energía para realizar la fotosíntesis, y así generar oxígeno. Esto favorece la formación de especies reactivas de oxígeno, como radicales hidroxilo, peroxilos u oxígenos singletes. Estas especies reactivas atacan las

moléculas de los CECs, rompiendo sus enlaces químicos y facilitando su degradación. Esto es lo que se denomina fotodegradación indirecta.

También existe la fotodegradación directa de los CECs presentes en el medio acuoso, mediante la cual las moléculas contaminantes con enlaces π conjugados, como anillos aromáticos y otros grupos funcionales, absorben directamente la radiación de la luz solar en el rango del UV. De esta forma, se pueden descomponer sin la participación de las microalgas.

Otro mecanismo por el cual las microalgas eliminan los CECs de aguas residuales es la **bioacumulación**, por el que estos microorganismos absorben y acumulan contaminantes dentro de las células.

El primer paso de la bioacumulación es la bioadsorción del contaminante desde el agua hacia la superficie de las microalgas. Después, ocurre una absorción, en la que los CECs atraviesan la membrana celular y entran directamente a la célula, mediante difusión o transporte dependiente de energía. Una vez dentro de las microalgas, los contaminantes se acumulan en las vacuolas o en el citoplasma.

Algunas microalgas pueden metabolizar ciertos CECs, utilizándolos como fuente de energía. Otros contaminantes pueden no degradarse y ser almacenados dentro de las células sin transformarse.

Una vez dentro de las células, la **biodegradación** es un proceso por el cual las microalgas descomponen los CECs en sustancias más simples. Son mecanismos enzimáticos, en los que participan enzimas que pueden romper las moléculas de los contaminantes. Así, se transforman en productos menos tóxicos o más fáciles de eliminar.

Este proceso puede implicar reacciones enzimáticas de hidrogenación, deshidrogenación, hidroxilación, deshidroxilación, carboxilación, descarbilación, oxidación, reducción, hidrólisis, desmetilación...

Por ejemplo, las enzimas lignolíticas, enzimas especializadas en la degradación de la lignina, utilizan el mecanismo de radicales libres para catalizar la degradación de una amplia variedad de microcontaminantes. Estas enzimas se emplearon por primera vez en la década de 1980 para degradar diferentes compuestos orgánicos, como pesticidas, tintes, hidrocarburos poliaromáticos... En la década de 1990, se emplearon para degradar compuestos farmacéuticos.

Las diferencias en las propiedades físicas y químicas de los CECs son la causa principal de que predomine un mecanismo u otro para eliminar estos contaminantes del agua.

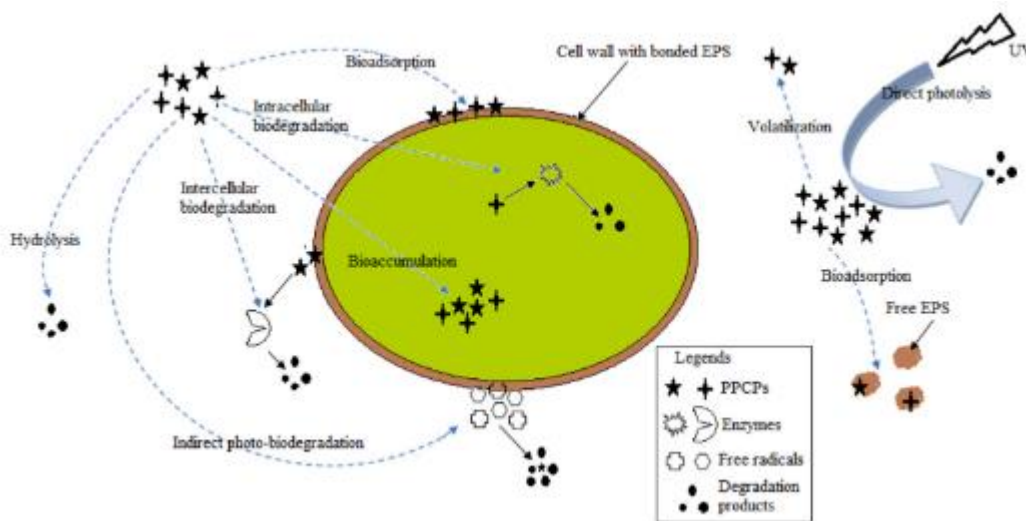


Figura 5. Mecanismos implicados en la eliminación de CECs por microalgas.

En la tabla 1 se muestra una gran variedad de microalgas utilizadas en la eliminación de diferentes contaminantes, todos CECs, además del medio de crecimiento y los porcentajes de eliminación obtenidos de diferentes estudios recogidos en una revisión (Hena et al., 2021).

Tabla 1: Tipos de microalgas, condiciones ensayadas para la eliminación eficaz de CECs y porcentaje de eliminación.

PPCPs	Microalgae	Specific conditions	Removal (%)	References
Enrofloxacin	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Cultures were developed in sterilized Bold's Basal Medium for 11 days under 40–50 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ light intensity, at 27 °C temperature, shaking with 150 rpm and light/dark cycle of 16:8 h. The initial concentration of enrofloxacin was 1 mg/L. The consortium was prepared with an equal amount of all microalgae with final OD_{680} of ~1.0	23	Xiong et al. (2017b)
	<i>Chlamydomonas mexicana</i>		25	
	<i>Chlorella vulgaris</i>		26	
	<i>Ourococcus multisporus</i>		18	
	<i>Microctinium resseri</i>		20	
	Consortium		26	
Naproxen	<i>Cymbella</i> sp.	The freshwater algae <i>Cymbella</i> sp. and <i>Scenedesmus quadricauda</i> were cultured in sterile D1 and BG11 medium and spiked with 1 mg/L naproxen. The inoculum size was maintained with 1×10^5 cells/mL. The culture was maintained for 30-day incubation.	97.1	Ding et al. (2017)
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>		58.8	
Salicylic acid	<i>Chlorella vulgaris</i>	Microalgal strains were cultured in Mann and Meyers medium with an initial inoculum size of about 3×10^6 cells/mL, for 24 h under 175 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ light intensity, at 25 °C temperature, with 7% CO_2 and 250 rpm with 12:12 photoperiods. The initial concentration of each targeted compound was 25 mg/L.	> 25	Escapa et al. (2017)
	<i>Tetradesmus obliquus</i>		> 93	
Paracetamol	<i>Chlorella vulgaris</i>	Microalgal strains were cultured in Mann and Meyers medium with an initial inoculum size of about 3×10^6 cells/mL, for 24 h under 175 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ light intensity, at 25 °C temperature, with 7% CO_2 and 250 rpm with 12:12 photoperiods. The initial concentration of each targeted compound was 25 mg/L.	> 21	Guo et al. (2016)
	<i>Tetradesmus obliquus</i>		> 40	
7-amino cephalosporanic acid	<i>Chlorella</i> sp.	<i>Chlorella</i> sp., <i>Chlamydomonas</i> sp., and <i>Mychonastes</i> sp., were developed in a synthetic medium; BM, BBM and BG-11 respectively for 24 h under 200 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ light intensity, at 26 °C temperature, with 2.5% CO_2 aeration. The initial OD_{680} of inoculum was 0.1, and the initial concentration of 7-amino cephalosporanic acid was 100 mg/L.	76.2	Guo et al. (2016)
	<i>Chlamydomonas</i> sp.		69.3	
	<i>Mychonastes</i> sp.		64.9	
Carbamazepine	<i>Chlamydomonas mexicana</i>	The microalgae were cultured in Bold Basal Media in two different flasks at 27 °C and 150 rpm, under 45–50 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ for 10 days. The initial OD_{680} of inoculum was 1, and the initial concentration of carbamazepine was 1 mg/L.	37	Xiong et al. (2016)
	<i>Scenedesmus obliquus</i>		30	
Diclofenac	<i>Chlorella sorokiniana</i>	The cultures were cultivated in synthetic media at 25 °C, under 175 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$, shaking with 250 rpm and light/dark cycle of 12:12h. The inoculum was maintained as 3×10^6 cells/mL, and the initial concentration of diclofenac was 25 mg/L.	70.01	Escapa et al. (2016)
	<i>Chlorella vulgaris</i>		78.42	
	<i>Scenedesmus obliquus</i>		20.9	
Nonylphenol	<i>Chlorella vulgaris</i>	The cultures were cultivated in Bristol medium at 25 °C, under 40 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$, shaking with 160 rpm and light/dark cycle of 16:8 h for 7 days. The inoculum size corresponded to 1 mg/L chlorophyll a and the initial concentration of nonylphenol was 1 mg/L.	99	Gao et al. (2011)
	<i>Chlorella</i> sp. (1uoai)		92	
	<i>Chlorella</i> sp. (2f5aia)		94	
	<i>Chlorella minutata</i>		93	
Progesterone	<i>Scenedesmus obliquus</i>	The microalgae were cultivated in BG-11 medium at 25 °C, under 3000 lux, shaking with 150 rpm and light/dark cycle of 12:12 h for 5 days. The inoculum was maintained as 10^6 cells/mL, and the initial concentration of target compounds was 1.6 μM .	> 95	Peng et al. (2014)
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>		> 95	
Norgestrel	<i>Scenedesmus obliquus</i>	The microalgae were cultivated in BG-11 medium at 25 °C, under 3000 lux, shaking with 150 rpm and light/dark cycle of 12:12 h for 5 days. The inoculum was maintained as 10^6 cells/mL, and the initial concentration of target compounds was 1.6 μM .	~100	Peng et al. (2014)
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>		~60	
Acetaminophen (340 $\mu\text{g/L}$)	<i>Chlorella sorokiniana</i>	<i>Chlorella sorokiniana</i> was inoculated with 1.66×10^6 cells/mL for the treatment of anaerobically treated wastewater at 35 °C for 10 days under 68 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ with continuous illumination.	99	De Wilt et al. (2016)
Carbamazepine (117 $\mu\text{g/L}$)			33	
Diclofenac (150 $\mu\text{g/L}$)			45	
Ibuprofen (320 $\mu\text{g/L}$)			100	
Metoprolol (180 $\mu\text{g/L}$)			38	
Trimethoprim (200 $\mu\text{g/L}$)			55	
Carbamazepine (0.130 $\mu\text{g/L}$)	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Filtered raw wastewater cultured with microalgae separately with inoculum size corresponding to 0.05 mg/L chlorophyll a, with 150 rpm, at 25 °C under 60 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ light intensity for 12:12h light/dark cycle till 7 days.	12.3	Zhou et al. (2014)
	<i>Scenedesmus obliquus</i>		5.38	
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>		3.84	
	<i>Chlorella vulgaris</i>		10	
Ciprofloxacin (0.029 $\mu\text{g/L}$)	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Filtered raw wastewater cultured with microalgae separately with inoculum size corresponding to 0.05 mg/L chlorophyll a, with 150 rpm, at 25 °C under 60 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ light intensity for 12:12h light/dark cycle till 7 days.	79.3	Zhou et al. (2014)
	<i>Scenedesmus obliquus</i>		79.3	
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>		75.86	
	<i>Chlorella vulgaris</i>		79.3	
Sulfadimethoxine (0.006 $\mu\text{g/L}$)	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Filtered raw wastewater cultured with microalgae separately with inoculum size corresponding to 0.05 mg/L chlorophyll a, with 150 rpm, at 25 °C under 60 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ light intensity for 12:12h light/dark cycle till 7 days.	50	Zhou et al. (2014)
	<i>Scenedesmus obliquus</i>		75	
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>		60	
Sulfametydiazine (0.027 $\mu\text{g/L}$)	<i>Chlorella vulgaris</i>	Filtered raw wastewater cultured with microalgae separately with inoculum size corresponding to 0.05 mg/L chlorophyll a, with 150 rpm, at 25 °C under 60 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ light intensity for 12:12h light/dark cycle till 7 days.	68.33	Zhou et al. (2014)
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>		81.48	
	<i>Scenedesmus obliquus</i>		87.03	
Sulfamethazine (0.056 $\mu\text{g/L}$)	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Filtered raw wastewater cultured with microalgae separately with inoculum size corresponding to 0.05 mg/L chlorophyll a, with 150 rpm, at 25 °C under 60 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ light intensity for 12:12h light/dark cycle till 7 days.	81.11	Zhou et al. (2014)
	<i>Chlorella vulgaris</i>		81.85	
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>		48.21	
	<i>Scenedesmus obliquus</i>		17.85	
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Filtered raw wastewater cultured with microalgae separately with inoculum size corresponding to 0.05 mg/L chlorophyll a, with 150 rpm, at 25 °C under 60 $\mu\text{mol photon/m}^2 \text{ s}$ light intensity for 12:12h light/dark cycle till 7 days.	23.21	Zhou et al. (2014)
	<i>Chlorella vulgaris</i>		33.92	

2.4. Ensayos en laboratorio y en campo:

En las últimas décadas y en la actualidad, se han realizado gran cantidad de ensayos para investigar la capacidad de las microalgas para eliminar nutrientes, metales pesados y otros contaminantes de aguas residuales.

Los estudios de eliminación de contaminantes emergentes son generalmente realizados a escala piloto, tanto en sistemas cerrados como en condiciones de campo. Aunque los costes de operación elevados favorecen la realización de ensayos a nivel de laboratorio.

La tabla 2 muestra algunos de los contaminantes emergentes analizados en este trabajo de investigación y su porcentaje de eliminación mediante un fotobiorreactor con microalgas en cascada de capa fina, en ensayos realizados en laboratorio y en campo.

Los ensayos han sido realizados en varios tipos de agua: agua residual urbana, agua residual industrial, agua residual ganadera, agua de mar... Y con varios tipos de microalgas.

Tabla 2: Porcentajes de eliminación de CECs en ensayos en laboratorio o en campo, en diferentes tipos de matrices acuosas, con diferentes clases de algas.

Compuesto	Concentración inicial ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Eliminación (%)	Matriz acuosa	Tipo de microalga	Ensayo	Referencia
Caffeine	5	99	Urban wastewater	<i>Chlorella sp.</i> <i>Scenedesmus sp.</i>	Lab.	Matamoros et al., 2016
Carbamazepine	10	100	Lake	<i>Nannochloris sp.</i>	Lab.	Bai and Acharya, 2017
	1	34-62	Urban wastewater	<i>Chlorella sp.</i> , diatoms, <i>Stigeoclonium sp.</i>	Field	Matamoros et al., 2015
	117	33	Diluted urine	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Lab.	de Wilt et al., 2016

Ciprofloxacin	2.7	48	Toilet wastewater	Microalgae	Field	Hom-Diaz et al., 2017a
	0.04-0.12	11	Urban and industrial wastewater	Microalgae	Field	Gentili and Fick, 2017
	2 mg/L	97	Domestic Wastewater	Microalgae	Field	Hom-Diaz et al., 2017b
	0.029	76-79	Urban wastewater	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Chlorella pyrenoidosa</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	Lab.	Zhou et al., 2014
Clarithromycin	20	62-100	Urban wastewater	<i>Chlorella vulgaris</i> Mixed culture with <i>Chlorella vulgaris</i>	Field	Prosenc et al., 2021
Chloramphenicol	5-60 mg/L	89-91	Sea water	<i>Pterocladia capillacea</i> <i>Ulva lactuca</i>	Lab.	Din et al., 2017
Codeine	1	33-72	Culture medium	<i>Scenedesmus sp.</i> <i>Coelastrum sp.</i> <i>Chlorella sorokiniana</i> <i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Chlorella saccharophila</i> <i>Coelastrum astroideum</i>	Lab.	Gojkovic et al., 2019
Diclofenac	25-100 mg/L	73-25	Culture medium	<i>Picocystis sp.</i> <i>Graesiella sp.</i>	Lab.	Ben Ouada et al., 2019
	150	45	Diluted urine	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Lab.	de Wilt et al., 2016
Enrofloxacin	45-149	0-82	Livestock wastewater	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Lab.	R. López-Serna et al., 2019

	0.66	85	Toilet wastewater	Microalgae	Field	Hom-Diaz et al., 2017a
	20	85	Livestock wastewater	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Lab.	Khan et al., 2020
	1	64-86	Urban wastewater	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Chlorella pyrenoidosa</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	Lab.	Zhou et al., 2014
Metronidazole	5 µM	100	Culture medium	<i>Chlorella vulgaris</i>	Lab.	Hena et al., 2020
Oxytetracycline	20	77	Livestock wastewater	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Lab.	Khan et al., 2020
	200	93	Urban wastewater	<i>Spyrogira sp.</i>	Lab.	García-Rodríguez et al., 2013
	20-22.4	78-93	Livestock wastewater	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Lab.	R. López-Serna et al., 2019
Sulfadimidine	4.1-4.5	27-44	Livestock wastewater	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Lab.	R. López-Serna et al., 2019
	200	15	Urban wastewater	<i>Spyrogira sp.</i>	Lab.	García-Rodríguez et al., 2013
	0.056	23-48	Urban wastewater	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Chlorella pyrenoidosa</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	Lab.	Zhou et al., 2014

Sulfamethoxazole	0.05-0.2	16-29	Culture medium	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Lab.	Xiong et al., 2019
	200	14	Urban wastewater	<i>Spyrogira sp.</i>	Lab.	García-Rodríguez et al., 2013
	0.16-0.38	6	Urban and industrial wastewater	Microalgae	Field	Gentili and Fick, 2017
Tiamulin	5-14	88	Culture medium	<i>Chlamydomonas acidophila</i>	Lab.	Escudero et al., 2020
	20	88	Livestock wastewater	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Lab.	Khan et al., 2020
	0.04-0.06	68-89	Livestock wastewater	<i>Chorella Vulgaris</i>	Lab.	R. López-Serna et al., 2019
Trimethoprim	202	60	Diluted urine	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Lab.	de Wilt et al., 2016
	0.17-0.55	14	Urban and industrial wastewater	Microalgae	Field	Gentili and Fick, 2017
	200	55	Diluted urine	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Lab.	de Wilt et al., 2016
	0.027	0-37	Urban wastewater	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Lab.	Zhou et al., 2014
Tylosin	20	79	Livestock wastewater	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Lab.	Khan et al., 2020
	1.5-5.5	79	Culture medium	<i>Chlamydomonas acidophila</i>	Lab.	Escudero et al., 2020

2.5. Determinación de CECs en muestras acuosas:

Las metodologías para detectar y cuantificar contaminantes emergentes en muestras acuosas incluyen técnicas avanzadas de análisis, y procedimientos previos de preparación de muestra y extracción, debido a las bajas concentraciones en las que se encuentran.

La primera etapa en el análisis de contaminantes emergentes en muestras acuosas consiste en el muestreo y preparación de las muestras. Tras ser recogidas, las muestras son sometidas habitualmente a un pretratamiento, lo que incluye una filtración o decantación para eliminar sólidos en suspensión, y la extracción de los compuestos de interés.

Como los CECs en muestras acuosas están presentes en concentraciones muy bajas, generalmente se realiza una etapa de preconcentración mediante técnicas de extracción.

Una de ellas es la **extracción en fase sólida** (SPE), mediante la cual la muestra de agua es conducida a través de un material adsorbente que retiene los contaminantes.

Posteriormente, son eluidos empleando un disolvente adecuado ([de la Serna Calleja et al., 2023](#)).

Se pueden emplear cartuchos Oasis HLB (hydrophilic-lipophilic balance), ya que sirven para analitos con diferentes polaridades y constantes de acidez como es el caso de los CECs ([López-Serna et al., 2022](#)).

También pueden utilizarse los OASIS MCX (mixed-mode resilient), que son intercambiadores iónicos ([Shraim et al., 2017](#)).

Otra técnica de extracción, más reciente, es la **microextracción en fase sólida** (SPME), en la que se usa una fibra recubierta de polidimetilsiloxano, un polímero adsorbente, que se introduce en la muestra, extrayendo los contaminantes ([Feng et al., 2024](#)).

Una vez extraídos, la metodología para detectar y cuantificar los CECs en agua debe ser muy sensible, ya que éstos se encuentran a nivel de trazas. Además, debe ser capaz de analizar un gran número de compuestos diferentes.

En las últimas décadas, se han desarrollado nuevas técnicas analíticas, como la cromatografía líquida y la cromatografía de gases acopladas a la espectrometría de masas, que se utilizan para determinar los CECs en los extractos obtenidos tras la preparación de la muestra. Estas técnicas, que tienen muy buenos límites de detección y selectividad, son capaces de detectar compuestos presentes en concentraciones muy bajas, como los CECs, en matrices complejas como son las aguas residuales ([Khan et al., 2023](#)).

La **cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas** (LC-MS) es la técnica más común para el análisis de CECs en este tipo de muestras, ya que muchos de estos compuestos no son volátiles, y no requiere realizar procesos de derivatización como la cromatografía de gases.

La **cromatografía de líquidos de ultra alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas** (UHPLC-MS) es un avance de la técnica anterior, en la que se alcanza una mejor separación y detección de los compuestos de interés, ya que se emplean partículas de diámetro inferior como medio de separación.

También se pueden analizar CECs volátiles o que pueden ser derivatizados mediante **cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas** (GC-MS). Esta técnica se emplea, por ejemplo, para determinar pesticidas o hidrocarburos.

La **electroforesis capilar** (CE) también ha demostrado ser una técnica efectiva de extracción de compuestos farmacológicos en matrices acuosas ([Amelin et al., 2012](#)).

La detección de los CECs se realiza mediante un **espectrómetro de masas**, debido a la gran selectividad y sensibilidad necesaria para detectar estos compuestos tan variados presentes en las matrices en concentraciones tan pequeñas.

Se puede realizar un análisis simple (MS) o en tándem (MS/MS). Al acoplar dos analizadores en un espectrómetro de masas, se aumenta su potencial, selectividad y sensibilidad.

La tabla 3 muestra la concentración detectada de algunos CECs en diferentes muestras provenientes de una EDAR, mediante varios métodos de extracción y análisis distintos (Ohoru et al., 2019).

Tabla 3: Concentración de CECs en diferentes matrices con distintos métodos de extracción y análisis.

Analyte	Sample Matrix	Extraction Mode	Analysis	Concentration
Caffeine	Influent	b	m	25,578 ng/L
	Effluent	b	m	115.1
	River	b	m	34–238
Carbamazepine	Influent	c	P	2.1 µg/L
	Effluent	c	P	0.39 µg/L
	Activated sludge	c	P	0.76 µg/L
Sulfamethaxazole	Surface water	c	p	28.3 ng/L mean conc
	Influent	b	m	356 ng/L
	Effluent	b	m	22 ng/L
	Intermediate	b	m	57 ng/L
Triclosan	River1	b	m	25–58 ng/L
	Influent	c	p	1.8 µg/L
	Effluent	c	p	0.05 µg/L
Naproxen	Activated sludge	c	p	0.09 µg/L
	Biosolid	e	o	470 ng/dw
	Influent	c	p	14 µg/L
	Effluent	c	p	0.08 µg/L
	Activated sludge	c	p	1.8 µg/L
Ibuprofen	Influent	b	m	863 ng/L
	Effluent	b	m	170 ng/L
	Intermediate	b	m	224 ng/L
	River1	b	m	18 ng/L
	River2	b	m	96 ng/L
	River3	b	m	60 ng/L
	Influent	c	p	21 µg/L
Diclofenac	Effluent	c	p	0.06 µg/L
	Activated sludge	c	P	2.2 µg/L
	Wastewater	e	s	4.8 mg/L instrumental
	Sediment	j	q	<LOD-309 ± 15.3
Ketoprofen	Influent	c	p	3.2 µg/L
	Effluent	c	p	<LOD
	Activated sludge	c	p	0.15 µg/L
	Influent	b	m	1993 ng/L
	Effluent	b	m	632 ng/L
	Intermediate	b	m	1665 ng/L
DEET	River1	b	m	186–839 ng/L
	Influent	c	p	1.5 µg/L
	Effluent	c	p	<LOD
Acetaminophen	Activated sludge	c	P	0.02 µg/L
	Influent	b	m	124 ng/L
	Intermediate	b	m	121 ng/L
	Effluent	b	m	79 ng/L
Ampicillin	River1	b	m	22–94 ng/L
	Intermediate	b	m	233 ng/L
	Effluent	b	m	115 ng/L
Aspirin	River1	b	m	93–278 ng/L
	Sediment	j	q	50.8 ± 2.66–369 ± 9.0
Nalixidic acid	Sediment	j	q	212 ± 1.6–427 ± 4.47
	Sediment	j	q	117 ± 23.1–455 ± 12.2
Clofibrinic acid	Influent	c	p	<LOD
	Effluent	c	p	<LOD
	Activated sludge	c	p	<LOD
Estradiol	Influent	b	m	1165 ng/L
	Intermediate	b	m	862 ng/L
	Effluent	b	m	19.8 ng/L
	River1	b	m	211–228 ng/L
Paracetamol	Influent	c	p	77 µg/L
	Effluent	c	p	0.18 µg/L
	Activated sludge	c	p	0.33 µg/L

a—QuEChERS; b—SPE Oasis HLB; c—SPE; d—online SPE reversed phase; e—PLE; f—MAE-HF-I/SME; g—PHWE; h—SPE-CE; i—USAEME; j—ultrasonication; l—UPLC MS-MS; m—LC-MSMS; n—LC-DAD-MS; o—LC-UV-ESI-MS; p—GC-MS; q—LC-ESI-MS-MS; r—L

3. Objetivos

El presente Trabajo de Fin de Grado tiene como objetivo conocer el grado de eliminación de los contaminantes emergentes detectados en un agua residual ganadera y otra urbana mediante el empleo de fotobiorreactores con microalgas en ensayos de laboratorio de seis días de duración. Al mismo tiempo, se estudia la eliminación de 10 contaminantes emergentes en un medio sintético y sencillo de crecimiento de microalgas, denominado medio Bristol, para conocer si este medio de crecimiento es útil para futuros estudios de eliminación de contaminantes mediante microalgas.

Paralelamente, este trabajo de investigación tiene varios objetivos complementarios:

- Conocer el impacto ambiental y los riesgos asociados a la presencia de contaminantes emergentes en el agua.
- Conocer distintos métodos analíticos para determinar y cuantificar contaminantes emergentes en aguas residuales.
- Promover la investigación e implementación de estrategias para reducir las concentraciones de contaminantes emergentes en matrices medioambientales.

La experimentación se ha llevado a cabo en las instalaciones del Instituto de Procesos Sostenibles (ISP) y se enmarca dentro de una línea de investigación dedicada al análisis químico y tratamientos de eliminación de contaminantes emergentes en aguas residuales, en la que el grupo de investigación tiene una amplia experiencia y publicaciones.

4. Procedimiento experimental

4.1. Instrumentación, material y reactivos:

A lo largo del proceso experimental, se usaron varios instrumentos, reactivos y materiales.

- Instrumentación:

1. Equipo de HPLC acoplado a un espectrómetro de masas de alta resolución con ionización de electrospray, y analizador Q-TOF. Trabaja con ambos modos de ionización positiva y negativa.
2. Centrífuga modelo Sigma 2-16P, para tubos Falcon de 50 mL.
3. Centrífuga modelo ThermoScientific Sorvall LYNX 4000, para recipientes de 1 L.
4. Agitador de Vortex ZX4, de Velp Scientifica.
5. Equipo de ultrasonidos Sonorex Digitec DT 514 H.
6. Medidor de pH BASIC 20+, de Crison Instruments.
7. Horno Mufla a 550°C.
8. Estufa de 105°C.
9. Electrodo selectivo de amonio Orion, de ThermoFisher Scientific, con número de catálogo 9512HPBNWP.
10. Destilador KjellFlex K-360, de Büchi.
11. Equipo de digestión, de J.P. Selecta.
12. Bureta digital BRAND Titrette, de ThermoFisher Scientific.
13. Equipo TOC-V / TN, de Shimadzu.
14. Liofilizador Telstar Lyo Quest.
15. Manifold de SPE.

16. Evaporador de nitrógeno Organomation N-EVAP 112.
17. Bomba de vacío Millipore modelo WP6122050.
18. Equipo de obtención de agua Milli-Q ultrapura modelo Autwomatic Plus 1+2 GR, de la marca Wasserlab.

- Material de laboratorio:

- Instrumentación habitual de laboratorio.
- Viales de vidrio de 2, 13 y 26 mL.
- Filtros de jeringa de nylon de 0,22 μm de poro, de nylon de 0,45 μm , y de fibra de vidrio de 0,7 μm .
- Filtros de disco con membrana de microfibra de vidrio de 0,7 y 0.45 μm de poro.
- Tubos Falcon de centrífuga de polietileno de 50 mL.
- Cartuchos de SPE Oasis HLB (3 mL, 60 mg).

- Reactivos:

Se emplearon patrones de alto grado de pureza (>95%) de LGC Standards, Alfa Aesar, Honeywell y Sigma-Aldrich, de los compuestos detectados en las aguas residuales, y de los añadidos al medio de cultivo sintético. Entre ellos, se incluyen antibióticos, antiinflamatorios, y otros fármacos de diferentes familias químicas que se detallan en la tabla 4.

Se prepararon disoluciones individuales de cada patrón (1000 mg L⁻¹) en una mezcla metanol-agua 5:95, además de una disolución madre de la mezcla y demás disoluciones de trabajo. Se almacenaron a -80° C hasta ser empleadas.

El agua ultrapura se generó mediante un sistema de purificación Autwomatic Plus 1+2 GR de Wasserlab. El metanol, de grado analítico, fue suministrado por Labkem.

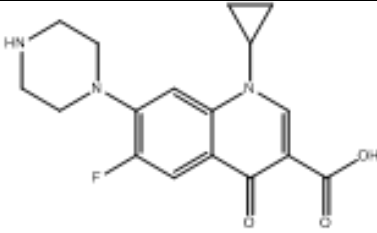
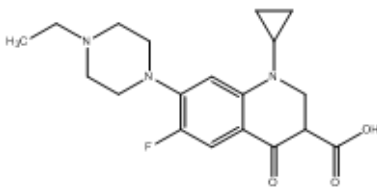
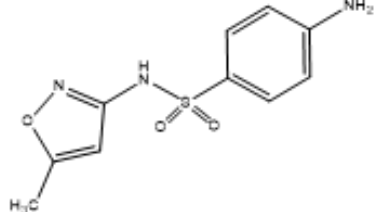
Para obtener la biomasa fresca, se empleó la purga de microalgas del reactor del ISP.

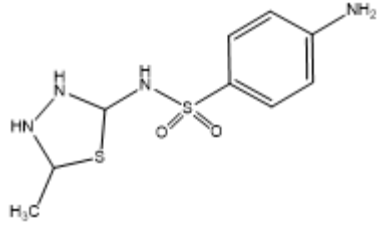
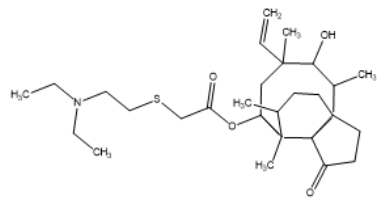
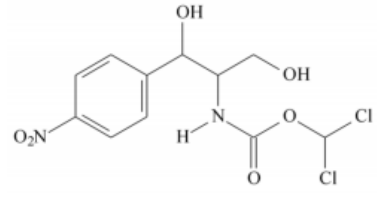
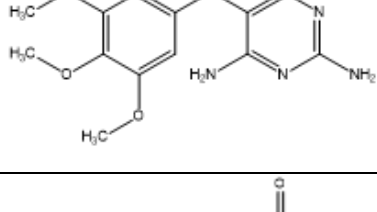
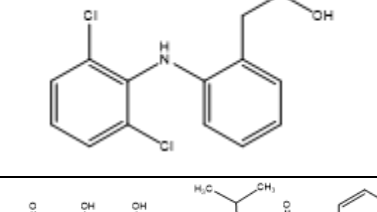
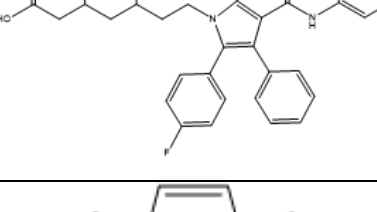
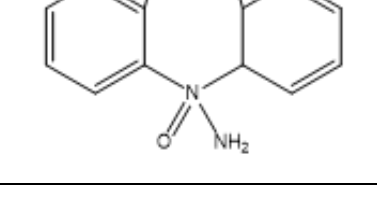
Para realizar la extracción en fase sólida de los CECs, se empleó acetonitrilo de grado analítico.

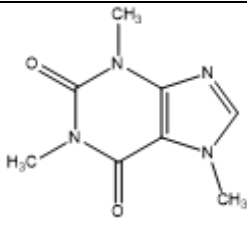
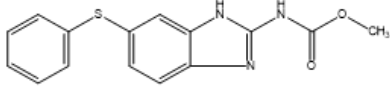
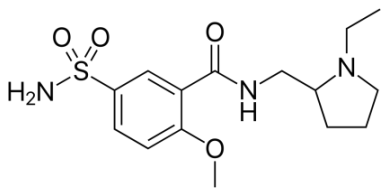
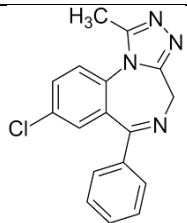
Los reactivos para crear el medio sintético de crecimiento fueron los siguientes: NaNO₃, NaCl, CaCl₂·H₂O, MgSO₄·7H₂O, K₂HPO₄ y KH₂PO₄.

También se emplearon disolventes orgánicos para el lavado del material (agua Milli-Q, etanol y acetona).

Tabla 4: Lista de los analitos y sus propiedades fisicoquímicas. (Fuente: Scifinder)

Clase terapéutica	Subclase terapéutica	Analitos	PM ¹ (uma)	Fórmula molecular	Estructura	pKa ² a 25°C
Antibiótico	Quinolonas	Ciprofloxacino (CIP)	331.34	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃		Más ácida: 6.43 Más básica: 8.68
Antibiótico	Quinolonas	Enrofloxacin (ENR)	359.39	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃		Más ácida: 6.43 Más básica: 7.76
Antibiótico	Sulfonamidas	Sulfametoxazol (SMX)	253.28	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S		Más ácida: 1.39 Más básica: 5.81

Antibiótico	Sulfonamidas	Sulfametizol (SMZ)	270.33	$C_9H_{10}N_4O_2S_2$		Más ácida: 2.07 Más básica: 5.51
Antibiótico	Pleuromutilina	Tiamulina (TIA)	493.74	$C_{28}H_{47}NO_4S$		Más ácida: 9.74 Más básica: 14.65
Antibiótico	Antimicrobianos /Antiprotozoarios	Cloranfenicol	323,13	$C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$		4,3
Antibiótico	Diaminopirimidinas	Trimetoprima (TMP)	290.32	$C_{14}H_{18}N_4O_3$		Más ácida: 7.04 ±0.10
Antiinflamatorio	AINE (Medicamento antiinflamatorio no esteroideo)	Diclofenaco (DCF)	296.15	$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$		Más ácida: - 2.26 Más básica: 4.18
Regulador de lípidos	Estatinas	Atorvastatina (ATV)	558.64	$C_{33}H_{35}FN_2O_5$		Más ácida: 0.38 Más básica: 4.29
Anticonvulsivo		Carbamazepina (CBM)	236.27	$C_{15}H_{12}N_2O$		Más ácida: - 0.49 Más básica: 13.94

Estimulante		Cafeína (CAF)	194.19	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂		Más básica: 0.52
Antiparasitario	Benzimidazoles	Fenbendazol (FEN)	299.35	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₂ S		Más ácida: 5.25 Más básica: 10.80
Antipsicótico	Antagonista de la dopamina	Sulpirida	341.43	C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ S		8,0
Ansiolítico	Benzodiazepinas	Alprazolam	308,77	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄		3,9

¹ PM: Peso molecular; ²Ka: Constante de acidez

4.2. Preparación de fotobiorreactores y patrones:

El procedimiento experimental de este trabajo de investigación pretende determinar las concentraciones en las que se encuentran los CECs detectados en las aguas residuales urbana y ganadera, y 10 de los 14 CECs nombrados en la tabla anterior en el medio acuoso sintético de crecimiento de microalgas, el "Medio Bristol".

Para ello, se prepararon varios fotobiorreactores, cada uno con un medio de cultivo distinto, y se inocularon con un mismo tipo de microalga, *Mychonastes homosphaera*.

- **Obtención de la biomasa fresca:**

El Instituto de Procesos Sostenibles de la Universidad de Valladolid cuenta con un fotobiorreactor tubular con microalgas y bacterias cultivadas en agua residual sintética. El efluente de este reactor y la purga del sedimentador fueron suministrados para obtener las microalgas, siendo su concentración de $0,2 \text{ g L}^{-1}$.

El efluente recogido durante varios días se centrifugó durante 10 minutos a 5000 rpm para obtener la biomasa fresca. Es importante controlar la velocidad, ya que a más revoluciones, las microalgas pueden sufrir daños físicos, como la ruptura de las membranas celulares. La biomasa sedimentada se empleó para inocular los fotobiorreactores.

- **Preparación de los medios de cultivo:**

Se prepararon los tres medios acuosos de cultivo para los fotobiorreactores:

El *medio Bristol* (BM) es un medio de cultivo sintético sencillo, constituido por sales inorgánicas solubles. Para prepararlo, se realizó una disolución de 1100 mL con los siguientes compuestos y concentraciones (g L^{-1}): NaNO_3 25, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 7.5, K_2HPO_4 7.5, KH_2PO_4 17.5, NaCl 2.5.

El segundo medio de cultivo consistía en *agua residual urbana* (UWW). Un bidón de agua residual de una entrada a una Estación Depuradora de Agua Residual (EDAR) fue suministrado tras efectuar un tratamiento primario (filtración y decantación). Se depositaron 1100 mL de este medio en una botella para preparar el fotobiorreactor correspondiente.

Como ejemplo de *agua residual ganadera* (LWW), se empleó purín porcino tras una centrifugación a baja velocidad para eliminar los sólidos en suspensión de mayor tamaño. El medio se diluyó 1:20 con agua Milli-Q, y se preparó una botella de 1100 mL.

- **Preparación de los fotobiorreactores:**

Cada una de las botellas se inoculó con 5,5 g de biomasa fresca sedimentada, obtenida al centrifugar el efluente del reactor primario como se comentó anteriormente. La especie de microalga era *Mychonastes homosphaera*, con una densidad celular de 5.09×10^9 ind. L^{-1} .

Las tres botellas se colocaron sobre una placa agitadora, tapadas con algodón para evitar posibles contaminaciones, y bajo iluminación artificial que reproducía la luz solar en el espectro del visible. Los medios de cultivo se agitaron con imanes, manteniendo una agitación eficaz con el fin de que se oxigenaran y no se estratificaran.



Figura 6. Fotobiorreactores bajo luz artificial que simula la luz solar en el espectro del visible.

- **Adición de los CECs:**

El medio Bristol se dopó con una mezcla de 10 CECs en metanol/agua 5:95. La proporción de metanol en agua en el disolvente es de gran importancia, ya que el metanol es tóxico para las algas (YPF Química, n.d.). Su concentración en los fotobiorreactores debe ser inferior al 0.01%. En altas concentraciones, puede dañar las membranas celulares, alterar procesos bioquímicos esenciales en las algas, e incluso puede llegar a ser letal para estos microorganismos.

Las aguas residuales y ganaderas no se doparon y se monitorizó la evolución de los CECs detectados en ellas.

4.3. Caracterización físico-química de medios acuosos:

Los medios acuosos de crecimiento de microalgas se han caracterizado mediante la determinación de una serie de parámetros físico químicos. Estos parámetros se han medido al comenzar y finalizar el estudio: determinación de pH, densidad, sólidos totales y volátiles, carbono orgánico total y nitrógeno Kjeldahl (nitrógeno orgánico + nitrógeno amoniacal).

- Determinación de pH:

Se midió el pH de las alícuotas de cada medio de cultivo mediante el medidor de pH BASIC 20+, de Crison Instruments.

- Determinación de la densidad:

Para determinar la densidad de cada alícuota, se pesó la masa de un volumen conocido con una balanza analítica.

- Análisis de sólidos:

Se determinaron los sólidos totales, sólidos volátiles, sólidos totales suspendidos y sólidos suspendidos volátiles de cada alícuota.

Los sólidos totales (ST) corresponden a los residuos que quedan tras la evaporación de la muestra en la estufa a 105°C durante 24 horas.

Los sólidos volátiles (SV) son los que se volatilizan por ignición tras la evaporación de la muestra en la estufa a 105°C durante 24 horas y en un horno a 550° durante 24 horas.

Los sólidos totales suspendidos (SST) son aquellos sólidos retenidos en un filtro de 0,45 µm tras la evaporación de la muestra en estufa a 105°C durante 3 horas.

Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) son los sólidos totales suspendidos que se volatilizan tras someter el residuo a ignición en un horno a 550° durante 45 minutos.

Los valores se calculan mediante las siguientes ecuaciones:

$$ST_{mg/L} = \frac{(P_1 - P_0) \cdot 1000}{v_m}$$

$$SST_{mg/L} = \frac{(PF_1 - PF_0) \cdot 1000}{v_m}$$

$$SV_{mg/L} = \frac{(P_1 - P_2) \cdot 1000}{v_m}$$

$$SSV_{mg/L} = \frac{(PF_1 - PF_2) \cdot 1000}{v_m}$$

Siendo P_0 la masa del crisol, P_1 la masa del crisol tras introducirlo en la estufa, P_2 la masa del crisol tras introducirlo en la mufla, PF_0 la masa del filtro, PF_1 la masa del filtro tras introducirlo en la estufa, PF_2 la masa del filtro tras introducirlo en la mufla, y v_m el volumen de muestra.

- Determinación de nitrógeno Kjeldahl:

El proceso Kjeldahl es un método que consiste en una digestión catalizada en medio sulfúrico a 270° durante 3 horas, para descomponer especies que contienen nitrógeno, y convertir el nitrógeno orgánico en sulfato de amonio. Tras la digestión, el digerido se destila en medio alcalino (hidróxido de sodio). Se genera amoníaco, que se absorbe en ácido bórico, y al valorarlo con ácido sulfúrico, se determina la concentración de amonio.

- Determinación del carbono orgánico total (TOC):

La técnica TOC mide la cantidad total de carbono orgánico presente en una muestra, mediante su oxidación a dióxido de carbono.

4.4. Obtención de muestras y almacenamiento:

Al principio y al final del estudio se tomaron alícuotas de 200 mL de cada uno de los fotobiorreactores para analizar una serie de parámetros físico-químicos básicos. Estos volúmenes se filtraron con filtros de jeringa con tamaño de poro de 0,7 y 0,45 μm , de microfibra de vidrio y nylon respectivamente.

Además, se muestrearon periódicamente 5 mL de cada uno de los tres fotobiorreactores cada 12 horas, aproximadamente, durante 7 días para la determinación de los CECs, y se filtraron como ya se ha mencionado.

Tabla 5: Volúmenes (mL) tomados cada 12 horas durante 7 días de cada fotobiorreactor.

Tiempo (h)	t= 0	t= 14h	t= 24h	t= 38h	t= 48h	t= 62h	t= 72h	t= 86h	t= 96h	t= 158h
Volúmenes (mL)	200 + 5	5	5	5	5	5	5	5	5	200 +70 + 5

Las alícuotas de 200 mL tomadas se emplearon para realizar los distintos análisis de parámetros básicos. Las alícuotas de 5 mL se emplearon para el análisis y determinación de las concentraciones de los CECs en el agua de los fotobiorreactores mediante el equipo de HPLC-MS/MS. Las alícuotas de 70 mL se emplearon para obtener las líneas de calibrado matriz-patrón realizadas para cada compuesto cuantificado.

4.5. Extracción en fase sólida:

En este estudio, se realizó una extracción en fase sólida como etapa de preconcentración. Para ello, se emplearon cartuchos Oasis HLB (hidrofílicos-lipofílicos balanceados), que se activaron con metanol y se equilibraron con agua ultrapura. El volumen de 5 mL de cada punto muestreado se diluyó a 100 mL con agua desionizada. Este volumen final se eluyó sobre los cartuchos de extracción para retener los CECs. Para lavar los cartuchos, se empleó una mezcla de MeOH/H₂O 5:95 (3 mL) para eliminar interferencias sin afectar a los analitos

de interés. Los contaminantes emergentes quedan retenidos en el adsorbente de los cartuchos, y fueron eluidos posteriormente al pasar un volumen de acetonitrilo (3 mL) a través de ellos. El eluato resultante se concentró empleando un evaporador de nitrógeno, que eliminó el acetonitrilo presente. El extracto seco se redisolvió en metanol-agua 5:95, y se filtró sobre 0.22 μm para su análisis cromatográfico.

Los viales cromatográficos con los contaminantes emergentes de cada medio se almacenaron en el congelador hasta el día de su inyección en el equipo de HPLC.

4.6. Preparación de las líneas de calibrado:

Para determinar las concentraciones de los contaminantes emergentes presentes en las alícuotas de los distintos medios de cultivo, se realizó una calibración matriz-patrón.

La calibración matriz-patrón es necesaria ya que los análisis se realizaron mediante un equipo de cromatografía de líquidos de alta resolución acoplado a un espectrómetro de masas mediante una interfase electrospray, y los efectos de la matriz en la ionización (y señal) del CEC son notables, por lo que se debe corregir la influencia de la matriz.

Las líneas de calibrado con patrones disueltos en un disolvente no sirven para la cuantificación, ya que existe dicho efecto matriz. Al emplear un calibrado normal, se cometería un error de cuantificación muy grande. Por ello se emplea un calibrado adiciones patrón.

Mediante el calibrado adiciones patrón se pretende cuantificar aquellos analitos que se puedan encontrar en las muestras. Posteriormente, para cuantificar las concentraciones a lo largo del estudio de degradación se construirá un calibrado matriz-patrón. Conociendo la concentración propia del medio (agua residual) y la concentración añadida, se puede representar el área de pico obtenida para cada disolución frente a la concentración total

del compuesto (concentración propia más concentración añadida), obteniendo el calibrado matriz-patrón.

Se realizaron tres calibraciones adiciones patrón, una para cada medio de cultivo. Para cada curva de calibración, se prepararon 12 puntos de calibrado y dos blancos.

Para ello, se tomaron alícuotas de 5 mL de sobrenadante filtrado de cada tipo de agua y se doparon con disoluciones estándar de los CECs en concentración adecuada.

Tabla 6: Puntos de calibración de las rectas de calibrado adiciones patrón para los medios de cultivo.

Puntos de calibrado	Blanco 1	Blanco 2	Patrón 1	Patrón 2	Patrón 3	Patrón 4	Patrón 5	Patrón 6	Patrón 7	Patrón 8	Patrón 9	Patrón 10	Patrón 11	Patrón 12
Concentración añadida de cada CEC ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0	0	252	201,6	151,2	126	100,8	75,6	50,4	25,2	12,6	5,04	2,52	1,26

Los patrones y blancos de cada uno de los tres medios de cultivo se filtraron mediante filtros de jeringa de nylon de 0,45 μm de poro. Posteriormente, se realizó una extracción en fase sólida, siguiendo el procedimiento explicado anteriormente.

Los viales cromatográficos con los contaminantes emergentes para cada curva de calibración se almacenaron en el congelador hasta el día de su inyección en el equipo de HPLC.

4.7. Análisis cromatográfico.

Las muestras acuosas y los patrones de calibración de las muestras de los tres medios de cultivo se analizaron mediante un equipo de cromatografía de líquidos de alta resolución acoplado a un espectrómetro de masas equipado con interfaz de ionización por electrospray (ESI), y analizador Q-TOF (analizador de tiempo de vuelo acoplado a un cuadrupolo), que operaba en modo de ionización positivo.

Este equipo se encuentra en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales (LTI) de la Universidad de Valladolid.

Un volumen de 1 mL de estas disoluciones se depositó en viales cromatográficos de 2 mL, tras filtrarlos con filtros de jeringa de nylon de 0,22 μm de poro para evitar posibles daños en el equipo, como la obstrucción de la columna cromatográfica.

La separación cromatográfica se realizó en fase inversa con una columna analítica Luna Omega C18 (Phenomenex) de 10 cm de longitud, 2.1 mm de diámetro interno y un tamaño de partículas de 1.6 μm , empleando un gradiente de fase móvil agua/metanol conteniendo ambos un 0.1% de ácido fórmico. El porcentaje de metanol aumentaba desde 5% a 95% en 7 minutos, y se mantenían en 95% durante 6 minutos. El tiempo de reequilibrio era de 7 minutos. El flujo de fase móvil era 0.3 mL/min y se inyectaba un volumen de muestra de 10 μL .

Las condiciones de trabajo de la cámara de ionización electrospray, en modo positivo, eran las siguientes: flujo de N_2 (gas de nebulización): 45 unidades, voltaje del electrodo: 5500 V, flujo de gas cortina (N_2): 35 unidades, flujo del gas de secado: 45 unidades, temperatura del gas de secado: 400 $^{\circ}\text{C}$.

En el analizador de tiempo de vuelo se empleó un tiempo de acumulación de 0.25 seg, y un potencial de desagrupación de 50 V.

Para la obtención de los espectros MS/MS, se fijó una energía 35 eV en la celda de colisión con gas nitrógeno. El eje de masa era regularmente calibrado durante las secuencias de inyección.

La adquisición e interpretación de datos se realizó mediante el software OS de Sciex.

La identificación de los analitos en los ensayos de cuantificación se realizó mediante su tiempo de retención en el sistema HPLC y la determinación de la masa exacta del pseudo-ion molecular ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

La adquisición de datos en modo MS/MS permite también la identificación de compuestos presentes en el extracto mediante la comparación de los espectros MS/MS experimentales con aquellos de las librerías de espectros.

5. Resultados y discusión

5.1. Parámetros físico-químicos.

Con las alícuotas de 200 mL de cada fotobiorreactor que se tomaron cada 12 horas durante la semana de muestreo, se realizaron varios análisis: determinación de pH, densidad, sólidos totales y volátiles, carbono orgánico total y nitrógeno Kjeldahl. La tabla 7 muestra los resultados obtenidos.

Tabla 7: Parámetros de los medios acuosos.

Medio de cultivo	pH		Densidad (g mL ⁻¹)		Sólidos totales (g/kg)		Sólidos volátiles (g/kg)		Sólidos totales suspendidos (g/L)		Sólidos suspendidos volátiles (g/L)		N Kjeldhal NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹)		TOC mg C L ⁻¹	
	Inicial ¹	Final ²	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
BM	7,36	10,8	0,978	0,969	0,46	1,12	0,20	0,73	0,01	0,49	0,01	0,47	5,41	11,96	<2	77,8
UWW	8,38	8,21	0,971	0,960	0,97	1,49	0,40	0,91	0,13	1,08	0,09	0,835	2,35	12,27	17,5	131,2
LWW	7,84	10,34	0,961	0,959	1,24	3,01	0,59	2,495	0,01	2,64	0,01	2,45	51,42	145,24	1116	812,8

¹ Inicial (t=0 h); ² Final (t=158 h)

El pH del agua residual varía dependiendo de su origen y composición, pero está normalmente comprendido en un intervalo de 6 a 9. El agua residual urbana tiende a ser ligeramente básica, debido al uso de detergentes y productos de limpieza. El agua residual ganadera contiene excrementos y orina de animales, lo que produce también un pH ligeramente alcalino, ya que contiene urea, que, al descomponerse, forma amoníaco.

La introducción del alga *Mychonastes homosphaera* en los medios de cultivo influye en el pH del medio. Durante la fotosíntesis, las algas toman el CO₂ del agua, que, al estar disuelto, se encuentra como carbonato o hidrogenocarbonato. Por tanto, la presencia de microalgas en matrices residuales acuosas provoca que el medio tenga un pH mayor, como se puede observar experimentalmente.

En los resultados experimentales también se observa cómo la densidad se mantiene más o menos constante, mientras que el contenido de sólidos totales y sólidos en suspensión aumenta. Esto se puede explicar por el crecimiento de la biomasa algal.

La concentración de nitrógeno Kjeldahl aumenta en los tres medios, lo que puede indicar la degradación de compuestos nitrogenados de las aguas residuales, o la liberación de nitrógeno por parte de las algas.

También se observa que el carbono orgánico total en el medio bristol y en el agua residual urbana aumenta, lo que puede indicar la generación de biomasa por parte de las algas. En el agua residual ganadera, en cambio, el TOC disminuye. Esto puede ser debido al consumo de materia orgánica por parte de las algas.

5.2. Identificación de CECs en aguas residuales.

Los compuestos presentes en las aguas residuales se han identificado mediante el empleo de una librería de espectros, comparando los espectros MS/MS experimentales con los de las librerías.

En el agua residual urbana, se han identificado los siguientes compuestos:

Tabla 8: Compuestos propios del agua residual urbana.

Compuesto	Fórmula molecular	Masa monoisotópica determinada	Error de medida (ppm)	Tiempo de retención (min)
Alprazolam	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄	309.0915	2.0	12,20
Cafeína	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	195.0876	0.5	9,33
Sulfametoxazol	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	254.0595	-0.3	9,53
Trimetoprima	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	291.1447	1.2	8,91
Sulpirida	C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ S	342.1481	-1.2	7,34

También se han detectado otros compuestos además de los estudiados, como el DEET, metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, naproxeno, norfloxacino, ofloxacino, 1-nonil-4-fenol, ibuprofeno, 8-hidroxiquinoleína, teobromina, y metmorfina.

Los resultados muestran que en las aguas residuales urbanas, la cafeína presenta la mayor concentración (14,1 µg/L), lo cual es esperable dado su alto consumo en la población general.

En el caso de las aguas residuales ganaderas de origen porcino, se han detectado una mayor diversidad de compuestos, muchos de ellos asociados con el uso veterinario:

Tabla 9: Compuestos propios del agua residual ganadera.

Compuesto	Fórmula molecular	Masa monoisotópica determinada	Error de medida (ppm)	Tiempo de retención (min)
Cafeína	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	195.0876	0.5	9,27
Ciprofloxacino	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	332.1397	0.6	9,33
Enrofloxacin	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃	360.1718	1.2	9,40
Fenbendazol	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₂ S	300.0876	-0.5	12,37
Sulfametizol	C ₉ H ₁₀ N ₄ O ₂ S ₂	271.0320	-0.3	9,10
Sulfametoxazol	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	254.0595	-1.2	9,32
Tiamulina	C ₂₈ H ₄₇ NO ₄ S	494.2998	0.6	11,43
Cloranfenicol	C ₁₁ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₅	323.0194	1.4	9,42

La presencia de fármacos como sulfametizol, tiamulina, y cloranfenicol pueden indicar prácticas intensivas de medicación en la producción porcina.

Además de estos compuestos, también se han detectado otros como etilparabeno, propilparabeno, ácido salicílico, sulfadiazina, 1-nonil-4-fenol, octilfenol, ibuprofeno, paracetamol, 8-hidroxiquinoleína y lincomicina.

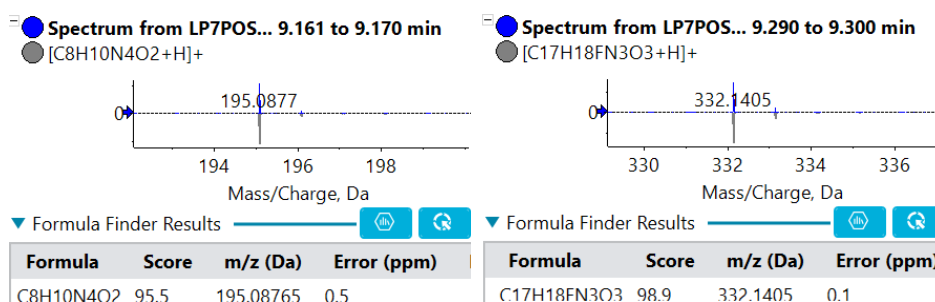


Figura 7: Espectros de CECs detectados en aguas residuales en los que se observa el perfil isotópico del ión molecular ([M+H]⁺) (cafeína y ciprofloxacino, respectivamente).

5.3. Cuantificación de los CECs en las aguas residuales.

Para cuantificar los compuestos detectados en las aguas residuales se realizó un calibrado adiciones patrón para cada tipo de agua.

Para ello, se representaron las áreas de pico obtenidas para los 12 puntos de calibrado, frente a la concentración añadida en cada caso, construyendo un calibrado de adiciones patrón. Al interpolar el área de pico obtenida de cada compuesto detectado en las aguas residuales, se ha determinado su concentración en la muestra.

Los compuestos detectados en agua residual urbana y ganadera se encontraron en las siguientes concentraciones:

Tabla 10: Concentraciones de compuestos detectados en aguas residuales.

Compuesto	Tipo de agua residual	Concentración inicial (µg/L)
Alprazolam	Urbana	<1
Cafeína	Urbana	14,1
Sulfametoxazol	Urbana	<1
Trimetoprima	Urbana	3,8
Sulpirida	Urbana	4,4
Cafeína	Ganadera	3,3
Ciprofloxacino	Ganadera	<1
Enrofloxacina	Ganadera	<1
Fenbendazol	Ganadera	5,3
Sulphametizol	Ganadera	5,5
Sulfametoxazol	Ganadera	3,5
Tiamulina	Ganadera	5,3
Cloranfenicol	Ganadera	5,5

Conociendo estas concentraciones, se ha construido después un calibrado matriz patrón para cuantificar los CECs en los diferentes puntos de muestreo, representando el área de pico obtenida frente a la concentración total, la cual es la suma de la concentración añadida y la concentración propia de la muestra.

Se adjuntan datos acerca del calibrado matriz patrón para el agua residual urbana y ganadera:

Tabla 11: Calibrado matriz patrón para las aguas residuales.

Compuesto	Tipo de agua residual	R ²	Ordenada	Pendiente	Rango linealidad (µg/L)	Límite detección (µg/L)
Alprazolam	Urbana	0,992	-472819	246547	1.26-252.0	0,01
Cafeína	Urbana	0,992	136224	67664	1.26-252.0	0,02
Sulfametoxazol	Urbana	0,996	115347	118470	1.26-252.0	0,02
Trimetoprima	Urbana	0,997	259360	201922	1.26-252.0	0,01
Sulpirida	Urbana	0,992	383322	193869	1.26-252.0	0,02
Cafeína	Ganadera	0,991	50726	64653	1.26-252.0	0,01
Ciprofloxacino	Ganadera	0,999	-135202	83123	1.26-252.0	0,02
Enrofloxacin	Ganadera	0,998	-19337	114318	1.26-252.0	0,01
Fenbendazol	Ganadera	0,978	-1356	334	1.26-252.0	0,1
Sulphametizol	Ganadera	0,999	-158543	27792	1.26-252.0	0,2
Sulfametoxazol	Ganadera	0,999	-87628	52507	1.26-252.0	0,2
Tiamulina	Ganadera	0,986	-543618	120680	1.26-252.0	0,03
Cloranfenicol	Ganadera	0,999	-13528	2059	1.26-252.0	0,05

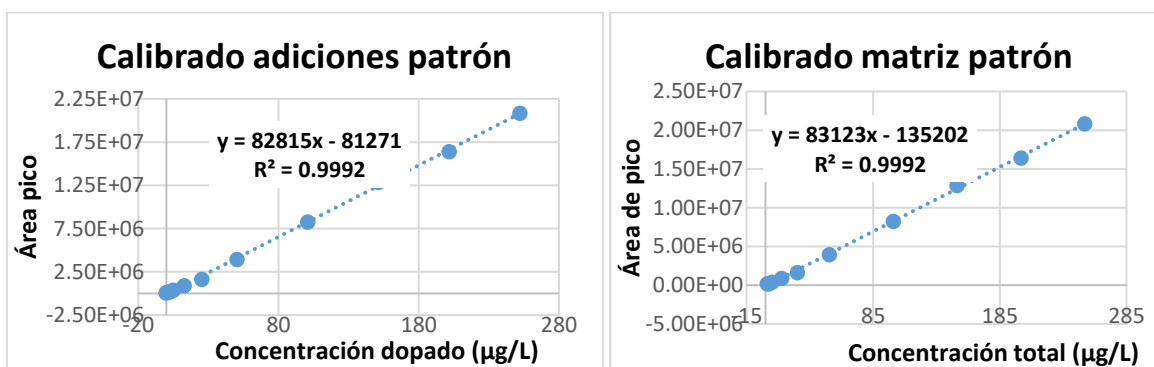


Figura 8: Calibrados adiciones patrón y matriz patrón para el ciprofloxacino detectado en agua residual ganadera.

En el caso del medio Bristol, no se detectaron CECs propios en la disolución inicial, como era de esperar. Se consideró como concentración inicial de cada contaminante emergente la concentración con la que se doparon los fotobiorreactores, 327 µg/L.

Los parámetros del calibrado matriz-patrón con este medio sintético se muestran en la tabla 12.

Tabla 12: Parámetros del calibrado matriz patrón para el Medio Bristol.

Compuesto	R ²	Ordenada	Pendiente	Rango linealidad	Límite detección (µg/L)
Alprazolam	0.973	-14849	128535	1.26-252.0	0.01
Atorvastatina	0.785	867941	42820	1.26-252.0	0.01
Carbamazepina	0.987	-22451	103156	1.26-252.0	0.02
Cloranfenicol	0.995	-39139	8368.6	1.26-252.0	0.05
Ciprofloxacino	0.993	-158320	53784	1.26-252.0	0.01
Diclofenaco	0.983	-154041	53128	1.26-252.0	0.01
Enrofloxacin	0.973	135536	1044724	1.26-252.0	0.02
Tiamulina	0.942	204146	134582	1.26-252.0	0.04
Sulfametoxazol	0.938	27051	105377	1.26-252.0	0.02
Sulfametizol	0.993	-67093	53787	1.26-252.0	0.02

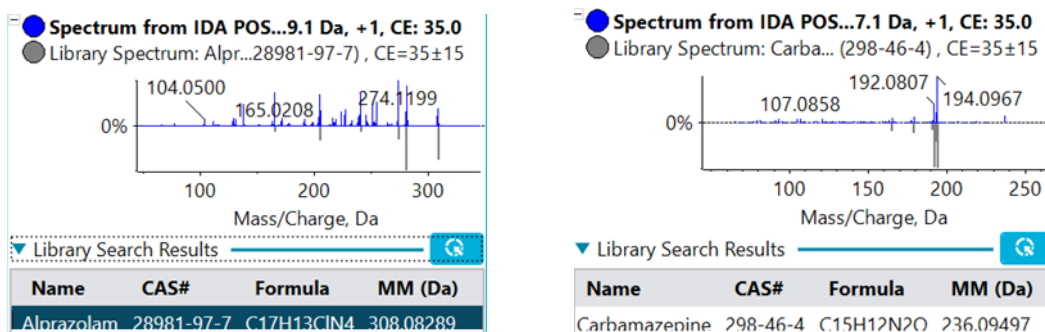


Figura 9: Espectros MS/MS de contaminantes emergentes detectados en aguas residuales (alprazolam y carbamazepina, respectivamente).

5.4. Eliminación de contaminantes emergentes.

Conociendo la concentración de los compuestos detectados en cada punto, se ha determinado el porcentaje de eliminación de cada uno de ellos en todos los medios acuosos estudiados.

La tabla 13 muestra la evolución de la concentración, y del porcentaje de degradación a lo largo del tiempo. También muestra la incertidumbre de la concentración medida a partir del calibrado matriz-patrón.

Tabla 13: Porcentajes de eliminación de los CECs.

Compuesto	Tiempo (h)	Concentración (µg/L)	Incertidumbre (µg/L)	Degradación (%)
Agua residual urbana				
Alprazolam	0	<1		
	14	No detectado	6.8	100.0
Cafeína	0	14.1	5.6	0.0
	14	5.8	5.6	58.9
	24	4.6	5.6	67.4
	38	3.0	5.6	78.7
	48	1.9	5.6	86.5
	62	0.5	5.7	96.5
Sulfametoxazol	0	<1		
	14	No detectado	4.7	100.0
Trimetoprima	0	3.8	4.3	0.0
	14	0.7	4.3	81.6
	24	0.4	4.3	88.9
	38	No detectado	4.0	100.0
Sulpirida	0	4.4	5.1	0.0
	14	1.6	5.1	63.6
	24	No detectado	5.1	100.0
Agua residual ganadera				
Cafeína	0	3.3	7.1	0.0
	14	2.5	7.1	25.1
	24	0.6	7.1	82.1
	38	0.5	7.1	83.7
	48	0.5	7.1	85.4
	62	0.4	7.1	86.6
	72	0.3	7.1	90.2
	86	0.3	7.1	91.7
	96	0.1	7.1	96.8
	158	0.1	7.1	97.4
Ciprofloxacina	0	<1		
	14	No detectado	2.3	100.0
Cloranfenicol	0	5.5	1.4	0.0
	14	0.6	1.5	88.9
	24	No detectado	1.5	100.0
Enrofloxacin	0	0.1	3.2	0.0
	14	No detectado	3.4	100.0
Fenbendazol	0	5.3	10.1	0.0
	14	3.0	10.5	43.6
	24	No detectado	12.0	100.0

Sulfametizol	0	5.5	2.3	0.0
	14	No detectado	2.4	100.0
Sulfametoxazol	0	3.5	2.5	0.0
	14	0.9	2.5	73.7
	24	0.7	2.5	81.0
	38	No detectado	2.5	100.0
Tiamulina	0	5.3	5.8	0.0
	14	0.1	5.9	98.7
	24	No detectado	5.9	100.0
Medio sintético Bristol				
Alprazolam	0	327.0	15.0	0.0
	48	20.0	12.2	93.9
	96	18.0	11.2	94.5
	158	6.1	8.8	98.1
	206	9.5	6.5	97.1
Atorvastatina	0	327.0	36.1	0.0
	48	109.2	36.3	66.6
	96	100.7	36.3	69.2
	158	80.1	36.3	75.5
	206	78.0	36.3	76.2
Carbamazepina	0	327.0	7.3	0.0
	48	136.8	7.4	58.2
	96	77.3	6.3	76.4
	158	53.5	6.6	83.6
	206	45.3	6.5	86.2
Cloranfenicol	0	327.0	73.8	0.0
	48	230.7	41.4	29.5
	96	199.7	29.8	38.9
	158	90.1	9.3	72.5
	206	42.5	4.1	87.0
Ciprofloxacino	0	327.0	7.0	0.0
	48	308.3	6.9	5.7
	96	286.6	6.9	12.4
	158	218.4	6.9	33.2
	206	161.5	6.9	50.6
Diclofenaco	0	327.0	10.4	0.0
	48	6.0	9.5	98.2
	96	No detectado	8.8	100.0
Enrofloxacina	0	327.0	82.4	0.0
	48	127.0	30.6	61.2
	96	90.6	21.7	72.3
	158	44.8	11.4	86.3
	206	24.2	7.9	92.6

Tiamulina	0	327.0	15.7	0.0
	48	22.7	14.7	93.1
	96	10.8	13.0	96.7
	158	10.3	12.0	96.9
	206	No detectado	11.1	100.0
Sulfametoxazol	0	327.0	18.4	0.0
	48	84.4	18.6	74.2
	96	5.7	18.6	98.3
	158	No detectado	13.7	100.0
Sulfametizol	0	327.0	5.0	0.0
	48	41.5	5.2	87.3
	96	12.7	4.5	96.1
	158	12.7	4.0	96.1
	206	No detectado	3.7	100.0

En el caso del agua residual urbana, la mayoría de los compuestos presentan una alta eficiencia de eliminación en menos de 48 horas. Los fármacos alprazolam, sulfametoxazol, trimetoprima y sulpirida alcanzan una degradación del 100% en periodos inferiores a 38 horas, lo que indica una rápida biodegradabilidad o una posible adsorción sobre la biomasa algal. La cafeína presentó una cinética más gradual, lo que podría estar relacionado con su mayor concentración inicial (14,1 µg/L) y mayor estabilidad relativa frente a los mecanismos de degradación.

En el agua residual de origen ganadero, se observa una tendencia similar, alcanzando la degradación completa de varios compuestos en 24 horas o incluso menos, como en los casos de ciprofloxacina, fenbendazol, sulfametizol, cloranfenicol, enrofloxacin y tiamulina. En cambio, la cafeína presentó una eliminación más lenta (97,4% a las 158 horas).

En el medio sintético, los perfiles de degradación son más diversos. Compuestos como alprazolam, diclofenaco, sulfametoxazol, tiamulina y sulfametizol mostraron degradación completa o casi completa en menos de 206 horas, con porcentajes cercanos o iguales al 100%. Por otro lado, fármacos como ciprofloxacino, carbamazepina, y atorvastatina presentaron tasas de eliminación mucho más bajas, alcanzando solo entre el 50 y el 76%

de degradación tras 206 horas. Este comportamiento puede deberse a la mayor persistencia de estos compuestos frente a procesos de biodegradación. En general, la eliminación completa de los contaminantes en el medio sintético Bristol conlleva un mayor tiempo de permanencia, explicable por la mayor concentración inicial presente.

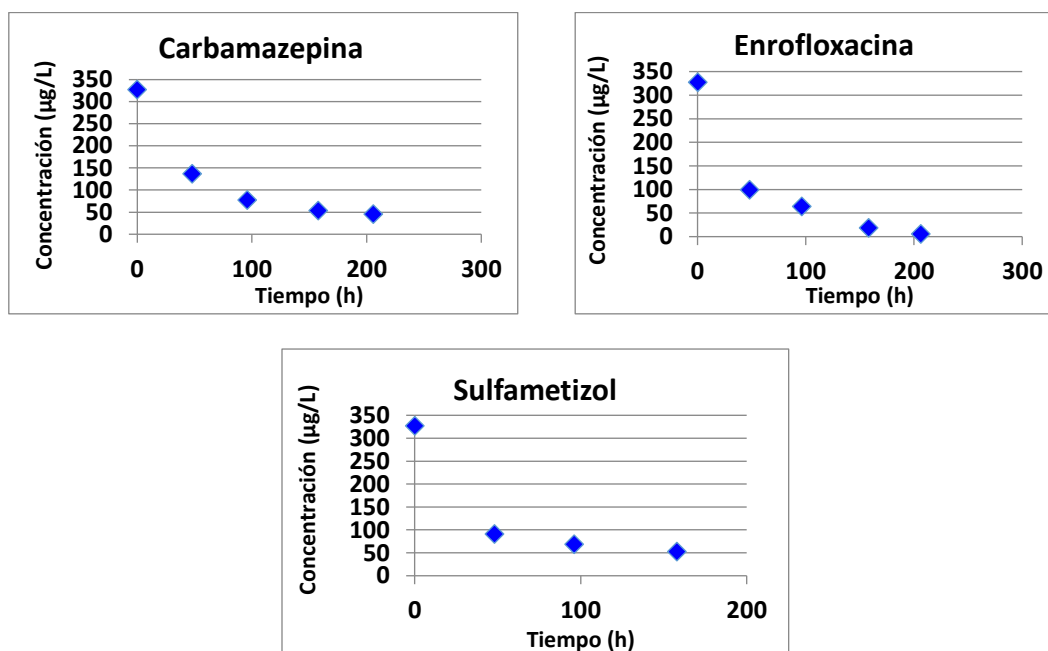


Figura 10: Concentración frente a tiempo de algunos CECs en medio Bristol.

El porcentaje de eliminación al finalizar el estudio de cada uno de los CECs en todos los medios acuosos estudiados se muestra en la tabla 14. También se muestra el tiempo necesario para la eliminación completa del contaminante, o el tiempo para el cual se observó el máximo porcentaje de eliminación.

Tabla 14: Porcentajes de eliminación de los contaminantes emergentes.

Compuesto	Tipo de agua	Tiempo (h)	Degradación (%)
Alprazolam	Medio Bristol	158	97.1
Alprazolam	Residual urbana	14	100
Atorvastatina	Medio Bristol	158	76.2
Cafeína	Residual urbana	72	100
Cafeína	Residual ganadera	158	97.4
Carbamazepina	Medio Bristol	158	86.2

Cloranfenicol	Medio Bristol	158	87.0
Cloranfenicol	Residual ganadera	24	100
Ciprofloxacino	Medio Bristol	158	50.6
Ciprofloxacino	Residual ganadera	14	100
Diclofenaco	Medio Bristol	158	100
Enrofloxacina	Medio Bristol	158	98.4
Enrofloxacina	Residual ganadera	14	100
Fenbendazol	Residual ganadera	24	100
Sulfametoxazol	Medio Bristol	158	100
Sulfametoxazol	Residual urbana	14	100
Sulfametoxazol	Residual ganadera	38	100
Sulfametizol	Medio Bristol	158	100
Sulfametizol	Residual ganadera	14	100
Sulpiride	Residual urbana	24	100
Tiamulina	Medio Bristol	158	100
Tiamulina	Residual ganadera	24	100
Trimetoprima	Residual urbana	38	100

Se concluye que compuestos como el fenbendazol, sulfametoxazol, sulfametizol, sulpirida, tiamulina y trimetoprima han sido completamente eliminados durante la realización del estudio.

5.5. Cinéticas de degradación.

Conociendo la evolución de la concentración de cada CEC a lo largo del tiempo, es posible establecer las cinéticas de degradación y el tiempo de vida media de cada CEC en los tres medios acuosos.

Las reacciones de primer orden siguen la ley de velocidad: $v = k_r \cdot [A] = -\frac{d[A]}{adt}$.

Integrando, la ecuación cinética resulta: $[A]_t = [A]_0 * e^{-k_a \cdot t}$.

Las reacciones de segundo orden siguen la ley de velocidad: $v = k_r \cdot [A]^2 = -\frac{d[A]}{adt}$.

Integrando de la misma forma, la ecuación cinética queda de la forma: $\frac{1}{[A]_t} = \frac{1}{[A]_0} + k_a \cdot t$.

La vida media de una reacción es el tiempo necesario para que la concentración de reactivo se reduzca a la mitad de su concentración inicial.

Tabla 15: Cinéticas de degradación y tiempo de vida media de cada CEC en medio Bristol.

Compuesto	R ²		Vida media (h)	
	Orden 1	Orden 2	Orden 1	Orden 2
Alprazolam	0.866	0.783	48.803	7.803
Atorvastatina	0.704	0.833	115.725	70.47
Carbamazepina	0.914	0.995	74.583	30.301
Cloranfenicol	0.944	0.803	71.574	33.214
Ciprofloxacino	0.913	0.865	204.507	208.43
Diclofenaco	1.000	1.000	8.317	0.896
Enrofloxacina	0.981	0.896	58.064	17.495
Tiamulina	0.728	0.884	33.646	4.942
Sulfametoxazol	0.964	0.788	16.402	1.692
Sulfametizol	0.808	0.950	64.626	31.737

El ciprofloxacino y la atorvastatina presentan vidas medias mayores respecto a los demás contaminantes. Esto sugiere una alta persistencia en el medio, y por tanto, una difícil eliminación mediante procesos convencionales.

Por otra parte, el diclofenaco y sulfametoxazol presentan vidas medias muy cortas, lo cual indica una rápida degradación.

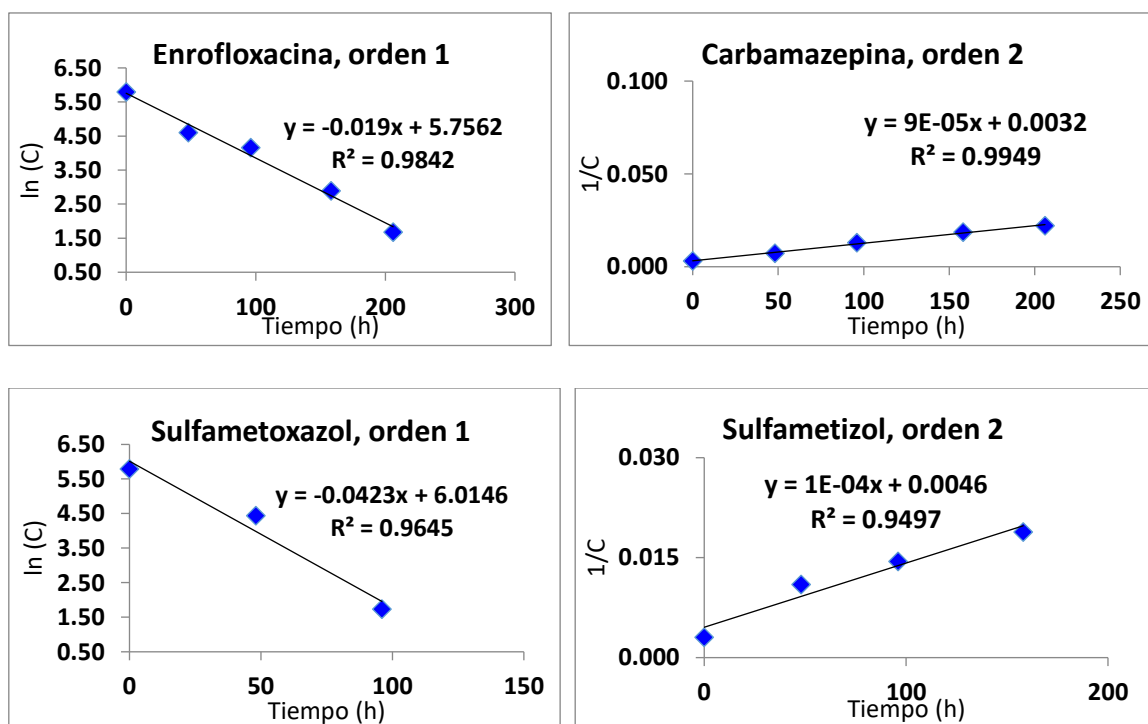


Figura 11: Cinéticas de orden 1 y 2 para varios CECs.

6. Conclusiones

En este trabajo de investigación se ha detectado la presencia de cinco contaminantes emergentes en las muestras de aguas residuales urbanas, y de ocho en el agua residual ganadera de origen porcino. Las concentraciones iniciales de estos contaminantes en los fotobiorreactores fueron inferiores a 20 µg/L.

Los resultados obtenidos demuestran que los fotobiorreactores con microalgas son capaces de reducir la cantidad de contaminantes presentes en diferente cuantía según la concentración inicial de cada compuesto. Contaminantes emergentes como el fenbendazol, sulfametoxazol, sulfametizol, sulpirida, tiamulina y trimetoprima han sido completamente eliminados durante el desarrollo del estudio.

También se ha observado que la eliminación total de contaminantes en el medio sintético Bristol requirió un mayor tiempo de residencia, lo cual es explicable por las mayores concentraciones iniciales en dicho medio.

Se ha verificado que el medio Bristol es adecuado para el crecimiento de las microalgas y para la realización de ensayos de persistencia de contaminantes emergentes.

En cuanto a la cinética de degradación, los resultados indican que el proceso de eliminación de los contaminantes se ajusta mejor, en general, a una cinética de segundo orden que a una de primer orden.

Se ha observado que compuestos como ciprofloxacino y atorvastatina presentan velocidades de eliminación menores en comparación con el resto de contaminantes.

7. Bibliografía y referencias

Abate, D., Sahu, O., Tiwari, B., & Patel, A. (2024). Microalgae-bacteria nexus for environmental remediation and renewable energy resources: Advances, mechanisms and biotechnological applications. *Heliyon*, 10(2), e31170.

Abdelfattah, I., El-Khateeb, M. A., El-Gohary, F., & Sayed, M. (2023). Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects. *Environmental Science and Ecotechnology*, 16, 100205.

Ación, F. G., Fernández, J. M., Magán, J. J., & Molina, E. (2012). Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1344-1353.

Aguinaga, N. (2023). Desarrollo de nuevos métodos analíticos para la extracción, preconcentración y determinación de contaminantes emergentes en muestras ambientales. [Tesis doctoral, Universidad Nacional del Sur]. RID-UNS.

Amelin, V. G., Karaseva, E. V., & Lavrukhin, D. E. (2012). Separation and quantification of polar pesticides in well, surface, and drinking water by capillary electrophoresis. *Journal of Analytical Chemistry*, 67(10), 904-924.

Amenorfenyo, D. K., Huang, X., Zhang, Y., Zeng, Q., Zhang, N., & Ren, J. (2019). Microalgae brewery wastewater treatment: Potentials, benefits and the challenges. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(11), 1910.

Ansa, E. D. O., Lubberding, H. J., Ampofo, J. A., & Gijzen, H. J. (2011). The role of algae in the removal of *Escherichia coli* in a tropical eutrophic lake. *Ecological Engineering*, 37(2), 317-324.

Calvo Tejo, A. P. (2021). Análisis de contaminantes emergentes en productos de valorización procedentes de biomasa algal. [Trabajo de fin de máster, Universidad de Valladolid]. UVA Doc.

Chen, H., Jin, B., & Wang, Y. (2008). Application of on-line microwave sample-preparation techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27(2), 151-159.

de la Serna Calleja, M., Postigo, C., & Barceló, D. (2023). Performance critical comparison of offline SPE, online SPE, and direct injection for the determination of CECs in complex liquid environmental matrices. *Microchemical Journal*, 182, 108395.

Esipovich, A. L., Fedorov, A. I., Khomutov, M. V., & Ananikov, V. P. (2024). Processing of lipid-enriched microalgae *Chlorella* biomass into biofuels and value-added chemicals. *Fuel*, 354, 133484.

Feng, C., Liu, S., & Zhang, H. (2024). Solid phase microextraction for the bioanalysis of emerging organic pollutants. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 173, e00241.

Frutos, O. D., Siles, J. A., & Martín, M. A. (2016). Simultaneous biological nitrous oxide abatement and wastewater treatment in a denitrifying off-gas bioscrubber. *Chemical Engineering Journal*, 295, 28-37.

Göbel, A., McArdell, C. S., Joss, A., Siegrist, H., & Giger, W. (2005). Extraction and determination of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in sewage sludge. *Journal of Chromatography A*, 1085(2), 179-189.

Hena, S., Gutierrez, L., & Croué, J. P. (2021). Removal of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) from wastewater using microalgae: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 403, 124041.

Hussain, S. A., Ahmad, M., & Khan, N. (2021). Microalgae an ecofriendly and sustainable wastewater treatment option: Biomass application in biofuel and bio-fertilizer production. A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 137, 110603.

Khan, S., Shahnaz, M., & Rehman, S. U. (2023). A state-of-art review on emerging contaminants: Environmental chemistry, health effect, and modern treatment methods. *Chemosphere*, 321, 140264.

López-Serna, R., Petrović, M., & Barceló, D. (2022). Determination of veterinary drugs in microalgae biomass from photobioreactors fed with piggery wastewater. *Chemosphere*, 287, 132076.

López-Serna, R., de la Serna Calleja, M., & Barceló, D. (2024). Removal of contaminants of emerging concern from pig manure in different operation stages of a thin-layer cascade photobioreactor. Relationship with concentrations in microalgae and manure. *Journal of Environmental Management*, 356, 120340.

Lysenko, V., Kuznetsov, A., & Titov, A. (2021). Chlorophyll fluorescence kinetics and oxygen evolution in *Chlorella vulgaris* cells: Blue vs. red light. *Journal of Plant Physiology*, 265, 153392.

Ohoro, C. R., Adeniji, A. O., Okoh, O. O., & Okoh, A. I. (2019). Distribution and chemical analysis of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the environmental systems: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(17), 49.

Pareja, L., Fernández-Alba, A. R., & Agüera, A. (2022). Determination of multiclass emerging contaminants using QuEChERS method. In *Emerging Contaminants in the Environment* (pp. 335-380). Elsevier.

Pérez, R. A., Silva, M. F., & García-Reyes, J. F. (2023). Ultrasound-assisted extraction methods for the determination of organic contaminants in solid and liquid samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 168, 117204.

Portela-Monge, P., Postigo, C., & Barceló, D. (2022). Determination of contaminants of emerging concern in raw pig manure as a whole: Difference with the analysis of solid and liquid phases separately. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 24(6), 1014-1024.

Rasoul-Amini, S., Montazeri-Najafabady, N., Mobasher, M. A., & Ghasemi, Y. (2014). Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae free cells in batch culture system. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(2), 126-131.

Sarma, H., Gupta, A. K., & Mahapatra, D. M. (2024). Microalgae in removing heavy metals from wastewater – An advanced green technology for urban wastewater treatment.

Journal of Hazardous Materials Advances, 10, 100444.

Shraim, A., Diab, A., & Mohamed, A. (2017). Analysis of some pharmaceuticals in municipal wastewater of Almadinah Almunawarah. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(S2), S719-S729.

Škufca, D., Novak, J. T., & Heath, E. (2021). Determination of 18 bisphenols in aqueous and biomass phase of high rate algal ponds: Development, validation and application.

Chemosphere, 276, 129786.

YPF Química. (n.d.). *Ficha de datos de seguridad: Metanol.*

<https://www.ypf.com/Quimica/Paginas/Fichas-de-Seguridad.aspx>

8. Lista de tablas y figuras

Figura 1: Fotobiorreactor tubular en el Parque Botánico Biotecnológico de Ibiza para la producción de microalgas	5
Figura 2: Metabolización de nutrientes (Nitrógeno y Fósforo) de un agua residual por parte de microalgas, interacción con bacterias y producción de biomasa	6
Figura 3: Ciclo simbiótico entre microalgas y bacterias en el tratamiento de aguas residuales	6
Figura 4: Ciclo de los contaminantes emergentes en el agua residual hasta el consumo humano	11
Figura 5: Mecanismos implicados en la eliminación de CECs por microalgas	15
Figura 6: Fotobiorreactores bajo luz artificial que simula la luz solar en el espectro del visible	31
Figura 7: Espectros de CECs detectados en aguas residuales en los que se observa el perfil isotópico del ión molecular ($[M+H]^+$) (cafeína y ciprofloxacino, respectivamente)	41
Figura 8: Calibrados adiciones patrón y matriz patrón para el ciprofloxacino detectado en agua residual ganadera	42
Figura 9: Espectros MS/MS de contaminantes emergentes detectados en aguas residuales (alprazolam y carbamazepina, respectivamente)	43
Figura 10: Concentración frente a tiempo de algunos CECs en medio Bristol	47
Figura 11: Cinéticas de orden 1 y 2 para varios CECs	49

Tabla 1: Tipos de microalgas, condiciones específicas para la eliminación eficaz de CECs y porcentaje de eliminación (Hena et al., 2021)	16
Tabla 2: Porcentajes de eliminación de CECs en ensayos en laboratorio o en campo, en diferentes tipos de matrices acuosas, con diferentes clases de algas (López-Serna et al., 2024)	17-20
Tabla 3: Concentración de CECs en diferentes matrices con distintos métodos de extracción y análisis (Ogoro, C.R., 2019)	23
Tabla 4: Lista de los 14 analitos y sus propiedades fisicoquímicas	27-29
Tabla 5: Volúmenes (mL) tomados cada 12 horas durante 7 días de cada fotobiorreactor	34
Tabla 6: Puntos de calibración de las rectas de calibrado adiciones patrón para los medios de cultivo	36
Tabla 7: Parámetros de los medios acuosos	38
Tabla 8: Compuestos propios del agua residual urbana	40
Tabla 9: Compuestos propios del agua residual ganadera	40
Tabla 10: Concentraciones de compuestos detectados en aguas residuales	41
Tabla 11: Calibrado matriz patrón para las aguas residuales	42
Tabla 12: Parámetros del calibrado matriz patrón para el Medio Bristol	43
Tabla 13: Porcentajes de eliminación de los CECs	44-46
Tabla 14: Porcentajes de eliminación de los contaminantes emergentes	47
Tabla 15: Cinéticas de degradación y tiempo de vida media en medio Bristol	49