



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

VÍAS DE REMOCIÓN Y ACTIVIDAD ESTROGÉNICA INVOLUCRADAS EN UN SISTEMA  
BASADO EN MICROALGAS PARA TRATAR AGUA RESIDUAL CONTAMINADA CON  
BISFENOL-A Y TRICLOSÁN

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

PRESENTA:  
M. en I. ATENGUEÑO REYES KARINA

TUTOR PRINCIPAL  
DRA. MARÍA TERESA ORTA LEDESMA, INSTITUTO DE INGENIERÍA

COMITÉ TUTOR  
DRA. ALMA CONCEPCIÓN CHÁVEZ MEJÍA, INSTITUTO DE INGENIERÍA  
DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA, IMTA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, MARZO, 2024



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

Presidente: Dra. Mijaylova Nacheva Petia  
Secretario: Dra. Chávez Mejía Alma Concepción  
1 er. Vocal: Dra. Váldez Vázquez Idania  
2 do. Vocal: Dr. González Sánchez Armando  
3 er. Vocal: Dra. Orta Ledesma María Teresa

Lugar o lugares donde se realizó la tesis:

Instituto de Ingeniería, UNAM, Ciudad Universitaria  
Laboratorio de Ingeniería Ambiental, LIA

**TUTOR DE TESIS:**

Dra. Orta Ledesma María Teresa

-----  
**FIRMA**

*(Segunda hoja)*



**El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM que cuenta con certificado de conformidad otorgado por el organismo acreditado Certificación Mexicana, S.C., por haber implementado y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad de conformidad con los requisitos de la norma internacional ISO 9001:2015**

**No. de Certificado CMX C SGC 285 2023, válido en el período del  
12 de octubre de 2023 al 11 de octubre de 2026**

## Agradecimientos

Al CONAHCyT por el apoyo brindado durante la elaboración de este trabajo. CVU: 779848

Al posgrado de Maestría y Doctorado en Ingeniería Ambiental por la aceptación al programa y por la orientación recibida a lo largo de mi estancia.

Al proyecto “Intensificación de los procesos para la obtención de biocompuestos a partir de agua residual” perteneciente a los Grupos Interdisciplinarios de Investigación (GII) del Instituto de Ingeniería de la UNAM (II UNAM).

Al Laboratorio de Ingeniería Ambiental (LIA) del Instituto de Ingeniería de la UNAM por las facilidades brindadas para la realización de la experimentación correspondiente.

Al personal del LIA por la asesoría y apoyo brindado durante la experimentación correspondiente.

A la Mtra. Isaura Yáñez por la capacitación y asesoría recibida en el uso del cromatógrafo de gases y la técnica BLYES.

A la Dra. Rosario Iturbe y la maestra Adriana Ramírez por todo su apoyo y disposición para el uso del cromatógrafo de gases.

Al Dr. Ignacio Monje Ramírez, por su apoyo y contribuciones a la mejora del presente trabajo.

A la Dra. Sharon Velásquez Orta por sus contribuciones y asesoría recibida durante el presente trabajo.

Al Dr. Armando González Sánchez por toda la ayuda recibida, así como los comentarios emitidos para la mejora de este trabajo.

A la Dra. Idania Váldez Vázquez por sus contribuciones y tiempo dedicado a la revisión de este trabajo.

A las doctoras Petia Mijaylova Nacheva y Alma Chávez Mejía por su asesoría a lo largo de estos ocho semestres, así como su tiempo y paciencia. Muchas gracias doctoras por su acompañamiento a lo largo de todo este tiempo.

A la Dra. María Teresa Orta por aceptarme como su alumna, por su asesoría, apoyo y paciencia. Gracias por toda su ayuda doctora.

A los compañeros del cubículo 410 del edificio 5 del Ingen, por su ayuda, especialmente a Isael y Eduardo Tecuapa por su apoyo en la técnica BLYES. A Andrea† y Dani Montañó por todo el conocimiento que compartieron conmigo. A Isaac por ser siempre tan amable. A Víctor y Eduardo por ser grandes compañeros. A Sandra y Adrián por todo su apoyo. Y a Erick Corona por toda su ayuda al validar la técnica de cromatografía, sin ti no lo hubiera logrado.

A mis amigos de generación de IQ36, Ale, Kevin, Carlos, Myrna, Fidel, Julio, Diana, Chío, por seguir siendo parte de mi vida aún después de la carrera.

A mis amigas Jocelyn y Johana por siempre estar ahí cuando las necesito.

A Isaac por ser tan buen amigo y aguantar todas las tonterías que digo.

A Cheems por llegar a mí de mil maneras y hacerme sonreír.

A Paquito, por ser tan gran amigo y siempre molestarme.

A mi familia, por siempre apoyarme y estar conmigo cuando más los necesito. Gracias por ser mi apoyo siempre.

A mis dos gatas, Mako y Lince por sus maullidos y ronroneos que siempre me daban ánimo de seguir adelante. Ellas han sido toda mi alegría, las adoro.

Y, sobre todo, a la UNAM, por ser parte de mi vida desde el CCH, le debo mucho a esta hermosa universidad.

*La ciencia, muchacho, está hecha de errores, pero de errores  
útiles de cometer, pues poco a poco, conducen a la verdad*  
Julio Verne

## ÍNDICE

Índice de Tablas.....	viii
Índice de Figuras .....	ix
Índice de Gráficos.....	x
<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
<b>2. ANTECEDENTES.....</b>	<b>5</b>
<b>3. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>12</b>
3.1 Contaminantes emergentes .....	12
3.1.1 Efectos de los contaminantes emergentes .....	14
3.1.2 Efectos en el medio ambiente.....	18
3.1.2 Bisfenol-A .....	19
3.1.3 Triclosán .....	21
3.1.4 Disruptores endocrinos .....	28
3.1.5 Determinación analítica de contaminantes emergentes.....	29
3.2 Actividad estrogénica.....	33
3.2.1 Medición de la actividad estrogénica .....	33
3.2.2 BioLuminescence Yeast Estrogen Screen (BLYES) .....	34
3.3 Remoción de contaminantes emergentes .....	36
3.3.1 Adsorción .....	36
3.3.2 Membranas .....	36
3.3.3 Procesos de oxidación avanzada .....	36
3.3.4 Tratamientos biológicos .....	37
3.4 Remoción de contaminantes emergentes usando microalgas.....	37
3.4.1 Cultivo y cosecha de microalgas .....	37
3.4.2 Vías de remoción de contaminantes emergentes .....	39
3.4.3 Reúso de la biomasa .....	41
3.5 Legislación y normatividad.....	42
3.5.1 México.....	42
3.5.2 América Latina .....	43
3.5.3 Estados Unidos .....	43
3.5.4 Europa.....	43
<b>4. HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y ALCANCES .....</b>	<b>44</b>
4.1 Hipótesis .....	44
4.2 Objetivos.....	44
Objetivo general.....	44
Objetivos específicos .....	44
4.3 Alcances.....	44
<b>5. METODOLOGÍA.....</b>	<b>45</b>
5.1. Parámetros fisicoquímicos de agua residual sintética y curvas de calibración .....	45
5.1.1. Parámetros fisicoquímicos de agua residual sintética .....	45
5.1.2. Curva de calibración de crecimiento de microalgas .....	46
5.2. Efecto toxicológico .....	47
5.3. Validación BLYES/GC-MS.....	47

5.3.1.	Curva de calibración de contaminantes emergentes .....	48
5.3.2.	Preparación del cultivo de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	49
5.3.3.	Dilución de muestras .....	50
5.3.4.	Preparación de curva estándar 17 $\beta$ -estradiol .....	51
5.3.5.	Análisis de actividad estrogénica .....	52
5.4.	Determinación de las vías de remoción de contaminantes emergentes .....	52
5.4.1	Factores bióticos .....	54
5.4.2	Factores abióticos, fotodegradación indirecta .....	54
5.4.3	Factores abióticos, fotodegradación directa .....	54
5.4.4	Blanco .....	55
5.4.5	Análisis de las muestras .....	55
5.4.6	Balance de masa .....	58
5.4.7	Diseño experimental .....	59
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>61</b>
6.1	Efecto toxicológico, determinación EC <sub>50</sub> .....	61
6.1.1	Experimentos control (blanco) .....	61
6.1.2	Bisfenol-A .....	62
6.1.3	Triclosán .....	66
6.2	Efecto de los contaminantes emergentes sobre el consorcio microalgal .....	69
6.2.1	Bisfenol-A .....	69
6.2.2	Triclosán .....	74
6.3	Remoción de contaminantes emergentes .....	79
6.3.1	Vías de remoción de BPA y TCS .....	79
6.3.2	Subproductos de degradación .....	88
6.4	Actividad estrogénica .....	92
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>100</b>
<b>8</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>101</b>
<b>9</b>	<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>102</b>
<b>10</b>	<b>PRODUCTOS DERIVADOS DEL PROYECTO .....</b>	<b>114</b>
<b>11</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>122</b>
A.	Curva de calibración de DQO .....	122
B.	Medios de cultivo .....	123
B1	Medio de cultivo OECD .....	123
B2.	Yeast Minimal complementado (YMM leu-, ura- comp) .....	124
B3.	Preparación del stock de <i>S. cerevisiae</i> .....	125
B4.	Medio BG-11 .....	125
C.	Preparación de soluciones .....	125
D.	Curvas de calibración para crecimiento de microalgas .....	126
E.	Validación GC/MS-BLYES .....	128
	Cromatografía de gases .....	128
	Actividad estrogénica .....	130

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Remoción de contaminantes emergentes usando microalgas.....	6
<b>Tabla 2.</b> Mecanismos de remoción de contaminantes emergentes usando microalgas .....	8
<b>Tabla 3</b> Trabajos realizados en los que reportan la presencia de triclosán y bisfenol-A en agua residual en la Ciudad de México y la Zona Metropolitana .....	11
<b>Tabla 4</b> Listado de contaminantes emergentes prioritarios para México, Muñoz (2012) .....	13
<b>Tabla 5.</b> Contaminantes emergentes y sus efectos a la salud y el ambiente .....	15
<b>Tabla 6</b> Efectos de los contaminantes emergentes en fauna (adaptado de Reed, 2016).....	18
<b>Tabla 7</b> Propiedades fisicoquímicas del bisfenol-A.....	20
<b>Tabla 8</b> Propiedades fisicoquímicas del triclosán .....	22
<b>Tabla 9</b> Presencia de contaminantes emergentes en diversas muestras (ambientales, alimentarias y en humanos).....	23
<b>Tabla 10</b> Clasificación de los biosensores (Rodriguez-Mozaz, et al, 2003).....	34
<b>Tabla 11.</b> Tipos de reactores para cultivo de microalgas .....	38
<b>Tabla 12.</b> Métodos para la caracterización de agua residual .....	45
<b>Tabla 13.</b> Composición del agua residual sintética (ARS).....	46
<b>Tabla 14.</b> Condiciones experimentales para la determinación de vías de remoción y efecto de BPA y TCS .....	55
<b>Tabla 15.</b> Parámetros a determinar por cada experimento de determinación de vías de remoción .....	56
<b>Tabla 16</b> Diseño de bloques para determinación de mecanismos de remoción.....	60
<b>Tabla 17.</b> Porcentajes de inhibición y crecimiento en la determinación de la EC <sub>50</sub> para BPA.....	63
<b>Tabla 18.</b> Concentraciones usadas de BPA en experimentos con microalgas .....	64
<b>Tabla 19.</b> Porcentajes de inhibición y crecimiento en la determinación de la EC <sub>50</sub> para TCS .....	66
<b>Tabla 20.</b> Concentraciones usadas de TCS en experimentos con microalgas .....	68
<b>Tabla 21.</b> Porcentajes cuantificados con respecto a los controles. Experimentos con BPA.....	70
<b>Tabla 22</b> Porcentajes cuantificados con respecto a los controles. Experimentos con TCS .....	75
<b>Tabla 23.</b> Remoción de bisfenol-A .....	80
<b>Tabla 24.</b> Cambio en el pH para experimentos en presencia de BPA.....	82
<b>Tabla 25.</b> Remoción de triclosán .....	83
<b>Tabla 26.</b> Cambio de pH en experimentos en presencia de triclosán .....	85
<b>Tabla 27.</b> Subproductos de degradación de BPA.....	89
<b>Tabla 28.</b> Subproductos de degradación de TCS .....	91
<b>Tabla 29.</b> Remoción de contaminantes emergentes y actividad estrogénica por tratamientos de microalgas, fotodegradación y oxidación .....	96

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Rutas de entrada de contaminantes emergentes en el ambiente y en el agua residual. Adaptado de Cortes y Calderón (2011) .....	13
<b>Figura 2</b> Ingesta y transporte de contaminantes y nutrientes, sistema planta – suelo (adaptado de Adeel et al, 2017).....	19
<b>Figura 3.</b> Glándulas endocrinas en el cuerpo humano (Romano, 2012) .....	28
<b>Figura 4</b> Diagrama de bloques de un espectrómetro de masas (Smith y Thakur, 2017) .....	32
<b>Figura 5</b> Configuración de <i>S. cerevisiae</i> para BLYES (adaptado de Sanseverino et al, 2005).....	35
<b>Figura 6</b> Procesos involucrados en la remoción de contaminantes emergentes usando microalgas como tratamiento (adaptado de Wang et al, 2017).....	41
<b>Figura 7.</b> Diagrama de flujo general de la metodología a usar.....	45
<b>Figura 8.</b> Diagrama general de flujo para la validación de la técnica GC/MS-BLYES .....	48
<b>Figura 9</b> Diagrama de la preparación del medio de cultivo y el cultivo de la levadura <i>S. cerevisiae</i> .	50
<b>Figura 10</b> Dilución de muestras.....	51
<b>Figura 11</b> Preparación de curva estándar 17 $\beta$ -estradiol; (A) Soluciones stock de 17 $\beta$ -estradiol, (B) Diluciones seriadas de 17 $\beta$ -estradiol.....	51
<b>Figura 12</b> Esquema para el llenado de las placas serológicas .....	52
<b>Figura 13</b> Arreglo experimental para la determinación de las vías de remoción de contaminantes emergentes.....	53
<b>Figura 14.</b> Determinación de $EC_{50}$ para BPA 17 mg/L, (1a) 0 horas, (1b, 1c) 72 horas. TCS 325 $\mu$ g/L, (2a) 0 horas, (2b, 2c) 72 horas. Vista al microscopio Carl Zeiss Microscopie Axo Lab.A1 aumento 100X .....	69
<b>Figura 15.</b> Cromatogramas de la remoción de BPA, para ambas concentraciones de SST iniciales y fotodegradación directa e indirecta. Se muestra la remoción a los días 0, 7 y 15. ....	82
<b>Figura 16.</b> Constantes de disociación de BPA (Rovani et al., 2020).....	83
<b>Figura 17.</b> Cromatogramas de la remoción de TCS, para ambas concentraciones de SST iniciales y fotodegradación directa e indirecta. Se muestra la remoción a los días 0, 7 y 15. ....	85
<b>Figura 18.</b> Disociación de triclosán (Dhillon et al., 2015) .....	85

## Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1.</b> Controles (en presencia y ausencia de metanol) en el crecimiento de <i>Desmodesmus sp.</i> y <i>S. obliquus</i> . Experimentos control realizados para BPA .....	61
<b>Gráfico 2.</b> Controles (en presencia y ausencia de metanol) en el crecimiento de <i>Desmodesmus sp.</i> y <i>S. obliquus</i> .....	62
<b>Gráfico 3</b> Crecimiento del consorcio microalgal al ser expuesto a BPA .....	63
<b>Gráfico 4.</b> Porcentaje de inhibición de crecimiento <i>Desmodesmus sp.</i> y <i>S. obliquus</i> en presencia de bisfenol-A.....	65
<b>Gráfico 5.</b> Porcentaje de inhibición de crecimiento de <i>Desmodesmus sp.</i> y <i>S. obliquus</i> en presencia de triclosán .....	67
<b>Gráfico 6</b> Cambio con respecto al control. Consorcio microalgal expuesto a dos concentraciones distintas de BPA y dos concentraciones distintas de biomasa microalgal. (*P<0.05). .....	71
<b>Gráfico 7</b> Porcentaje de remoción de nutrientes en agua residual sintética en presencia de BPA. (*P<0.05). Nitrógeno amoniacal en presencia de BPA= 17 mg/L mostró tener una remoción ≈100%, por lo que las barras de ambas concentraciones de inóculo no se graficaron. ....	74
<b>Gráfico 8</b> Porcentaje de incremento con respecto al control. Consorcio microalgal expuesto a dos concentraciones distintas de TCS y dos concentraciones distintas de biomasa microalgal. (*P<0.05)77	77
<b>Gráfico 9</b> Porcentaje de remoción de nutrientes en agua residual sintética en presencia de TCS. (*P<0.05).....	78
<b>Gráfico 10.</b> Vías de remoción para BPA .....	81
<b>Gráfico 11.</b> Vías de remoción para TCS.....	84
<b>Gráfico 12.</b> Remoción de BPA y TCS y actividad estrogénica en el medio acuoso .....	92
<b>Gráfico 13.</b> Actividad estrogénica y sorción de BPA y TCS .....	93
<b>Gráfico 14.</b> Remoción de BPA y TCS por acción de la fotodegradación y disminución en la actividad estrogénica.....	94

## RESUMEN

En este estudio, se inició con la determinación de la concentración efectiva media ( $EC_{50}$ ) de bisfenol-A (BPA) y triclosán (TCS), individualmente, para el consorcio microalgal con predominancia de *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus* sp, resultando en 17 mg/L para BPA y 325  $\mu$ g/L para TCS. Los valores de  $EC_{50}$  obtenidos, se usaron para evaluar el efecto que ambos contaminantes emergentes tienen en la remoción de nutrientes, el contenido de biomoléculas y el crecimiento de las microalgas. La concentración de contaminantes emergentes, se cuantificaron por cromatografía de gases y la actividad estrogénica fue determinada con la técnica BioLuminiscent Yeast Estrogen Screen (BLYES) la cual fue validada en el laboratorio.

Los experimentos con el consorcio de microalgas, se realizaron con dos distintas concentraciones de microalgas vivas, reportadas como sólidos suspendidos totales (SST) de  $\approx 300$  mg/L y  $\approx 500$  mg/L, estos experimentos se llevaron a cabo en agua residual sintética. También se realizaron experimentos en los que se evaluó la fotodegradación (lámparas luz blanca fría  $\approx 100$   $\mu$ mol/s  $m^2$ ) de los contaminantes emergentes en ausencia de microalgas.

Se observó un incremento significativo ( $P < 0.05$ ) en el crecimiento de microalgas, medido como SST, clorofila "a" (Chl-a), lípidos y proteínas en presencia de BPA y TCS. Este incremento intensifica el contenido de biomoléculas (carbohidratos, lípidos y proteínas) de interés comercial, así mismo, la medición y monitoreo de las biomoléculas es un indicador de la exposición de las microalgas a estrés por compuestos emergentes. Del mismo modo, la remoción de nutrientes como nitratos, nitrógeno amoniacal, ortofosfatos y alcalinidad tuvieron una remoción mayor con respecto al control en presencia de BPA y TCS.

La eliminación de BPA fue mayor al 95% para ambos SST iniciales, la biodegradación contribuye con un porcentaje superior al 40% de remoción para ambas concentraciones de SST. Para TCS la remoción fue de 61.1% y 86.26% para SST  $\approx 300$  mg/L y  $\approx 500$  mg/L, respectivamente. Siendo fotodegradación y biodegradación las vías que más contribuyen a la remoción de TCS. En este estudio, se confirmó que la biodegradación y la fotodegradación son las vías de remoción que degradan en mayor cantidad el BPA y TCS, respectivamente.

El tratamiento con microalgas presentó una mayor disminución de la actividad estrogénica de TCS a SST  $\approx 500$  mg/L de microalgas, con una remoción del 33.35%. este porcentaje corresponde a la combinación de las vías de remoción biodegradación, sorción y fotodegradación. Individualmente, la fotodegradación indirecta disminuye la actividad estrogénica asociada a TCS de 17.99%. Para el caso de BPA en los experimentos en presencia de microalgas y fotodegradación, se observaron incrementos en la actividad estrogénica con respecto al día cero.

## ABSTRACT

This study began with the determination of the median effective concentration ( $EC_{50}$ ) of bisphenol-A (BPA) and triclosan (TCS) individually for the microalgal consortium dominated by *Scenedesmus obliquus* and *Desmodesmus* sp. This resulted in 17 mg/L for BPA and 325  $\mu\text{g/L}$  for TCS. The  $EC_{50}$  values obtained were used to evaluate the effect of both emerging contaminants on nutrient removal, biomolecule content and microalgal growth. The concentration of the emerging contaminants was quantified by gas chromatography and estrogenic activity was determined using the laboratory validated BioLuminiscent Yeast Estrogen Screen (BLYES) technique.

The experiments with the microalgae consortium were conducted with two different concentrations of live microalgae, reported as total suspended solids (TSS) of  $\approx 300$  mg/L and  $\approx 500$  mg/L, these experiments were conducted in synthetic wastewater. Experiments were also conducted to evaluate the photodegradation (cold white light lamps  $\approx 100$   $\mu\text{mol/s m}^2$ ) of emerging contaminants in the absence of microalgae.

A significant increase ( $P < 0.05$ ) in microalgal growth, measured as TSS, chlorophyll "a" (Chl-a), lipids and proteins, was observed in the presence of BPA and TCS. This increase intensifies the content of biomolecules (carbohydrates, lipids and proteins) of commercial interest; likewise, the measurement and monitoring of biomolecules is an indicator of the exposure of microalgae to stress by emerging compounds. Similarly, the removal of nutrients such as nitrates, ammonia nitrogen, orthophosphates and alkalinity had a higher removal compared to the control in the presence of BPA and TCS.

BPA removal was greater than 95% for both initial TSS, with biodegradation contributing more than 40% removal for both TSS concentrations. For TCS, removal was 61.1% and 86.26% for TSS  $\approx 300$  mg/L and  $\approx 500$  mg/L, respectively. Photodegradation and biodegradation were the pathways that contributed most to the removal of TSS. This study confirmed that biodegradation and photodegradation are the removal pathways that contribute most to the removal of BPA and TCS, respectively.

Treatment with microalgae showed a greater decrease in the estrogenic activity of TCS at TSS  $\approx 500$  mg/L of microalgae, with a removal of 33.35%, which corresponds to the combination of the removal pathways of biodegradation, sorption and photodegradation. Individually, indirect photodegradation reduces the estrogenic activity associated with TCS by 17.99%. In the case of BPA, in the experiments in the presence of microalgae and photodegradation, increases in estrogenic activity were observed with respect to day zero.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los contaminantes emergentes son compuestos (de origen antropogénico) producidos en la última década hasta hoy, estos se encuentran presentes en el agua en órdenes de  $\mu\text{g/L}$  o  $\text{ng/L}$  y presentan efectos adversos a la salud y al ambiente. Su principal característica es que no se pueden remover por procesos convencionales de tratamiento de agua (Barceló y López, 2007; Stuart, *et al.*, 2012 Pal *et al.*, 2010). Estos contaminantes provienen de sustancias de uso común en la vida cotidiana y de uso industrial, como lo son fármacos, productos de cuidado personal, hormonas y esteroides (naturales y sintéticos), pesticidas, herbicidas, plaguicidas, detergentes, plastificantes, medicamentos veterinarios, aditivos alimentarios, retardadores de llama, entre otros (Barceló y López, 2007; Herrero *et al.*, 2012).

Entre los efectos adversos que causan al ambiente y la salud es el hecho de que son disruptores del sistema endocrino, es decir imitan las hormonas interfiriendo con los procesos naturales endocrinos, tanto en humanos como en animales (Liu *et al.*, 2009). En el caso de este tipo de contaminantes al afectar el sistema endocrino la respuesta a las dosis de exposición no es lineal, por lo que se ha optado por ensayo tanto *in vivo* (uso de huevos de peces), como *in vitro* (uso de levaduras) para determinar la estrogenicidad (Romano, 2012).

Debido a que la presencia ambiental de los contaminantes emergentes es del orden de  $\mu\text{g/L}$  o  $\text{ng/L}$ , las técnicas de análisis han ido mejorando para poder detectar las bajas concentraciones en las que se presentan en el ambiente. Las principales técnicas utilizadas son la cromatografía, ya sea de gases o líquidos, acoplada a espectrometría de masas, esta combinación no solo permite la cuantificación, también la identificación de los contaminantes presentes, haciendo uso de muestras con poco volumen (McNair y Miller, 2009; Agüera *et al.*, 2012; Nikolaou, 2013).

Como ya se mencionó, estos contaminantes no se remueven en procesos convencionales de tratamiento de agua, por lo que se ha hecho uso de procesos terciarios como: la adsorción/absorción, filtración con membranas de ósmosis inversa y nanofiltración; procesos de oxidación avanzada, procesos biológicos aerobios y anaerobios como lodos activados, acoplados a un tratamiento terciario (Rivera-Utrilla *et al.*, 2013; García-Rodríguez *et al.*, 2014; Boshir *et al.*, 2017; Shammas, 2007; Bolong *et al.*, 2009; Rodríguez-Narvaez *et al.*, 2017) y más recientemente el uso de microalgas.

Los tratamientos biológicos basados en el uso de microalgas han usado sistemas de estanques de algas de alta tasa (High rates algal ponds, HRAP), foto reactores (tanques agitados, paneles, reactores tubulares). Los géneros de microalgas utilizadas tanto a nivel laboratorio como escala piloto son *Scenedesmus*, *Chlamydomonas*, *Selenastrum*, *Chlorella*, *Nannochloris*; mezclas de *Chlorella*, diatomeas y *Stigeoclonium*; *Chlorella*, diatomeas, *Chlorella* y *Scenedesmus* o el uso de consorcio alga – bacteria (Matamoros *et al.*, 2015; Matamoros *et al.*, 2016; Xiong *et al.*, 2016).

El uso de microalgas o consorcio alga – bacteria para la remoción de contaminantes emergentes involucra mecanismos como adsorción y absorción (biosorción), proceso en el cual los contaminantes



emergentes (CE) pasan de la fase líquida a la matriz orgánica de la célula. En la biodegradación existe la ruptura de los CE debido a la catálisis por enzimas producidas por microorganismos. La fotodegradación es llevada a cabo por la acción de la luz solar pudiendo ser la fotodegradación directa (el compuesto es fragmentado por la absorción directa de la luz) o indirecta (la fragmentación del compuesto ocurre por exposición a radicales libres). La volatilización se debe a la remoción de contaminantes emergentes con altos valores de la constante de Henry, dependiendo del flujo de aire al que es expuesto el reactor (Gadd, 2009; Norvil *et al*, 2016; Wang *et al*, 2017).

## 2. ANTECEDENTES

En México se ha comprobado la presencia de contaminantes emergentes en diversas matrices ambientales como agua residual, agua subterránea, reutilización de agua residual en agricultura dando lugar a su transporte en la recarga de acuíferos, agua superficial, agua de pozo, agua de manantial (Gibson *et al.*, 2007; Chávez *et al.*, 2011; Felix-Cañedo *et al.*, 2013).

Como ya se mencionó anteriormente, los contaminantes emergentes se caracterizan por su persistencia en las matrices que los contienen, siendo difíciles de remover en sistemas convencionales. Sin embargo, el uso de microalgas para su remoción es una opción de tratamiento.

En la Tabla 1, se resumen algunos trabajos realizados para la remoción de estos contaminantes, se enlistan los contaminantes emergentes removidos, las especies de microalgas usadas, el porcentaje de remoción, la matriz en la que se realizaron los experimentos, el tipo de análisis instrumental efectuado, condiciones experimentales y si se llevó a cabo la determinación de la actividad estrogénica.

Existen mecanismos involucrados en la remoción de contaminantes emergentes usando microalgas, en la Tabla 2 se recopilan trabajos publicados para la determinación del mecanismo de remoción, se enlistan los contaminantes emergentes utilizados, especie de microalgas, porcentaje de remoción, mecanismos determinados, técnica de análisis instrumental, y condiciones experimentales.

Estas tablas recopilan trabajos reportados tomados como antecedentes, referentes a la remoción de contaminantes emergentes. Como se puede observar, solo hay un trabajo (Tabla 1) en el que se tomó en cuenta la actividad estrogénica del agua residual tratada, y en la Tabla 2 se muestra que los mecanismos de remoción predominantes son la biodegradación y la sorción.

**Tabla 1.** Remoción de contaminantes emergentes usando microalgas

Especie de microalga	Condiciones experimentales	Contaminantes emergentes	Matriz	Porcentaje de remoción	Actividad estrogénica	Análisis	Notas	Referencia
<i>Stigeoclonium</i> sp., diatomeas, <i>Chlorella</i> sp., <i>Monoraphidium</i> sp.	Reactor: HRAP TRH: 10 días Volumen: 0.47 m <sup>3</sup> Escala: Piloto	Cafeína, acetaminofén, ibuprofeno, metil dihidrojasmonato, ácido hidrocínámico, Oxibenzona, ketoprofeno, 5-metil benzotriazol, naproxeno, galaxolida, tonalida, tributil fosfato, triclosán, bisfenol-A, octilfenol, diclofenaco, benzotriazol, OH-benzotriazol, trifenil fosfato, cashmeran, diazona, benzotiazol, celestolida, 2,4-D, atrazina, carbamazepina, metil parabeno, tris (2-cloroetil) fosfato	Agua residual urbana	(>90%) Cafeína, acetaminofén, ibuprofeno, metil dihidrojasmonato, ácido hidrocínámico (60 a 90%) Oxybenzona, ketoprofeno, 5-metil benzotriazol, naproxeno, galaxolida, tonalida, tributil fosfato, triclosán, bisfenol-A, octilfenol (40 a 60 %) diclofenaco, benzotriazol, OH-benzotiazol, trifenil fosfato, cashmeran, diazona, benzotiazol, celestolida, 2,4-D, atrazina (<40%) carbamazepina, metil parabeno, tris (2-cloroetil) fosfato	ND	GC/MS	Experimentación hecha en la estación fría y cálida Medición de remoción de nutrientes Los CE fueron determinados en el agua residual	<a href="#">Matamoras et al, 2015</a>
<i>C. mexicana</i> , <i>C. pitschmanni</i> , <i>C. vulgaris</i> , <i>Ourococcus multispurus</i>	Operación: lote Reactor: Matraz TRH: 11 días Volumen: 150 mL Escala: laboratorio	Ciprofloxacino (2 mg/L)	Medio basal de Bold	<i>C. mexicana</i> , 13% <i>C. pitschmanni</i> , 1.6% <i>C. vulgaris</i> , no observado <i>O. multispurus</i> , 2 %	ND	HPLC	El ciprofloxacino fue adicionado	<a href="#">Xiong et al, 2017</a>
<i>Chlorella</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp., <i>Vorticellides</i> sp., <i>Uronema minutum</i>	Operación: lote Reactor: PBR TRH: 8 a 12 días Escala: Piloto	17 $\beta$ -estradiol (2 mg/L)	Agua residual urbana	55 a 100 %	ND	HPLC	Las especies de microorganismos fueron determinadas por PCR, en esta tabla solo se enlistan algunas El 17 $\beta$ -estradiol fue adicionado	<a href="#">Parladé et al, 2018</a>
	Operación: lote Reactor: matraz TRH: 24 horas Escala: laboratorio	17 $\beta$ -estradiol (2 mg/L)	Agua residual urbana	71 a 100%	ND	HPLC		

Especie de microalga	Condiciones experimentales	Contaminantes emergentes	Matriz	Porcentaje de remoción	Actividad estrogénica	Análisis	Notas	Referencia
<i>C. reinhardtii</i> , <i>S. obliquus</i> , <i>C. pyrenoidosa</i> y <i>C. vulgaris</i>	Operación: lote Reactor: matraz TRH: 7 días Volumen: 500 mL Escala: laboratorio	50 compuestos orgánicos	Agua residual municipal	Alrededor de 32 compuestos se removieron con una eficiencia mayor al 50%	YES	RRLC-MS/MS	Los compuestos orgánicos presentes en el agua residual se determinaron por cromatografía	Zhou <i>et al</i> , 2014
<i>M. braunii</i>	Operación: lote Reactor: matraz TRH: 4 días Volumen: 50 mL Escala: laboratorio	Bisfenol-A (2, 4 y 10 mg/L)	Medio FW04	81 a 90 %	ND	HPLC	El BPA fue adicionado	Gattullo <i>et al</i> , 2012
<i>C. vulgaris</i>	Operación: lote Reactor: HRAP TRH: 73 días Volumen: 14 L Escala: piloto	Tetraciclina (2 mg/L)	Agua residual sintética	60% al día 61 y 69 % en el día 76	ND	HPLC	La tetraciclina fue adicionada	De Godos <i>et al</i> , 2012
<i>Chlorella</i> sp. y <i>Scenedesmus</i> sp.	Operación: lote Reactor: matraz TRH: 10 días Volumen: 500 mL Escala: laboratorio	11 contaminantes, concentración inicial de 10 µg/L	Agua de drenaje agrícola	Mecoprop (nr), Atrazina (5), Simazina (6), Diazinón (21), Alacor (74), Clorfenvinfos (22), Lindano (72), Malation (97), Pentaclorobenceno (55), clorpirifos (50), endosulfan (99)	ND	GC/MS	-----	Matamoros y Rodríguez, 2016
	Operación: continuo Reactor: reactores de vidrio TRH: 2, 4 y 8 días Volumen: 5 litros Escala: NE			Mecoprop (nr), Atrazina (2), Simazina (2), Diazinón (14), Alacor (14), Clorfenvinfos (16), Lindano (21), Malation (88), Pentaclorobenceno (99), clorpirifos (15), endosulfan (91)	ND	GC/MS		

TRH: tiempo de retención hidráulica; nr: no removido; NE: no especificado, ND: no determinado; YES: Yeast Estrogen Screen; RRLC: cromatografía de líquidos de rápida resolución; GC: cromatografía de gases; MS: espectrometría de masas; HRAP: estanque algal de alta tasa, PBR: fotobiorreactor de algas; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; BPA: bisfenol-A

**Tabla 2.** Mecanismos de remoción de contaminantes emergentes usando microalgas

Contaminante	Especie de microalga	Tipo de agua	Condiciones experimentales	Mecanismo de remoción	Porcentaje de remoción	Análisis	Notas	Referencia
Diazinón (0.5, 5, 20, 40 y 100 mg/L)	<i>C. vulgaris</i> , 1% de suspensión OD <sub>680</sub>	Medio basal de Bold	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 12 días Volumen: 100 mL Escala: laboratorio	Bioadsorción, biodegradación y bioacumulación	94	HPLC	Se propone la ruta metabólica del diazinón por biodegradación	<i>Kurade et al</i> , 2016
Tetraciclina	<i>C. vulgaris</i>	Agua residual sintética	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 45 horas Volumen: 70 mL Escala: laboratorio	Biosorción, biodegradación y fotodegradación	>50%	HPLC	-----	<i>De Godos et al</i> , 2012
Carbamazepina (1, 10 y 25 mg/L)	<i>C. mexicana</i> y <i>S. obliquus</i>	Medio basal de Bold	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 10 días Volumen: 150 mL Escala: laboratorio	Biodegradación y bioacumulación	<i>C. mexicana</i> : 21 al 35 % biodegradación, 09 al 1.36 % Bioacumulación <i>S. obliquus</i> : 13 al 27.93 % biodegradación, 1.49 al 3.29 % bioacumulación	UPLC-MS	-----	<i>Xiong et al</i> , 2016
Diclofenaco	<i>Scenedesmus</i> sp., <i>Synechocystis</i> sp.  Biomasa muerta	Agua destilada	Operación: batch Reactor: matraz TRH: NE Volumen: 50 mL Escala: laboratorio	Biosorción	-----	HPLC	La biomasa muerta fue liofilizada. Se realizaron experimentos para construir las isotermas de Freundlich y Langmuir	<i>Coimbra et al</i> , 2018
Nonilfenol (NP)	<i>S. quadriauda</i> , <i>C. vulgaris</i> , <i>Ankistrodesmus acicularis</i> y <i>Chroococcus minutus</i>	Medio BG-11	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 120 horas Volumen: 40 mL Escala: laboratorio	Bioadsorción y bioabsorción	Bioadsorción (13 a 26%), bioabsorción (74 al 87%)	HPLC	Se determinó el NP extracelular e intracelular	<i>He et al</i> , 2016
Nonilfenol (1 mg/L)	<i>C. vulgaris</i> , <i>C. miniata</i> , <i>Chlorella</i> sp.	Medio Bristol	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 12, 24, 96 y 168 horas Volumen: 100 mL Escala: laboratorio	Biodegradación	70 a 80 % removido entre las 12 y 24 horas	GC/MS	-----	<i>Gao et al</i> , 2011

Contaminante	Especie de microalga	Tipo de agua	Condiciones experimentales	Mecanismo de remoción	Porcentaje de remoción	Análisis	Notas	Referencia
Nonilfenol 4-t-octilfenol (OP) 0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/L	<i>S. obliquus</i>	Medio BG-11	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 5 días Volumen: 150 mL Escala: laboratorio	Biodegradación y bioacumulación	En el día uno el NP fue removido un 70.9 a 90.4 y el OP de 37.8 a 82.2 %	HPLC	-----	Zhou <i>et al</i> , 2013
Nonilfenol (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/L)	<i>Phaeocystis globosa</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Dunaliella salina</i> y <i>Platymonas subcordiformis</i>	Agua de mar artificial enriquecida con medio F/2	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 5 días Volumen: 150 mL Escala: laboratorio	Biodegradación y biosorción	<i>P. globosa</i> (74.18), <i>N. oculata</i> (72.63), <i>D. salina</i> (79.02) y <i>P. subcordiformis</i> (92.12)	HPLC	Se determinó el NP extracelular e intracelular	Wang <i>et al</i> , 2019
$\beta$ -estradiol, 17 $\alpha$ - estinilestradiol (5 mg/L)	<i>S. capricornutum</i> y <i>C. reinhardtii</i>	Agua residual	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 10 días Volumen: NE Escala: laboratorio	Biodegradación	88 al 100 % de remoción, de este porcentaje del 42 al 54 % es debido a la biodegradación para el $\beta$ -estradiol Para el 17 $\alpha$ -estinilestradiol se obtuvieron remociones del 60 y 90 %, siendo el porcentaje atribuido a la biodegradación del 20 al 54 %	HPLC	-----	Hom-Díaz <i>et al</i> , 2015
Bisfenol-A (10, 20, 50 mg/L)	<i>C. sorokiniana</i>	Medio de sales minerales	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 168 horas Volumen: 100 mL Escala: laboratorio	Biodegradación y bioadsorción	Remoción aproximada de 38.5 %	GC/MS	Se identificaron los intermediarios de la biodegradación, no hay ruta metabólica propuesta	Eio <i>et al</i> , 2015
Cafeína, ibuprofeno, galaxolida, tributil fosfato, 4-octilfenol, tris(2-cloroetil)	Consorcio microalgal, predominan <i>Chlorella</i> sp. y <i>Scenedesmus</i> sp.	Agua residual y agua residual sintética	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 10 días Volumen: 2 L Escala: laboratorio	Volatilización (4-octilfenol, galaxolida y tributil fosfato) Biodegradación (ibuprofeno y cafeína)	Volatilización (99) Biodegradación (59 para cafeína y 95 para ibuprofeno)	GC/MS	La fotodegradación y volatilización no son significantes para la remoción de los 7 contaminantes estudiados.	Matamoras <i>et al</i> , 2016

Contaminante	Especie de microalga	Tipo de agua	Condiciones experimentales	Mecanismo de remoción	Porcentaje de remoción	Análisis	Notas	Referencia
fosfato y carbamazepina				Compuestos recalcitrantes (carbamazepina, y tris(2-cloroetil) fosfato)				
Bisfenol-A	<i>C. mexicana</i> y <i>C. vulgaris</i>	Medio basal de Bold	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 10 días Volumen: 500 mL Escala: laboratorio	Bioacumulación y biodegradación	<i>C. mexicana</i> (39) y <i>C. vulgaris</i> (28)	UPLC	-----	Ji <i>et al</i> , 2014
Ibuprofeno	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Agua de mar estéril	Operación: batch Reactor: tubos TRH: 10 días Volumen: 500 mL Escala: laboratorio	Biosorción	Remoción del 99.99%, para biomasa viva y muerta	HPLC	Se usó biomasa viva y muerta Se determinaron las cinéticas de sorción y las isotermas	Santaeufemia <i>et al</i> , 2018
Levofloxacin	<i>S. obliquus</i>	Agua residual salina sintética	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 11 días Volumen: 150 mL Escala: laboratorio	Bioacumulación seguida de una biodegradación intracelular	4.53% a una concentración de NaCl de 0 mM (solo presencia de <i>S. obliquus</i> ) En presencia de 171 mM de NaCl, la remoción fue de 93.4 %	HPLC	Se determinaron los metabolitos de la degradación de levofloxacin y se propuso una ruta metabólica	Xiong <i>et al</i> , 2017
17 $\beta$ -estradiol (E2) 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) 3mg/L	<i>C. vulgaris</i> ; <i>S. quadricauda</i> ; <i>S. capricornutum</i>  3x10 <sup>7</sup> cel/mL	Medio BG-11	Operación: batch Reactor: matraz TRH: 7 días Volumen: 50 mL Escala: laboratorio	Fotodegradación (F) Biodegradación (B) Sorción (S)	E2 no significativo, EE2 10% (F)  <i>C. vulgaris</i> : E2: 89% (B) y 5% (S) EE2: 55% (B) y 1% (S)  <i>S. quadricauda</i> : E2: 73% (B) y 4% (B) EE2: 57% (B) y 5% (S)  <i>S. capricornutum</i> : E2: 91% (B) y 1% (B) EE2: 83% (B) y 3% (S)	HPLC	Se hace una predicción de actividad estrogénica calculada a partir de la concentración de E2 y EE2, adicional se hace un ensayo Yeast Estrogen Screen	Wu <i>et al.</i> , 2020

NE: no especificado; TRH: tiempo de retención hidráulica; UPLC: cromatografía de líquidos de ultra- alta resolución; HPLC: cromatografía de líquidos de alta resolución; GC: cromatografía de gases, MS: Espectrometría de masas

Dentro del grupo de investigación se ha trabajado con contaminantes emergentes, los cuales incluyen bisfenol-A, triclosán, 4-nonilfenol y estrona. Rocha, (2017); realizó oxidación con ozono para el influente de la PTAR cerro del agua ubicada en Ciudad Universitaria, los contaminantes que removió por ozonización fueron nonilfenol y bisfenol-A. Tecuapa (2017); realizó ozonización de agua de pozo fortificada, removiendo y detectando la actividad estrogénica de los contaminantes nonilfenol, 4-nonilfenol, triclosán, bisfenol-A y estrona. Mientras Orta *et al*, (2019), reportó la evaluación de la estrogénicidad posterior a la cloración y ozonización de agua de pozo fortificada con triclosán, bisfenol-A y 4-nonilfenol.

En la Tabla 3 se enlistan trabajos en los que se reporta la presencia de contaminantes emergentes en la Ciudad de México y la Zona metropolitana del Valle de México (ZMVM) de la presencia de estos contaminantes en agua residual. Se observa que el orden de magnitud de las concentraciones de BPA y TCS están en el orden de  $\mu\text{g/L}$ , de acuerdo a las concentraciones reportadas en agua residual en otras partes del mundo (Tabla 9) las cuantificadas en el agua residual en la ZMVM están dentro del rango de concentraciones reportadas. Sin embargo, las concentraciones de BPA y TCS en México son más altas que las reportadas en otros países. Esto habla de la poca regulación nacional que existe para estos dos contaminantes emergentes.

**Tabla 3** Trabajos realizados en los que reportan la presencia de triclosán y bisfenol-A en agua residual en la Ciudad de México y la Zona Metropolitana

Referencia	Lugar	Concentración ( $\mu\text{g/L}$ )	
		TCS	BPA
Gibson <i>et al.</i> 2007	Emisor Central	0.66 – 2.04	0.77 – 0.77
Chávez <i>et al.</i> , 2011	Valle de Tula	0.32 – 1.821	0.432 – 3.177
Melo-Guimarães <i>et al.</i> , (2013)	Ciudad de México	0.801	0.965
Durán-Álvarez <i>et al.</i> , 2015	Valle de Tula	1.401	-----
Peña-Álvarez y Castillo-Alanís (2017)	PTAR Cerro de la Estrella	0.08 – 10.09	0.03 – 2.46
	PTAR Coyoacán	0.32 – 9.34	0.02 – 4.27
	PTAR Ciudad Universitaria	0.91 – 1.59	0.29 – 0.81
Estrada-Arriaga <i>et al.</i> , 2016	Estado de México	0.531 (RS) 0.383 (DS)	-----
Lesser <i>et al.</i> , (2018)	Valle de Mezquital	$78.4 \times 10^{-3}$ – 1.33	9.34
Ronderos-Lara <i>et al.</i> , 2018	Hidalgo	2.5	---
Calderón <i>et al.</i> , 2019	PTAR Cerro de la Estrella	-----	4.05
	Hospital de especialidades	4.11	9.87
Chávez-Mejía <i>et al.</i> , 2019	Valle de Tula	0.748	1.586

PTAR: Planta de tratamiento de agua residual; RS: estación lluviosa; DS: estación seca

### 3. MARCO TEÓRICO

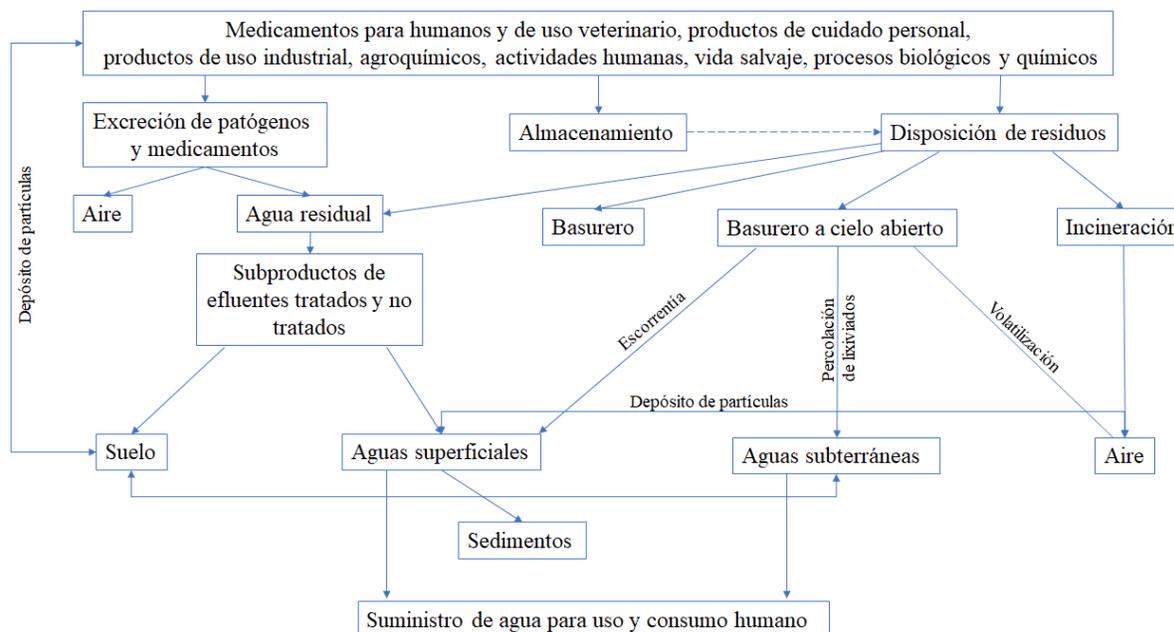
#### 3.1 Contaminantes emergentes

El término contaminantes emergentes (CE) se refiere a compuestos xenobióticos producidos en la última década hasta hoy en día y que se encuentran presentes en el ambiente acuático, su presencia en el ambiente no se considera significativa en términos de concentración (detectados en el orden de partes por trillón, ppt) pero tienen un impacto ecológico y efectos adversos en la salud (Barceló y López, 2007; Stuart, *et al.*, 2012).

El origen de los contaminantes emergentes es antropogénico, ya sea sintetizados o producidos por actividades humanas (Tejada *et al.*, 2014). Entre las sustancias químicas que son fuentes de contaminantes emergentes se encuentran los productos de cuidado personal, hormonas y esteroides, pesticidas y plaguicidas, subproductos de desinfección, detergentes y agentes tensoactivos, plastificantes, productos veterinarios, aditivos alimentarios, retardadores de llama, aditivos de gasolina (Barceló y López, 2007; Herrero *et al.*, 2012).

La forma en que estos contaminantes se incorporan al ambiente es por medio de vías como el agua residual de tipo doméstico e industrial (Fent *et al.*, 2006), residuos de plantas de tratamiento (Kolpin, *et al.*, 2002), aguas residuales de hospitales (Kümmerer, 2001), y de las actividades agrícolas y ganaderas (Watanabe, *et al.*, 2010). Estos no se pueden remover por procesos convencionales de tratamiento de agua (Barceló y López, 2007; Stuart, *et al.*, 2012 Pal *et al.*, 2010) por lo que persisten en los efluentes de los tratamientos de agua residual ya que los procesos no están diseñados y optimizados para remover este tipo de contaminantes. Su remoción es difícil debido a su alta estabilidad, baja biodegradabilidad, bajo coeficiente de absorción (Gupta, *et al.*, 2015).

En la Figura 1, se muestran las rutas de entrada de los contaminantes emergentes en el ambiente y en el agua potable.



**Figura 1.** Rutas de entrada de contaminantes emergentes en el ambiente y en el agua residual. Adaptado de Cortes y Calderón (2011)

Los CE son sustancias tóxicas bioacumulables capaces de llegar a reservorios de aguas de consumo humano a través de aguas residuales y corrientes subterráneas (Reinoso *et al*, 2017). En el ambiente, estos contaminantes están sujetos a procesos como la biodegradación, la degradación química y la degradación fotoquímica, debido a estas altas tasas de transformación y/o remoción compensan su introducción al ambiente. Algunos de los subproductos derivados de las transformaciones que sufren los contaminantes emergentes son más persistentes que los compuestos originales exhibiendo mayor toxicidad (Tejada *et al*, 2014).

A pesar de los efectos adversos y de la persistencia de los CE y sus subproductos no existe un listado prioritario para regulación. Hasta junio de 2004 se reportan 88.3 millones de sustancias químicas orgánicas e inorgánicas, pero de esta cantidad solo el 0.03% está regulada por alguna agencia internacional (Ramírez-Sánchez *et al*, 2015). Muñoz (2012), propuso un listado de 49 contaminantes de importancia en México tomando en cuenta los volúmenes de uso, la relevancia en salud pública, y el interés en su toxicidad los cuales se presentan ; en la Tabla 4.

**Tabla 4** Listado de contaminantes emergentes prioritarios para México, Muñoz (2012)

Grupo	Compuesto
Esteroides y hormonas	Estradiol
	Testosterona
	Estrona
	$\alpha$ -etinilestradiol
	$\beta$ -etinilestradiol
Productos para el cuidado personal	Galaxolida
	Tonalida y otros productos de cuidado personal
	Triclosán (enjuague bucal)

	Oxibenzona
	N,N-dietiltoluamida (DEET, repelente de insectos)
Industriales	Pentaclorofenol
	Nonilfenoles
	Bisfenol-A (BPA)
	Compuestos organiestánicos (organotinas)
	Butilbencilftalato (BuBeP)
Fármacos	Ácido mefenámico
	Sulfasalazina
	Ibuprofeno
	Diclofenaco
	Nimesulida
	Ketoprofeno
	Metil de ácido salicílico
	Gemfibrozil
	Ácido clofíbrico y metabolitos
	Benzafibrate
	Carbamacepina
	Salvasartan
	Metilprednisolona
	Tadalafilo
	Dexametasona
	Clofenamina
	Astemisol
	Amlodipino
	Diltiazem
	Pentoxifilina
Avilamicina	
Metoprol	
Citrato de sildenafilo	
Antibióticos	Sulfametoaxol
	Trimetropina
	Ciprofloxacino
	Roxitromicina
	Norfloxacino
	Sulfadiazina
	Cloranfenicol
	Conazol
	Imidazoles y triazoles
	Sulfacloropiridazina

### 3.1.1 Efectos de los contaminantes emergentes

Algunos de los efectos que tienen los CE es la alteración del sistema endocrino, aunque se encuentren en bajas concentraciones, afectan la salud de seres humanos y de especies animales (Liu *et al.*, 2009), siendo pesticidas, fármacos y fitoquímicos los que presentan alteración endocrina (Becerril, 2009). La Agencia de Protección al Medio Ambiente de Estados Unidos define a los disruptores endocrinos (Endocrine Disruptors Chemicals, EDC) como agentes exógenos que interfieren en la síntesis, secreción, transporte, acción o eliminación natural de hormonas en el cuerpo (EPA, 1997). En la Tabla 5, se enlistan las clases, productos que los contienen, y efectos a la salud y al ambiente.

**Tabla 5.** Contaminantes emergentes y sus efectos a la salud y el ambiente

Clase de contaminante	Usos / Origen	Ejemplos	Efectos a la salud y el ambiente	Referencias
Fármacos	Medicamentos, antibióticos	Ibuprofeno Diclofenaco Ácido salicílico Carbamazepina Propranolol Diazepam	Riesgos estrogénicos en el humano y en la fauna. Generación de microorganismos resistentes.	Liu <i>et al.</i> , 2015 Hernando <i>et al.</i> , 2011 Pereira <i>et al.</i> , 2015
Productos de cuidado personal	Ingredientes activos o preservativos en cosméticos, fragancias, shampoo, pasta dental, desodorantes	Triclosán Almizcle (tonalida y galaxolido)	Bioacumulación en organismos acuáticos, pueden dañar el sistema nervioso, efectos (anti)estrogénicos y (anti)androgénicos o ambos	Covaci <i>et al.</i> , 2012
Hormonas y esteroides (naturales y sintéticos)	Antropogénico, uso en el tratamiento de desórdenes hormonales y anticonceptivos	Estriol; Estrona Metabolitos del estradiol Etinil estradiol sintético 17 $\beta$ -estradiol	Causa feminización en peces, son disruptores del sistema endocrino	Vulliet y Cren-Olivé, 2011 González <i>et al.</i> , 2012 Pereira <i>et al.</i> , 2015
Pesticidas y plaguicidas	Agricultura	Aldrin; DDT Diazinon; Carbamatos Triazinas	Disruptores en la cadena alimenticia primaria en los ecosistemas acuáticos. Son de efecto acumulativo, inducen el cáncer de tiroides, modificación de la hormona tiroides	Richardson y Ternes, 2017 Pereira <i>et al.</i> , 2015
Subproductos de la desinfección	Resultado de la oxidación de un desinfectante que reacciona con materia orgánica natural y contaminantes antropogénicos	Halonitrometanos Nitrosanimas Haloamidas Halonitrilos Halofuranonas Haloaldehídos Halopirroles Haloquinonas; Trihalometanos	Carcinógeno Ligados a efectos respiratorios como asma, aumentan el riesgo de infertilidad, pérdida fetal, larga duración gestacional y crecimiento fetal deficiente, anomalías fetales	Hebert <i>et al.</i> , 2010 Richardson y Postigo, 2012
Bisfenol-A	Monómero usado en la producción de policarbonato y resinas epóxicas	Otros nombres: BPA; 2,2-bis(4-hidroxifenil)propano	Migración del BPA en el ambiente o la comida. Alteración en el desarrollo de las vías reproductivas, organización de circuitos sexualmente dimórficos en el hipotálamo, inicio del celo y pubertad precoz, alteración del peso, alteración de la organización de las glándulas mamarias, cáncer de mama y próstata	Covaci <i>et al.</i> , 2012.
Perclorato	Usado en sales de amonio, sodio y potasio como oxidante en propulsores sólidos para cohetes, misiles, bengalas y fuegos artificiales. Aditivos en reactores nucleares,	Sales del ácido perclórico	Bloquean la ingesta de yodo en la glándula tiroides produciendo alteraciones en los niveles de la hormona tiroides, como hipertiroidismo, es bioacumulable en lechuga, trigo y alfalfa	Covaci <i>et al.</i> , 2012

Clase de contaminante	Usos / Origen	Ejemplos	Efectos a la salud y el ambiente	Referencias
	infladores en bolsa de aire, tubos electrónicos, aceites lubricantes, procesos de curtido de piel, pinturas y esmaltes, galvanoplastia y refinado de aluminio. Puede formarse en la atmósfera			
Siloxanos cíclicos	Geles de baño, shampoo, productos para el cabello, desodorantes, loción para bebé, antitranspirantes, chupones	El más simple de estos compuestos es el hexametilciclotrisiloxano (compuesto por tres unidades de —Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> —O—)	Débil efecto estrogénico, efectos adversos en la salud reproductiva de los humanos, reducción en la fertilidad, reducción de los niveles de prolactina, son bioacumulables en el tejido adiposo	Covaci <i>et al</i> , 2012
Compuestos perfluorinados	Equipo contra incendio, espumas, lubricantes, detergentes, tintas, barniz, recubrimientos (paredes, muebles, empaques de alimentos), ceras, repelentes de agua y aceite para papel, textiles y cuero	Ácido perfluorooctano (PFOA) Perfluorooctanosulfonato (PFOS)	Bioacumulación ligada a las proteínas, biomagnificación de la cadena alimenticia con respecto a los efectos toxicológicos, infertilidad, disminución de la calidad del semen	Pérez <i>et al</i> , 2012 Lei <i>et al</i> , 2015
Surfactantes	Tensoactivos aniónicos y no aniónicos usados en detergentes, emulsificantes, pinturas, antiespumantes	Alquilfenoles como el nonilfenoxi dicarboxilato, nonilfenol Sulfonilcarboxilatos Dodecil sulfato de sodio Lauril sulfato de sodio	Imitan hormonas naturales causando la disminución en el conteo de espermatozoides y efectos cancerígenos, se pueden ligar a los fosfolípidos de la membrana celular y proteínas incrementando la permeabilidad, reduciendo la selectividad culminando en la muerte celular	González <i>et al</i> , 2012 Pereira <i>et al</i> , 2015
Retardantes de llama bromados	Encontrados en ropa, muebles, productos electrónicos	Hexabromociclohexanos Tetrabromobisfenol-A	Son compuestos persistentes y que se encuentran bioacumulables, causando neurotoxicidad, disrupción endocrina, cáncer, daños mitocondriales, interferencia en la homeostasis del calcio	Covaci <i>et al</i> , 2012 Pereira <i>et al</i> , 2015
Ésteres organofosforados	Retardantes de flama, plastificantes, acabado de pisos, revestimiento de paredes	Trietil fosfato tri- <i>n</i> -butil fosfato tri- <i>iso</i> -butil fosfato tris(2-etilhexil) fosfato tris(2-butoxietil) fosfato Cloroalquil fosfatos Aрил fosfatos	Efectos en animales: asociados con síntomas colinérgico (salivación, diarrea, poli erección, temblor, ataxia y depresión de la respiración). Incremento de la masa del hígado y riñón, y bajo incremento de masa corporal Efectos en humanos: neuropatía tardía, dermatitis, propiedades disruptoras endocrinas (correlación negativa de la calidad del semen y los niveles de la hormona tiroidea). Afectaciones de las mucosas (irritación de ojos, nariz y garganta)	Covaci <i>et al</i> , 2012

Clase de contaminante	Usos / Origen	Ejemplos	Efectos a la salud y el ambiente	Referencias
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	Combustión de combustibles fósiles, combustión natural de bosques	Pireno; Fluoranteno Fenanteno	Mutagénico, carcinógeno, teratogénico	González <i>et al</i> , 2012
Endulzantes artificiales	Industria alimentaria	Sacarina Ciclamarato Aspartame Sucralosa Alitame; Neotame Dihidrocalcona neohesperidina	Potenciales efectos carcinógenos, posible causante potencial de la enfermedad intestinal inflamatoria que interfiere con las bacterias buenas y las enzimas, alteración de la micro biota y sus funciones metabólicas, puede inducir intolerancia a la glucosa y disbiosis. En el ambiente, afecta la producción de huevos, tasa de incubación y mortalidad en peces	Kokotou <i>et al</i> , 2012 Luo <i>et al</i> , 2019
Nanomateriales	Cosméticos, bloqueadores solares, ropa, pinturas, neumáticos, raquetas de tenis, electrónicos, jabones, shampoo, detergentes, remediación de suelos	Fulerenos; Nanotubos Puntos cuánticos Oxanos metálicos Partículas de TiO <sub>2</sub> Nano plata; Nano oro Nanopartículas de hierro cero valentes	Genotóxicos, daño en el ADN, daño celular (alteración de la permeabilidad y la fluidez)	Richardson 2012 EPA, 2010
Aditivos de gasolinas	Mejoramiento del rendimiento de las gasolinas	Benceno; 1,3-butadieno Metil <i>tert</i> -butil éter	Carcinógeno, psicosis, dolor de cabeza	Lei <i>et al</i> , 2015
Productos farmacéuticos veterinarios	Salud animal	Antimicrobianos Antihelmínticos Esteroides y no esteroideos Antiinflamatorios Antiparasitarios Astringentes Sincronización del celo Suplementos nutricionales Promotores del crecimiento Antibióticos usados en comida para animales	Están presentes en formas bioactivas causando afectaciones a los suelos, agua, microorganismos, plantas, animales y a las personas mediante la cadena alimenticia	Lei <i>et al</i> , 2015
Filtros UV	Uso de cuidado personal, fijadores para el cabello, maquillaje, plásticos, muebles	3-(4-metilbencilideno)canfor Benzofenona-3 2-etilhexil 4-metoxicinnamato 3-benzilideno canfor Homosalato Ácido 4-aminobenzoico	Son disruptores endocrinos, causando interrupción del eje hipotalámico hipófisitiroideo y la función reproductiva y de desarrollo	Lei <i>et al</i> , 2015

### 3.1.2 Efectos en el medio ambiente

#### *Efectos en la fauna*

Los contaminantes emergentes amenazan la vida salvaje debido a la capacidad que tienen de afectar la reproducción, función cerebral y el sistema inmune (Lyons, 2006). Los ambientes acuáticos son considerados el último sumidero debido a la continua liberación humana de contaminantes emergentes en los cuerpos de agua y la habilidad que tienen para migrar a través del agua (Wang y Zhou, 2013), en la Tabla 6 se enlistan los efectos de los contaminantes en especies animales.

**Tabla 6** Efectos de los contaminantes emergentes en fauna (adaptado de Reed, 2016)

<b>Especie</b>	<b>Efectos</b>
Peces	Los peces toman los EDC como PCB y PAH a través de sus branquias y piel. Los EDC comprometen la fisiología y el comportamiento sexual de los peces, incluyendo impactos sobre la diferenciación sexual y deteriora la fertilidad.
Anfibios	Declive en las poblaciones, los EDC impactan individualmente a los anfibios especialmente en las capacidades reproductivos.
Reptiles	Efectos fisiológicos debidos a PBDE, alteración de los niveles de esteroides y de la actividad tiroidea, hermafroditismo o efectos de feminización, desmasculinización.
Aves	Adelgazamiento de los cascarones de huevo, cambios en la tiroides, retinol y homeostasis del glutatión, bajo éxito reproductivo, baja función inmune.
Mamíferos	Alteración de los niveles de esteroides, tiroideos, retinol y cortisol, masculinización, impacto reproductivo, esterilidad, incremento en la susceptibilidad a enfermarse, desordenes no reproductivos incluyendo tumores y deformidades óseas.
Invertebrados	Masculinización, efectos de feminización, esterilidad, baja fecundidad, deterioro reproductivo, anomalías de desarrollo y reproductivas.
Especies árticas	Anormalidades congénitas, interferencia con el proceso regeneracional, disfunción tiroidea, anomalías metabólicas, feminización o desmasculinización, disminución en el éxito reproductivo, anomalías congénitas graves, alteración del desarrollo cerebral y del comportamiento, alteración de las funciones inmunes.

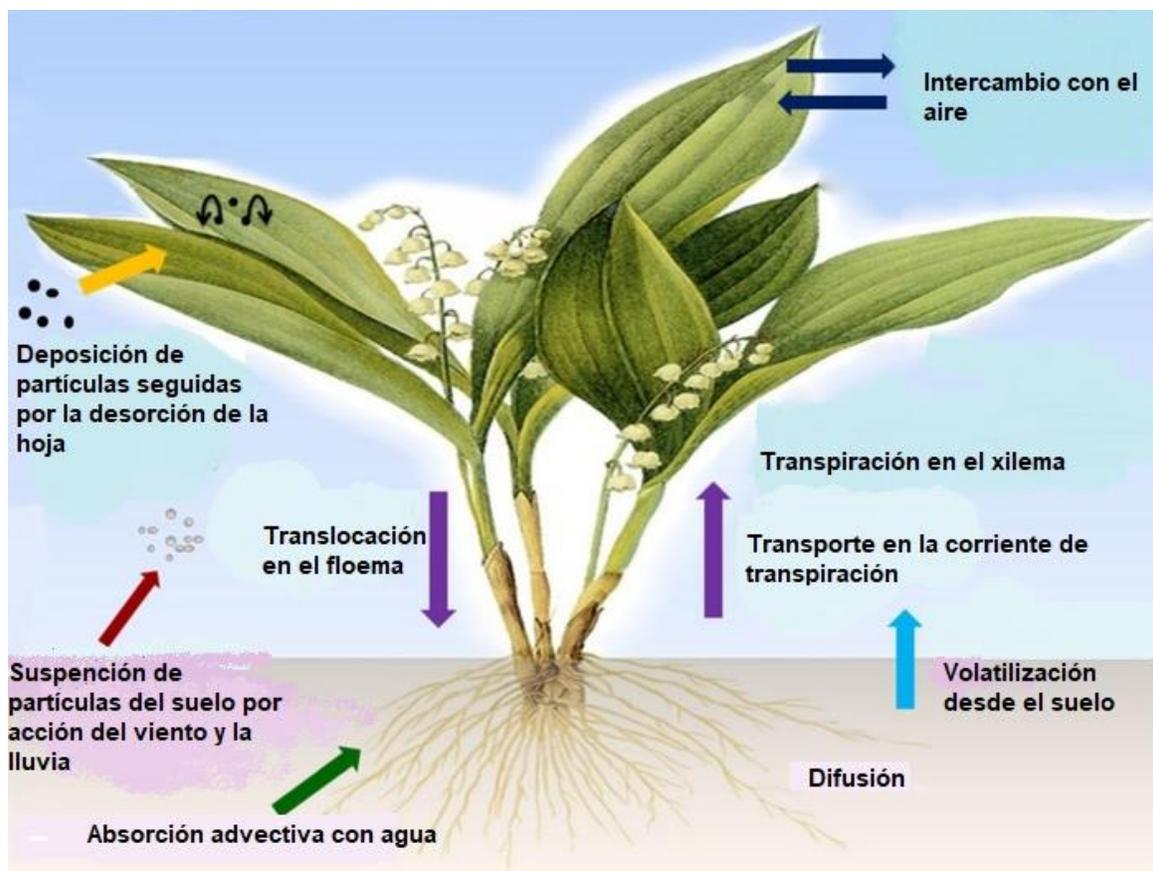
PCB: Bifenilos policlorados; PAH: Hidrocarburos aromáticos policíclicos; PBDE; Bromodifeniléteres

#### *Efectos en la flora*

Los efectos en plantas son principalmente la acumulación en vegetales con muchas hojas siendo relevante en riesgos para la salud humana. Los mecanismos que tienen las plantas para incorporar a su sistema diversos contaminantes presentes en agua y suelos, es por medio de las raíces. Para compuestos no ionizables existe un equilibrio entre los nutrientes y la sustancia contaminante en fase acuosa, seguida de una absorción química en los cuerpos lipofílicos. Los contaminantes no iónicos tienen el potencial de pasar las membranas celulares fácilmente debido al alto potencial para ser tomados por las raíces. Son transportados por el flujo de agua y se acumulan al máximo en las hojas (Adeel *et al*, 2017; Wu *et al*, 2015).

En cuanto a los contaminantes hidrofóbicos, características como el coeficiente de partición octanol / agua ( $K_{OW}$ ) es un factor importante para la absorción y la difusión de los contaminantes orgánicos con  $\log K_w$  de 1 – 3.5 (con un valor de  $\log K_w$  óptimo de 1.8), tiene un alto potencial de absorción debido a un balance de solubilidad lipídica y acuosa. La ionización molecular también muestra una influencia en la acumulación de pesticidas en las plantas, las moléculas cargadas reducen el potencial para la

absorción en plantas debido a que la ionización reduce la capacidad de permear las membranas celulares (Dodgen *et al*, 2013). En la Figura 2, se muestra el proceso de ingesta y transporte de contaminantes y nutrientes que existe en un sistema planta – suelo.



**Figura 2** Ingesta y transporte de contaminantes y nutrientes, sistema planta – suelo (adaptado de Adeel *et al*, 2017)

### 3.1.2 Bisfenol-A

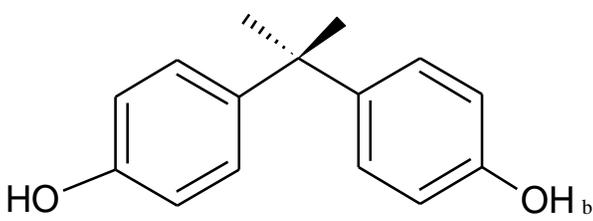
El bisfenol-A (BPA) es un disruptor endocrino, es generalmente usado como monómero en la industria de los polímeros en la producción de resinas epóxicas, policarbonatos, resinas fenólicas, poli acrilatos y poliésteres (Wirasnita *et al.*, 2014). El BPA se encuentra en equipo de salud, compuestos dentales, lentes de contacto, juguetes, láminas de ventanas, además de que se usa en la manufactura de plásticos que están en contacto directo con alimentos (Konieczna *et al*, 2015). El BPA es sintetizado por la condensación de fenol con acetona en presencia de un catalizador que es una resina de intercambio iónico fuertemente ácida (Corrales *et al*, 2015).

El BPA tiene una baja presión de vapor y no tiende a tener una volatilidad significativa, siendo la sorción en suelo significativa (coeficiente de partición carbono/agua), es moderadamente bioacumulable lo que no ocurre a altas dosis, además de ser altamente hidrofóbico esto debido a su coeficiente de partición octanol/agua ( $K_{ow}$ ) (Careghini *et al*, 2015).

El BPA presenta actividad disruptora endocrina en varias especies de invertebrados provocando alteraciones en la reproducción y el desarrollo en los sistemas inmune y nervioso, también afecta órganos y sistemas fisiológicos, en el sistema endocrino imita o bloquea funciones de organismos vivos. Otros efectos adversos a la salud incluyen problemas en la reproducción y desarrollo, enfermedades metabólicas, afectación a la función hormonal de la tiroides, estrés oxidativo, efectos en la expresión genética y epigenética (Martínez de Paz, 2014; Muhamad *et al*, 2016). La ingesta de comida y agua contaminada con BPA es la mayor vía de exposición, mientras la inhalación y el contacto dérmico son vías de exposición comunes para trabajadores involucrados en la manufactura de BPA (Careghini *et al*, 2015).

Las concentraciones reportadas como adversas son de 2.5 nmol/mg proteína causando desacoplamiento mitocondrial (hígado de rata); además de que se han realizado 61 estudios en seres vivos, no humanos; 0.0483 µg/L a 2280 µg/L a estas concentraciones ocasiona mortalidad, problemas en la reproducción, desarrollo y crecimiento (Wright-Walters *et al.*, 2011). Concentraciones letales medias (EC<sub>50</sub>) reportadas para especies de microalgas son: 19.6 mg/L a las 72 horas para *Desmodesmus subspicatus* con una concentración inicial de 10<sup>4</sup> células/mL (Tisler *et al*, 2016). *S. quadricauda* a 96 horas, 13.233 mg/L con una concentración inicial de 2.13 x 10<sup>6</sup> células/L (Xiang *et al.*, 2018). En la Tabla 7, se muestran las propiedades fisicoquímicas del BPA.

**Tabla 7** Propiedades fisicoquímicas del bisfenol-A

Nombre	2,2-bis(4-hidroxifenil)propano <sup>a</sup>
Fórmula	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> <sup>b</sup>
Fórmula desarrollada	OH-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -OH <sup>c</sup>
Peso molecular	228.29 g/mol <sup>b</sup>
Constante de Henry	2.5x10 <sup>5</sup> mol/m <sup>3</sup> Pa <sup>d</sup>
pK <sub>a</sub>	9.6 y 11.3 <sup>a</sup>
Punto de fusión	158 – 159 °C <sup>b</sup>
Punto de ebullición	220 °C a 4 mmHg <sup>b</sup>
Número CAS	80-05-7 <sup>d</sup>
Densidad	14 – 1.195 g/mL a 20 – 25 °C <sup>e</sup>
Solubilidad	120 – 130 mg/L a 25 °C <sup>e</sup>
Presión de vapor	4 x10-8 mm Hg a 25 °C <sup>e</sup>
Tiempo de vida media (días)	38 (agua); 75 (suelo), 340 (sedimentos), 0.2 (aire) <sup>e</sup>
Coefficiente de partición octanol/agua, log K <sub>ow</sub>	3.64 ± 0.32 <sup>e</sup>
Estructura química	

<sup>a</sup> Shareef *et al*, 2006; <sup>b</sup> Wirasnita *et al*, 2014; <sup>c</sup> Li *et al*, 2015; <sup>d</sup> Sander, 2015, <sup>e</sup> Corrales *et al.*, 2015

### 3.1.3 Triclosán

El triclosán (TCS) es un fenol halogenado, no iónico, es categorizado como un hidrocarburo halogenado aromático que tiene estructuras fenólicas, difenil éter y un bifenil policlorado, estas estructuras son similares al BPA, dioxinas, o a las hormonas tiroideas que son moléculas con dos anillos aromáticos (Dhillon *et al.*, 2015; Dann y Hontela, 2010).

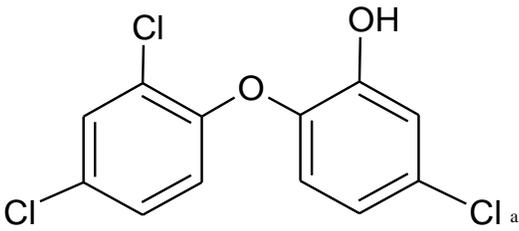
Este constituyente es un agente antibacterial y anti fungicida presente en pastas dentales, jabones antibacteriales, desodorantes, shampoo, detergentes y cosméticos, muebles, juguetes, en aplicaciones industriales como detergentes, líquidos lavaplatos. Las concentraciones reguladas son del 0.3% (Directiva sobre cosméticos de la Comunidad Europea) y 0.1% (por la Food and Drug Administration, FDA) (Lee *et al.*, 2019; Dhillon *et al.*, 2015; Pirard *et al.*, 2012; Dann y Hontela, 2010). Al ser un antibacterial y anti fungicida tiene una amplia gama de actividad siendo eficaz frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas no esporulantes, bacterias, algunos hongos como *Plasmodium falciparum* y *Toxoplasma gondii*, pero algunas bacterias son resistentes como *P. aeruginosa*, pero no tiene actividad sobre endoesporas bacterianas (Zuñiga-Carrasco y Lozano, 2017).

Las vías de absorción de triclosán son la dérmica, a través de las mucosas (boca, tracto intestinal y estomacal), mientras para trabajadores que están involucrados en la producción de esta sustancia química las vías de absorción son la dérmica e inhalación (Olaniyan *et al.*, 2016; Allmyr *et al.*, 2006). Los efectos adversos en la salud del TCS son el bloqueo la síntesis de ácidos grasos por la inhibición de la enzima enoyl reductasa, disfunción tiroidea, diabetes gestacional, aborto espontáneo, disminución de la fecundidad, menarquía temprana en personas con sobrepeso, disminución de la calidad del semen (Dhillon *et al.*, 2015; Dix-Cooper y Kosatsky, 2019). En algas e invertebrados el TCS se acumula, en vertebrados como peces se ha encontrado la presencia de TCS en los organismos, músculos, plasma, bilis; también se bioacumula en mamíferos marinos como delfines (Dan y Hontela, 2010). También induce resistencia bacteriana en ambientes acuáticos y suelos, además de ser acumulable en plantas (Mathews *et al.*, 2014; Olaniyan *et al.*, 2016).

El TCS es un ácido débil, lipofílico y no volátil, tiene afinidad por materia orgánica, moderadamente soluble en agua, es fotodegradable, al ser lipofílico tiende a la bioacumulación en tejido adiposo (Pannu *et al.*, 2012; Mathews *et al.*, 2014; Dhillon *et al.*, 2015; Olaniyan *et al.*, 2016).

Las dosis de 0.8 – 2.8 nmol de TCS/mg de proteína dentro de las células/tejidos inducen efectos adversos, y estas concentraciones se encuentran dentro de los niveles de 0.4 – 64 nmol TCS/mg de proteína tisular que resultan de la exposición dérmica humana a productos que lo contienen (Weatherly y Goose, 2017). Las concentraciones letales medias para microalgas reportadas son de 187.5 µg/L para *S. obliquus* y 325 µg/L para *S. quadricauda* para 96 horas (Bi *et al.*, 2018). *S. subspicatus* 0.7, 2.8 (método guía OECD 201) y 1.4 µg/L (Roberts *et al.*, 2014). En la Tabla 8, se muestran las propiedades fisicoquímicas del triclosán.

**Tabla 8** Propiedades fisicoquímicas del triclosán

Nombre	5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)fenol <sup>a</sup>
Fórmula	C <sub>12</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>b</sup>
Peso molecular	289.54 g/mol <sup>a</sup>
Constante de Henry	4.7x10 <sup>2</sup> mol/m <sup>3</sup> Pa <sup>b</sup>
pK <sub>a</sub>	8.14 <sup>c</sup>
Log K <sub>ow</sub>	4.76 <sup>d</sup>
Presión de vapor a 20 °C	5.2x10 <sup>-6</sup> Pa <sup>c</sup>
Punto de ebullición	280 – 290 °C <sup>a</sup>
Punto de fusión	55 – 57 °C <sup>a</sup>
Densidad	1.49 g/cm <sup>3</sup> <sup>a</sup>
Número CAS	3380-34-5 <sup>b</sup>
Solubilidad en agua a 20 °C	0.012 g/L <sup>a</sup>
Factor de bioconcentración	2.7-90 (organismos acuáticos) <sup>c</sup>
Vida media, fotodegradación (min)	41 (solución acuosa) <sup>c</sup>
Vida media, biodegradación (días)	18 (suelo aerobio) <sup>c</sup>
Estructura química	

<sup>a</sup> Lee *et al.*, 2019; <sup>b</sup> Sander, 2015; <sup>c</sup> Dhillon *et al.*, 2015; <sup>d</sup> Dann y Hontela, 2010

Como se ha visto, los efectos a la salud y ambientales de los dos contaminantes emergentes a estudiar son adversos, por lo que en la Tabla 9, se enlistan trabajos en los que se ha reportado la presencia de estos dos contaminantes emergentes en diversas matrices, como lo son la ambiental (sedimentos, agua, suelo), alimentos (siendo la principal vía de absorción e ingesta) y en humanos (acumulación en tejidos y fluidos).

**Tabla 9** Presencia de contaminantes emergentes en diversas muestras (ambientales, alimentarias y en humanos)

Contaminante emergente	Matriz	Tipo de muestra	País / Ciudad	Concentración	Notas	Referencia
Bisfenol-A	Ambiental	Suelo	Valle de Tula, México	1.6 – 30.2 µg/kg <sup>+</sup>	Campos agrícolas irrigados con agua residual	Gibson <i>et al.</i> , 2010
			Norteamérica	1.15 µg/kg <sup>+</sup>	Datos recolectados entre 1990 – 2006, suelo enriquecido con biosólidos	Staples <i>et al.</i> , 2010
			Europa	0.24 µg/kg <sup>+</sup>		
		Sedimentos	Río Ebro, España	<0.24 – 100 ng/kg <sup>+</sup>	Bahía del río Ebro en 2010	Gorga <i>et al.</i> , 2014
			Alemania	10 – 380 µg/kg <sup>+</sup>	Río Elba	Careghini <i>et al.</i> , 2015
			Taiwán	0.37 – 492 µg/kg <sup>+</sup>	16 ríos principales del país	
			Nueva Zelanda	<50 – 145 µg/kg <sup>+</sup>	Sedimentos de estuario en Auckland	Stewart <i>et al.</i> , 2014
			China	0.96 – 14.44 µg/kg <sup>+</sup>	Río Hangpu y sus afluentes, invierno y verano	Wu <i>et al.</i> , 2013
			España	<0.24 – 117 µg/kg <sup>+</sup>	Ríos Ebro, Llobregat, Júcar y Guadalquivir)	Gorga <i>et al.</i> , 2015
		Aguas subterráneas	Osaka, Japón	740 mg/m <sup>3</sup>	Aguas contaminadas con lixiviados	Careghini <i>et al.</i> , 2015
			Inglaterra	Hasta 20 mg/m <sup>3</sup>	-----	
			Europa	<0.001 – 2.299 mg/m <sup>3</sup>	Estudio sobre aguas subterráneas europeas	Loos <i>et al.</i> , 2010
			Ciudad de México, México	<0.0005 – 0.010 mg/m <sup>3</sup>	Muestreo en la estación lluviosa y seca	Félix-Cañedo <i>et al.</i> , 2013
		Agua superficial	Portugal	0.029 – 0.098 mg/m <sup>3</sup>	Ríos de Portugal	Careghini <i>et al.</i> , 2015
			Alemania	4 – 92 mg/m <sup>3</sup>	Río Elba	
			Taiwán	0.01 – 45 mg/m <sup>3</sup>	16 ríos principales del país	
			China	0.0071 – 0.1115 mg/m <sup>3</sup>	Río Hangpu y sus afluentes, invierno y verano	Wu <i>et al.</i> , 2013
			Europa	0.00011 – 0.649 mg/m <sup>3</sup>	Ríos Ebro, Llobregat, Júcar y Guadalquivir)	Gorga <i>et al.</i> , 2015
			Ciudad de México, México	<0.0005 – 0.0007 mg/m <sup>3</sup>	Presas, muestreo en la estación lluviosa y seca	Félix-Cañedo <i>et al.</i> , 2013
			Corea del Sur	0.0069 – 0.059 mg/m <sup>3</sup>	Río Han	
0.011 – 0.120 mg/m <sup>3</sup>	Arroyos dominados por los efluentes que desembocan en el río Han			Yoon <i>et al.</i> , 2010		
España	0.006 – 0.126 mg/m <sup>3</sup>		Ríos Manzaneres y Jarama	Esteban <i>et al.</i> , 2014		
Brasil	<0.46 mg/m <sup>3</sup>		Ríos que cruzan la isla San Luis	Melo y Brito, 2014		
Hong Kong, China	0.011 – 0.41 mg/m <sup>3</sup>		Reserva Marina del Cabo D'Aguilar, RS	Xu <i>et al.</i> , 2014		
	0.025 – 0.24 mg/m <sup>3</sup>	Reserva Marina del Cabo D'Aguilar, DS				

Contaminante emergente	Matriz	Tipo de muestra	País / Ciudad	Concentración	Notas	Referencia
	Agua residual		China oriental	0.024 – 1.175 mg/m <sup>3</sup>	Cuenca del lago Tai Norte	Zhang <i>et al.</i> , 2014
			Xochimilco, México	2.08 – 107.14 ng/μL (DS) 2.08 – 141.42 ng/μL (RD)	Dos muestreos, uno en la estación lluviosa (agosto 2008) y estación seca (febrero 2009)	Díaz-Torres <i>et al.</i> , 2013
		Agua de manantial	ZMCM	0.4 – 0.41 ng/L	Manantial Cerro Colorado	Gibson <i>et al.</i> , 2007
		Ciudad de México	ZMCM	4.05 μg/L	PTAR Cerro de la Estrella	Calderón <i>et al.</i> , 2019
				9.87 μg/L	Agua residual proveniente de un hospital de especialidades	
		ZMCM	0.66 – 2.5 μg/L	Emisor Central	Gibson <i>et al.</i> , 2007	
		Valle de Tula, México	432 – 3177 ng/L	Zona de irrigación	Chávez <i>et al.</i> , 2011	
		Ciudad de México	965 ng/L	-----	Melo-Guimaraes <i>et al.</i> , 2013	
		Ciudad de México	Influyente: 0.21 – 2.46 ng/mL Efluente: 0.03 – 0.41 ng/mL	PTAR Cerro de la Estrella	Peña-Álvarez y Castillo-Alanis, 2017	
			Influyente: 0.81 – 4.27 ng/mL Efluente: 0.02 – 0.07 ng/mL	PTAR Coyoacán		
	Influyente: 0.29 – 0.81 ng/mL		PTAR Ciudad Universitaria			
	Valle del Mezquital, Méx	9340 ng/L	Muestreo en canales de irrigación	Lesser <i>et al.</i> , 2018		
	Alimentos	Comida enlatada	Washington y Maryland, EUA	<2 – 790 μg/kg*	78 comidas enlatadas y 2 comidas congeladas, BPA no detectado en comida congelada	Noonan <i>et al.</i> , 2011
		Agua potable	Ciudad de México	3.91 μg/L	----	Calderón <i>et al.</i> , 2019
		Frutas, vegetales y carne	Suecia	<2 – 29 μg/kg *	Pescado (2.5 – 29 μg/kg), carne (6.9 – 13 μg/kg), papas (2.2 μg/kg)	Gyllenhammar <i>et al.</i> , 2012
Hojas, tallos de lechuga y coles		EUA	0.22 – 3.05 μg/kg*	Cultivo hidropónico	Dodgen <i>et al.</i> , 2013	
Raíces de lechuga y coles			199.6 – 441.7 μg/kg*			
Refrescos comerciales		Qufu, China	<0.02 – 0.86 mg/m <sup>3</sup>	Ocho refrescos (enlatados y embotellados)	Li <i>et al.</i> , 2013c	
Frutas y vegetales		Florida, EUA	Frutas 0.2 – 4.3 μg/kg* Vegetales 2 – 9 μg/kg*	Comida fresca	Lu <i>et al.</i> , 2013	
Agua potable		Italia	<0.00073 – 0.102 mg/m <sup>3</sup>	Muestra de fuentes públicas de 35 ciudades	Maggioni <i>et al.</i> , 2013	
Agua mineral embotellada	Italia	<0.00073 – 0.00113 mg/m <sup>3</sup>	Muestras comerciales en botellas de PET			

Contaminante emergente	Matriz	Tipo de muestra	País / Ciudad	Concentración	Notas	Referencia	
		Productos de carne	Alrededor del mundo	0.49 – 56 µg/kg*	-----	Careghini <i>et al.</i> , 2015	
		Pescado		7.1 – 103 µg/kg*			
		Frutas y vegetales		11 – 95 µg/kg*			
		Cereales		1.0 – 3.8 µg/kg*			
		Comida enlatada		0.1 – 267 µg/kg*			
	Atún y jalapeños enlatados	México	Atún: 0.6 – 83.4 µg/kg Jalapeños: <0.25 – 4.3 µg/kg	Migración de BPA por efecto de procesamiento térmico y almacenamiento	Munguía-López <i>et al.</i> , 2001		
	Jalapeños enlatados		15.33 µg/kg	Migración de BPA por efecto de procesamiento térmico, almacenamiento y temperatura	Munguía-López <i>et al.</i> , 2002		
	Agua embotellada	Nigeria	124.2 – 1000.8 ng/L	BPA encontrado en cinco de 16 muestras	Omoruyi <i>et al.</i> , 2014		
	Humanos	Tejidos (cerebro, hígado y tejido adiposo)	Bélgica	Cerebro (2.36 ng/g); Hígado (0.9 – 2.77 ng/g); Tejido adiposo (1.12 ng/g)	Muestras colectadas en 2002 a once pacientes durante autopsias	Geens <i>et al.</i> , 2012	
		Tejido placentario	Tennessee, EUA	44 – 273.9 ng/g	Muestras colectadas de junio 2007 a julio 2010	Troisi <i>et al.</i> , 2014	
Orina		Ciudad de México, México	0.4 – 6.7 µg/L ≤37 semanas (1.84 µg/L) > 37 semanas (0.97 µg/L)	Mujeres embarazadas que dieron a luz a la semana 37 de gestación o más	Cantonwine <i>et al.</i> , 2010		
Orina		Liege, Bélgica	2.54 µg/g de creat – 27.44 µg/g de creat	1031 participantes, hombres y mujeres de 1 a 75 años de edad	Pirard <i>et al.</i> , 2012		
Triclosán	Ambiental	Sedimentos	Valle de Tula, México	1.0 – 1.5 ng/g 29.7 – 31.4 ng/L	5 tipos de sedimentos y agua recolectados en la época seca	Díaz y Peña-Alvarez, 2017	
		Agua superficial	Xochimilco, México	5 – 20 ng/µL (DS) 5 – 73.3 ng/µL (RS)			Dos muestreos, uno en la estación lluviosa (agosto 2008) y estación seca (febrero 2009)
			Valle de Tula, México	1.8 ng/L	Manantial cerca de la parcela de riego de aguas residuales	Durán-Álvarez <i>et al.</i> , 2015	
			Taiwán	0.015 – 0.036 nM	Río Danshuel	Shen <i>et al.</i> , 2012	
		Agua de manantial	ZMCM	1.12 – 1.3 ng/L	66 ng/L	Canal de marea en el Río San Pedro	Pintado-Herrera <i>et al.</i> , 2014
					72 ng/L	Río Guadalete	
		Agua subterránea	España	68 ng/L	Manatíal Cerro Colorado	Gibson <i>et al.</i> , 2007	
			Acuífero aluvial del Guadalete	Pintado-Herrera <i>et al.</i> , 2014			

Contaminante emergente	Matriz	Tipo de muestra	País / Ciudad	Concentración	Notas	Referencia
	Agua residual		EUA	$6.9 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-4}$ nM	20 muestras, DS (sep 2013) y RS (enero 2014)	Sorensen <i>et al.</i> , 2015
			Inglaterra	0.18 nM	Texas	Karnjanapiboonwong <i>et al.</i> , 2011
		ZMCM	0.66 – 2.4 µg/L	Emisor Central	Gibson <i>et al.</i> , 2007	
		Valle de Tula, México	320 – 1821 ng/L	Zona de irrigación	Chávez <i>et al.</i> , 2011	
		Ciudad de México	801 ng/L	-----	Melo-Guimaraes <i>et al.</i> , 2013	
		Ciudad de México	Influyente: 0.87 – 10.09 ng/mL	PTAR Cerro de la Estrella	Peña-Álvarez y Castillo-Alanis, 2017	
			Efluente: 0.08 – 7.33 ng/mL			
			Influyente: 2.5 – 9.34 ng/mL			
		Ciudad de México	Efluente: 0.32 – 2.63 ng/mL	PTAR Coyoacán	Lesser <i>et al.</i> , 2018	
			Influyente: 0.91 – 1.59 ng/mL	PTAR Ciudad Universitaria		
		Valle del Mezquital, Méx	78.4 – 1330 ng/L	Muestreo en canales de irrigación	Lesser <i>et al.</i> , 2018	
		Ciudad de México	4.11 µg/L	Agua residual proveniente de un hospital de especialidades	Calderón <i>et al.</i> , 2019	
		Valle de Tula, México	1401 ng/L	Agua tomada de los canales de irrigación	Durán-Álvarez <i>et al.</i> , 2015	
		Guanajuato, México	543 ng/L (RS) 926 ng/L (DS)	Planta de tratamiento de agua residual	Estrada-Arriaga <i>et al.</i> , 2016	
		Estado de México, México	531 ng/L (RS) 383 ng/L (DS)			
		España	95 ng/L	Efluente en una PTAR en Puerto Real	Pintado-Herrera <i>et al.</i> , 2014	
		Inglaterra	0.25 – 1.51 nM	Agua residual tratada	Chi <i>et al.</i> , 2013	
		EUA	6.91 – 10.36	Influyente	Anumol y Snyder <i>et al.</i> , 2014	
	0.044 – 0.097 nM		Efluente final			
	Alimentos	Calabaza y calabacita (zucchini)	EUA	55 mg/kg Raíces 13 mg/kg	Suelos tratados con biosólidos	Aryal y Reinhold, 2011
Calabaza y calabacita (zucchini)		EUA	480 mg/kg Raíces: 9.3 mg/kg	Condiciones hidropónicas	Aryal y Reinhold, 2013	
Once cultivos		Michigan, EUA	Pimiento (2.94); Pepino (0.44); Jitomate (0.53); Oca	Condiciones hidropónicas TCS añadido al cultivo	Mathews <i>et al.</i> , 2014	

Contaminante emergente	Matriz	Tipo de muestra	País / Ciudad	Concentración	Notas	Referencia
				(0.45); Betabel (0.48); Cebolla (0.12); Col (0.9); Apio (0.79); Brócoli (0.1); Espárragos (0.02); Papa (0.3) (todos en: mg/kg <sup>+</sup> )	Cultivo de cuatro semanas TCS medido en los brotes de los cultivos	
		Pescado	Alemania	11.7 ng/kg	16 puntos de muestreo en los ríos Elba y Rin	Rüdel <i>et al.</i> , 2013
		Rábano	EUA	31.8 µmol/kg <sup>+</sup>	Suelo modificado con biosólidos	Pannu <i>et al.</i> , 2012
		Agua de grifo	Taiwán	0.17 nM	Agua obtenida de dos edificios de un campus universitario al sur de Taiwán	Yang <i>et al.</i> , 2014
		Agua de grifo	EUA	0.21 nM	Muestras de una planta potabilizadora	Padhye <i>et al.</i> , 2014
		Agua de grifo	China	0.021 nM	Agua de seis casas en un área residencial	Li <i>et al.</i> , 2010
	Humanos	Orina	Liege, Bélgica	2.70 µg/L (2.68 µg/g creat)	1031 participantes, hombres y mujeres de 1 a 75 años de edad	Pirard <i>et al.</i> , 2012
		Orina	Corea del sur	Preescolares: 0.2 – 1.0 µg/L Estudiantes: 0.1 – 0.8 µg/L Adolescentes: 0.1 – 0.7 µg/L Adultos: 0.1 – 0.5 µg/L	Niños (557 preescolares de 3 a 5 años; 839 estudiantes de 6 – 11 años), 807 adolescentes (12 – 17 años) y 3759 adultos (19 – 86 años)	Lim, 2020
		Leche materna y plasma sanguíneo	Estocolmo, Suecia	Plasma: 0.067 – 0.072 ng/g* Leche materna: <0.018 – 0.019 ng/g*	36 madres, 2 muestras tomadas a los 6 y 12 meses después de dar a luz, entre oct-2003 y mayo-2004	Allmyr <i>et al.</i> , 2006
		Orina	Vancouver, Canadá	14.5 µg/L	100 inmigrantes asiáticas (19 – 45 años), país de origen: India, China, Hong Kong, Taiwán	Dix-Cooper y Kosatsky, 2019
		Orina	China	0.73 ng/mL	1006 mujeres embarazadas (28.75 ± 3.69 años)	Huo <i>et al.</i> , 2018
		Suero	España	4.1 – 41.4 nM	Total 24 muestras de fluidos analizadas	Azzouz <i>et al.</i> , 2016
		Orina		1.1 – 7.3 nM		
		Leche materna		0.86 – 7.3 nM		
		Orina	India	0.56 ± 1.8 nM	Niños con obesidad o sobrepeso de 2 a 14 años	Xue <i>et al.</i> , 2015
Orina	EUA	0.51 ± 0.53 nM	Trabajadores de dos hospitales, uno de éstos usa jabón con TCS al 0.3% en áreas de cuidados de pacientes, el otro no	Maclsaac <i>et al.</i> , 2014		

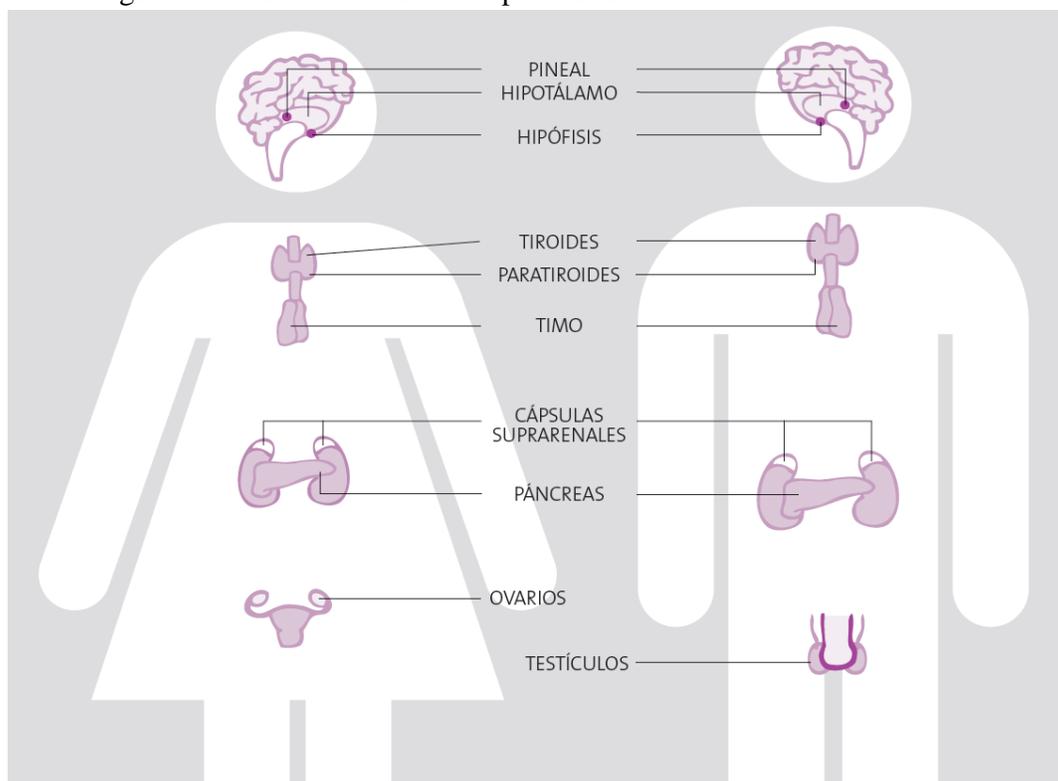
\*base húmeda o peso fresco; <sup>+</sup> peso seco; \* pg/mL; ND: No detectado; <sup>▲</sup> sólidos secos; ZMCM: Zona Metropolitana de la Ciudad de México; PM: punto de muestreo; El estrona; DS: estación seca; RS: estación lluviosa, creat: creatinina

### 3.1.4 Disruptores endocrinos

Un disruptor endocrino (EDC, *Endocrine Disruptor Chemical* por sus siglas en inglés) es una sustancia química exógena con actividad hormonal, que cuando es absorbido en el cuerpo imita o bloquea hormonas e interrumpe las funciones normales del cuerpo, esto ocurre alterando los niveles hormonales, inhibiendo o simulando la producción y metabolismo de las hormonas, cambiando la ruta de las hormonas a través del cuerpo o afectando las funciones de control de las hormonas (Schug *et al*, 2011). Para alterar el sistema endocrino, los EDC tienen cinco modos de acción, que se explicarán más adelante.

#### *Sistema endocrino*

El sistema endocrino lleva a cabo la comunicación entre células mediante estímulos químicos. Las células que se encargan de secretar estos estímulos o sustancias químicas (hormonas) se denominan células endocrinas. Se encuentran en células endocrinas agrupadas formando órganos o glándulas endocrinas, células endocrinas formando pequeños grupos dentro de órganos especializados (páncreas, ovarios, testículos), células endocrinas dispersadas entre otras células de tejidos epiteliales (por ejemplo, sistema digestivo o respiratorio), interactúa con el sistema nervioso a través del hipotálamo, la hipófisis y los neurotransmisores, que a la vez interactúan con el sistema inmune, denominado como sistema neuroendocrino difuso. Las hormonas actúan como enzimas o uniéndose a un receptor específico, las hormonas regulan funciones actuando como transmisores de información, controlar funciones metabólicas, regula el desarrollo embrionario. (Romano, 2012). En la Figura 3 se muestra la ubicación de las glándulas endocrinas en el cuerpo humano.



**Figura 3.** Glándulas endocrinas en el cuerpo humano (Romano, 2012)

### ***Modos de acción de los EDC***

Hay cinco modos de acción en los que los EDC alteran el sistema endocrino, los cuales son:

- *Señalización de receptores nucleares.* Los EDC al ser similares a muchas hormonas, son apropiados para inactivar o antagonizar los receptores hormonales nucleares. Las hormonas o las imitaciones de hormonas se unen a los receptores de membrana, desplazándose al núcleo y adhiriéndose a los receptores de respuesta, donde regulan la transcripción genética y la producción de proteínas. (Romano, 2012).
- *Efectos a dosis bajas.* Los EDC presentan respuestas bifásicas a las dosis, es decir no presentan un patrón lineal (mayor dosis mayor efecto negativo). Muchas sustancias presentan curvas dosis-respuesta en forma de “U” o de “U invertida”, indicando que provocan efectos tóxicos a dosis altas, ningún efecto a dosis intermedias y efectos adversos a dosis bajas o viceversa. El efecto adverso de los EDC puede ser derivado de la acción combinada de diversas sustancias que individualmente no presentan efectos negativos, pero combinados pueden desencadenar respuestas paradójicas, ya sea sinérgica, antagonista o aditiva (Schug *et al*, 2011; Romano, 2012).
- *Susceptibilidad de ventanas de desarrollo.* Los efectos adversos de los EDC son más pronunciados en organismos en desarrollo y ocurren a concentraciones por debajo de lo considerado nocivo para un adulto. Algunas razones para que la sensibilidad aumente en organismos en desarrollo es que en los adultos los mecanismos de protección como la reparación de ADN, sistema inmune competente, enzimas desintoxicantes, metabolismo hepático, barrera sangre/cerebro aún no está completamente funcional, incrementando la toxicidad. La exposición a edad temprana a sustancias tóxicas está asociada con el incremento en la tasa de las enfermedades humanas más comunes que han incrementado en los últimos 20 años, como el asma, problemas de aprendizaje, pubertad temprana, infertilidad, cáncer de mama y próstata, enfermedad de Parkinson, obesidad, entre otras (Schug *et al*, 2011).
- *Programación epigenética.* Se refiere a los factores que regulan la expresión genética sin una modificación en el ADN. La exposición a sustancias químicas que poseen actividad endocrina puede afectar estos factores reguladores (Schug *et al*, 2011; Romano, 2012).
- *Acciones transgeneracionales de los disruptores endocrinos.* Los factores ambientales promueven la transmisión hereditable de un fenotipo de enfermedad a través de generaciones sucesivas, referido a la herencia transgeneracional epigenética. Muchas sustancias químicas han sido implicadas en que promueven la toxicidad por múltiples generaciones, como el BPA, hidrocarburos policíclicos, cocaína, pesticidas y fitoestrógenos (Schug *et al*, 2011).

### **3.1.5 Determinación analítica de contaminantes emergentes**

Debido a que los CE se encuentran presentes en agua por su fácil disolución, la identificación y cuantificación ha requerido metodologías analíticas altamente sofisticadas capaces de detectar las concentraciones de CE en el orden de pico y nanogramos por litro (ng/L). Las principales técnicas analíticas utilizadas son la cromatografía (de gases o líquidos) acoplada a espectrofotometría de masas. Otras técnicas son la electroforesis capilar técnicas inmunoanalíticas o ensayos biológicos (Agüera *et al*, 2012; Nikolaou, 2013).

### ***Extracción de contaminantes emergentes***

La extracción se refiere a la transferencia de un soluto de un líquido a otra fase. Las extracciones se clasifican en batch (en lote), continuas o contracorriente.

- *Extracción batch (en lote)*. El soluto es extraído de un solvente por agitación con un segundo disolvente inmiscible. Después de agitar las fases están listas para ser separadas, y la que contiene el contaminante de interés es removida con un embudo de separación.
- *Extracción continua*. Requiere de aparatos especiales (por ejemplo, el extractor Soxhlet) siendo más eficiente que la separación batch (en lotes).
- *Extracción a contracorriente*. Separa dos o más solutos con diferentes coeficientes de partición, algunos ejemplos de separación a contracorriente son la cromatografía de partición líquido-líquido. (Ismail y Nielsen, 2017)

La extracción generalmente se lleva a cabo por extracción en fase sólida (SPE, *solid phase extraction*) y por micro extracción en fase sólida (SPME, *solid phase microextraction*). Para SPE las fases estacionarias usadas son varias mezclas de polímeros (divinilbenceno-vinilpirrolidona), octadecilsílica (C18) o más materiales como inmunosorbentes, polímeros impresos molecularmente, y materiales de acceso restringido (RAM *restringed access materials*) (Gross *et al*, 2008).

- *Micro extracción en fase sólida*. Es simple y efectiva, se basa en la adsorción/absorción, elimina la necesidad de usar solventes y muestras compuestas. Depende del analito y la matriz, en el caso de muestras de agua puede llevarse a cabo de diferentes formas: extracción por inmersión directa (para compuestos poco volátiles y muestras secas), extracción de espacio libre (para compuestos más volátiles y muestras con suciedad), SPME protegido por membrana (extracción de analitos de muestras muy contaminadas), tubos SPME y micro extracción de capa fina. Los analitos objetivos en muestras acuosas son extraídos directamente y concentrados por el recubrimiento de la columna capilar, y pueden ser directamente transferidos a columnas de cromatografía de gases o líquidos para su análisis (Gross *et al*, 2008).
- *Extracción en fase sólida*. La muestra líquida pasa a través de una columna, los solutos o analitos con afinidad son retenidos en la fase, posteriormente se usa un eluyente fuerte para recuperar el analito de interés. La muestra se pasa a través de cartuchos o filtros que son de materiales como C18, aminas, y sílica gel; los cartuchos C18 tienen gran retención de compuestos no polares mientras que los copolímeros de estirendivinilbenceno (DVB) altamente reticulados pueden extraer una amplia gama de compuestos no polares y polares. La extracción en fase sólida tiene numerosas ventajas, se requiere menos solvente, es un método de extracción rápido, menor cristalería requerida, mejor precisión y exactitud, mínima evaporación de solvente, (Qian *et al*, 2017).

### ***Cromatografía***

Es una técnica de separación basada en la separación-distribución de una muestra (analito) entre una fase móvil y una fase fija o estacionaria. La fase móvil puede ser un gas (cromatografía de gas) o un líquido (cromatografía de líquidos) o un fluido supercrítico; mientras la fase estacionaria es un líquido o un sólido (Ismail y Nielsen, 2017).

### *Cromatografía de gases*

La fase móvil es un gas y la estacionaria es un líquido inmobilizado o sólido inerte empacado o en una columna tipo capilar, es usada para separar mezclas de componentes volátiles termoestables, como ácidos grasos, triglicéridos, colesterol y otros esteroides, gases, solventes, agua, alcohol, azúcares simples, pesticidas, herbicidas, aditivos alimentarios, antioxidantes, nitrosaminas, bifenilos policlorados, saborizantes, entre otros. La muestra es transportada a través de la columna por el flujo de un gas inerte (Ismail y Nielsen, 2017). Los tamaños de columna van de longitud de 15 – 30 m x diámetro interno de 0.25 – 0.32 mm y diámetro de la película de 0.1 a 1  $\mu\text{m}$  (Gross *et al*, 2008).

### *Cromatografía de líquidos de alta resolución*

Usada para la separación de contaminantes orgánicos, los tamaños de columna son de longitud de 10 – 25 cm x diámetro interno de 2.1 – 4.6 mm y tamaño de partículas de 3 – 5  $\mu\text{m}$ ; las fases móviles usadas generalmente son acetonitrilo, metanol o mezclas de ambos solventes (Gross *et al*, 2008).

### *Detectores*

Los detectores perciben los efluentes de la columna, proporcionan un registro en forma de cromatograma, proporciona la cantidad de cada analito haciendo posible un análisis cuantitativo (McNair y Miller, 2009). Los detectores disponibles comercialmente son:

- Detector de ionización de flama (FID)
- Detector de conductividad termal (TCD)
- Detector de captura de electrón (ECD)
- Detector de nitrógeno/fósforo (NPD)
- Detector de ionización de llama alcalina (AFID)
- Detector termoiónico (TID)
- Detector de fotoionización (PID)
- Detector de ionización de descarga (DID)
- Detector de ionización de helio (HID)
- Detector de flama fotométrico (FPD)
- Emisión de plasma atómica (PAE)
- Quimiluminiscencia
- Detector de densidad de gas (GADE)
- Detector de radiactividad
- Espectrómetro de masas (MS o MSD)
- Infrarrojo con transformador de Fourier (FTIR)

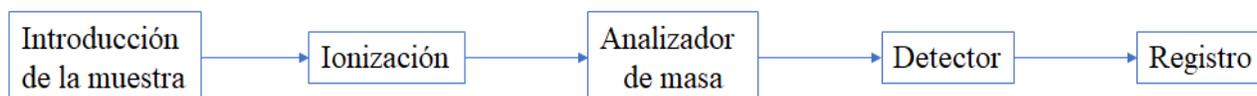
La característica más importante de un detector es la señal que produce, pero hay otras dos características como el ruido y el tiempo constante que son importantes.

- **Ruido.** Es la señal producida por un detector en ausencia de muestra, también es llamado “fondo” y aparece en la línea base.
- **Tiempo constante.** Es una medición de la velocidad de respuesta de un detector. Es el tiempo (en segundos o milisegundos) que a un detector le toma responder al 63.2% de un cambio repentino de señal.

- **Señal.** La magnitud de la señal (altura de pico o área de pico) es proporcional a la cantidad de analito y es la base para un análisis cuantitativo. La señal es definida por la sensibilidad, detectabilidad mínima, rango lineal y rango dinámico.
  - **Sensibilidad.** Es igual a la señal de salida por unidad de concentración o por unidad de masa de un analito en el gas de acarreo.
  - **Detectabilidad mínima.** También llamado cantidad mínima detectada o límite de detección (McNair y Miller, 2009).

### Espectrómetro de Masas (MS)

Es indispensable para la identificación, caracterización, verificación y cuantificación de moléculas pequeñas a grandes moléculas complejas, ha sido acoplada a otras técnicas de separación como la cromatografía de gases o de líquidos; la combinación de estas técnicas ha disminuido los límites de detección e incrementa la confianza de las mediciones. La espectrometría de masas consiste en poner una carga sobre una molécula que lo transforma a un ion (ionización), los iones generados son separados de acuerdo a su radio masa/carga ( $m/z$ ) y son sometidos a una combinación de campos de radiofrecuencia y electrostáticos en un analizador de masa y finalmente son identificados mediante detectores de alta sensibilidad. Las señales resultantes son digitalizadas y procesadas por un software que despliega la información como un espectro de masas, revelando la masa molecular, su composición estructural permitiendo la identificación del analito. El espectrómetro de masas lleva a cabo tres funciones: debe haber una manera de ionizar las moléculas lo que ocurre en la fuente de iones, las moléculas ionizadas cargadas y sus fragmentos son separados de acuerdo a su  $m/z$  esto ocurre en el analizador de masas, los iones separados son detectados, en la Figura 4 se muestra un diagrama de bloques de la conformación de un espectrómetro de masas (Smith y Thakur, 2017).



**Figura 4** Diagrama de bloques de un espectrómetro de masas (Smith y Thakur, 2017)

### *Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masa (GC/MS)*

La cromatografía de gases es un método rápido de análisis, de alta resolución, fácil operación, excelentes resultados cuantitativos y costos moderados; pero con esta técnica no se puede identificar la identidad o estructura de ningún pico cromatográfico. Sin embargo, la espectrometría de masa puede identificar el compuesto y estructura solo requiriendo microgramos de muestra (McNair y Miller, 2009). Acoplar MS con GC permite que los picos cromatográficos sean identificados usando una búsqueda asistida por computadora en una librería que contiene espectros de masas. También se puede determinar la pureza de cada pico, esto se hace ejecutando GC/MS tomando espectros de masas con incrementos de tiempo muy cortos (Smith y Thakur, 2017).

## 3.2 Actividad estrogénica

Las sustancias químicas simulan al estrógeno natural  $17\beta$ -estradiol, por lo que pueden unirse a los receptores de estrógenos (ER) e iniciar la actividad estrogénica en animales (Xie *et al.*, 2015). La habilidad de interactuar de estos compuestos con actividad estrogénica con los receptores estrogénicos, ha sido usada en variedad de ensayos para cuantificar el efecto estrogénico usando métodos biológicos (Roda *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2006).

### 3.2.1 Medición de la actividad estrogénica

Los ensayos biológicos usados se dividen en dos tipos: *in vivo*, son ensayos efectivos que requieren mucho tiempo, más complejos y costosos; y los ensayos *in vitro*, son rápidos, baratos y con este tipo de ensayos se pueden identificar compuestos estrogénicos y anti estrogénicos en el ambiente (Céspedes *et al.*, 2004; Petrovic *et al.*, 2003).

Ensayos *in vitro* e *in vivo* como E-Screen, Yeast Estrogen Screen (YES), ELISA, vitelogenina de pescado han sido usados para medir actividad estrogénica (Chen *et al.*, 2018). Mecanismos involucrados en los ensayos biológicos para determinar actividad estrogénica de los EDC son la proliferación de células, unión de ligandos, inducción de luciferasa, inducción de vitelogenina o interacciones antígeno-anticuerpo (Chang *et al.*, 2009). Los ensayos *in vivo* usan microorganismos acuáticos como *Artemia salina*, *Danio rerio* u *Oryzas latipes* (Zdarta *et al.*, 2022). Ensayos *in vitro* usan levaduras como YES que se basan en el cultivo de células de levadura modificadas que incluyen receptores de estrógenos humanos capaces de unirse a compuestos estrogénicos, *Saccharomyces cerevisiae* es la más usada debido a su rápido crecimiento (Zdarta *et al.*, 2022).

Sustancias químicas como los productos de higiene personal y EDC desencadenan acciones como imitar o antagonizar las acciones *in vivo* e *in vitro* de estrógenos naturales como el  $17\beta$ -estradiol las cuales se definen como sustancias con actividad estrogénica. Estos compuestos xenobióticos que exhiben actividad estrogénica interactúan con receptores de estrógenos (ER) que producen efectos adversos a la salud (Bittner *et al.*, 2014). A bajas dosis, interfieren en el sistema endocrino de humanos y fauna salvaje, inhibiendo o imitando el comportamiento de hormonas naturales como estrógeno, testosterona y/o tiroides, pudiendo tener efectos estrogénicos, androgénicos o tiroideos (Chang *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2018). El comportamiento en cuanto a actividad estrogénica no sigue un patrón lineal. Reportes han encontrado que no existe relación entre la intensidad de la respuesta de la actividad estrogénica y la concentración de los EDC (Orta *et al.*, 2019).

#### ***Biosensores***

Debido a que los ensayos *in vivo* e *in vitro* hacen uso de organismos biológicos, éstos reciben el nombre de biosensores. Las características que un biosensor son: pequeño capaz de proporcionar información analítica cuantitativa o semicuantitativa utilizando un elemento de reconocimiento biológico que se mantiene en contacto directo con un transductor que convierte el elemento biológico en una señal de salida, son capaces de proveer información sobre efectos biológicos como toxicidad o actividad estrogénica (Rodríguez-Mozaz *et al.*, 2003). En la Tabla 10, se muestran los tipos de biosensor y la señal que emiten, siendo esta la principal característica de su clasificación.

**Tabla 10** Clasificación de los biosensores (Rodríguez-Mozaz, *et al*, 2003)

Transducción de señal	
Electroquímica	Amperométrica
	Conductimétrica
	Impedimétrica
	Potenciométrica
Óptica	Absorción
	Fluorescencia / Fosforescencia
	Bio/quimioluminiscencia
	Reflectancia
	Dispersión de Raman
	Índice de reflexión
Sensibilidad de masas	Biosensores de ondas acústicas de superficie
	Biosensores de ménsula
Termométricos	----
Reconocimiento de biomoléculas	----
Anticuerpos	Monoclonal
(Inmunosensores)	Policlonal
Receptores de proteínas	Receptores metabotrópicos
	Receptores ionotrópicos
Células completas	Sensores microbianos
	Células de mamíferos
	Tejidos
Ácidos nucleicos	Hibridación
	Interacción compuesta de bajo peso
Enzimas	----

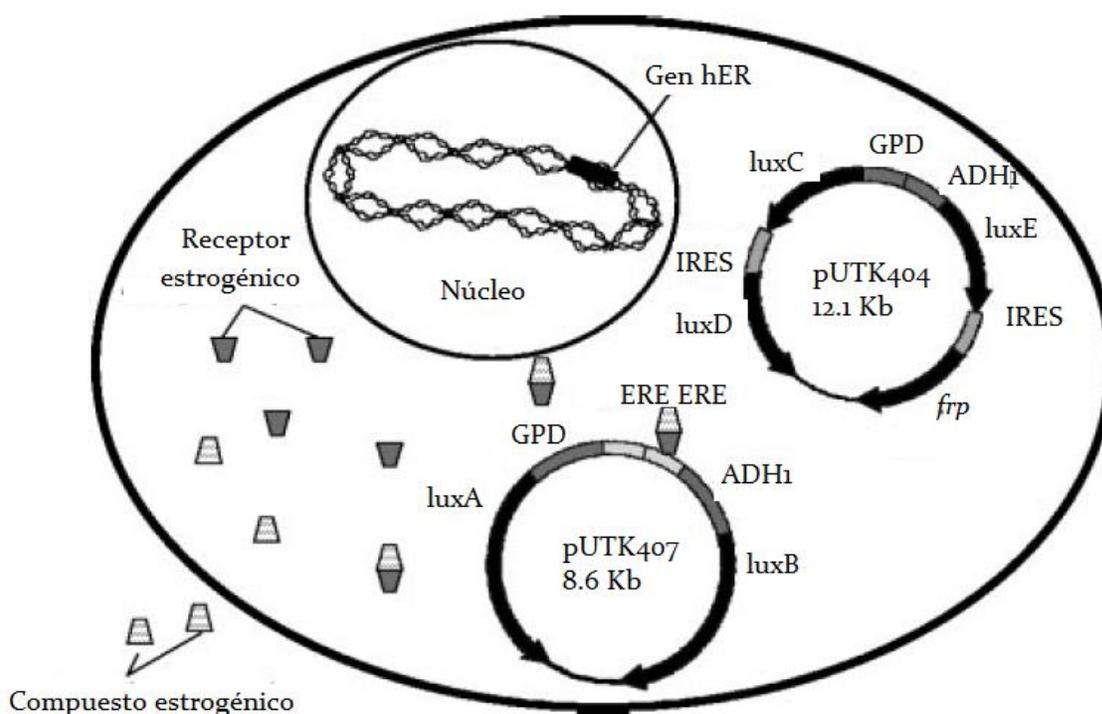
La transducción electroquímica ofrece alta sensibilidad, bajo costo y requerimientos bajos de energía. Los biosensores ópticos son más comunes, éstos se basan en propiedades como la absorción de luz, fluorescencia / fosforescencia, bio/quimioluminiscencia, reflectancia, índice de reflexión; son rápidos, de alta sensibilidad y robustos. Los de sensibilidad de masas como el biosensor de ondas acústicas operan en la base un cristal oscilante cubierto con una capa que contiene el elemento de biorreconocimiento que interactúa con el analito de interés. Los termométricos se basan en la absorción de calor durante las reacciones biológicas (Rodríguez-Mozaz *et al*, 2003).

### 3.2.2 BioLuminiscence Yeast Estrogen Screen (BLYES)

Dentro de los ensayos *in vitro* como los competitivos de unión a ligando, proliferación celular y de transcripción del receptor de estrógeno, los ensayos realizados con levaduras recombinantes son más efectivos. (Céspedes *et al*, 2004). Varios estudios han usado las levaduras recombinantes debido a que son capaces de identificar compuestos con la habilidad de interactuar con los receptores de estrógeno humanos conocidos como ensayos de estrógenos para levaduras recombinantes (rYES, por sus siglas en inglés *recombinant yeast estrogen screen*), este tipo de ensayos hacen uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* genéticamente modificada. El uso de este ensayo basado en el uso de *S. cerevisiae* se debe a al rápido crecimiento de la cepa, fácil intercambio de plásmidos, costo de ensayo relativamente bajo, alta conservación de mecanismos reguladores entre mamíferos y las células de ese

sistema, sistema altamente sensible, bajo esfuerzo y que permite el ensayo de muchas muestras en poco tiempo (De Boever *et al*, 2001; Routledge y Sumpter, 1996).

Los rYES se han modificado debido a que tardan hasta 3 días y hay posibles interferencias con una sustancia cromogénica que se usa (clorofenol rojo- $\beta$ -D-galactopiranosida), las modificaciones que se han hecho tienen como característica acortar los tiempos de análisis, la modificación de Boever *et al*, (2001) y Wagner y Oehlmann (2009) acortaron el tiempo a 24 horas de incubación; mientras la modificación hecha por Sanseverino *et al* (2005) toma 12 horas, haciendo mediciones cada 60 minutos. La técnica BLYES se usa para evaluar la actividad estrogénica en muestras de agua, la cepa usada es capaz de responder a compuestos estrogénicos los cuales cruzan la pared celular de la levadura y se liga a los receptores de estrógenos humanos (hER- $\alpha$ ), formando un complejo que se une a los elementos de respuesta de estrógenos activando la transcripción de luxA y luxB, los cuales generan la enzima luciferasa, ésta actúa sobre los sustratos aldehído producidos de los genes luxCDE (genes provenientes de *Photorhabdus luminiscens*) produciendo una emisión de luz (Sanseverino *et al*, 2005). En la Figura 5, se muestra la representación esquemática de la configuración de *S. cerevisiae* para BLYES.



**Figura 5** Configuración de *S. cerevisiae* para BLYES (adaptado de Sanseverino *et al*, 2005)

Los compuestos estrógenos cruzan la pared celular y se unen a los receptores de estrógenos, este complejo interactúa con el elemento de respuesta estrogénica (ERE) iniciando la transcripción de luxA y luxB.

### 3.3 Remoción de contaminantes emergentes

Como ya se mencionó, los contaminantes emergentes son difícilmente removidos en las plantas de tratamiento de agua, sin embargo, existen procesos que están enfocados en su eliminación. Los procesos fisicoquímicos de remoción de contaminantes emergentes más usados incluyen coagulación – floculación, sedimentación, filtración, y desinfección de agua; algunos trenes de tratamiento incluyen intercambio iónico y adsorción; sin embargo, estos procesos convencionales son insuficientes para reducir considerablemente algunos EDC (Shammas, 2007). Los tratamientos terciarios de remoción de contaminantes emergentes son: adsorción, filtración por membranas, procesos de oxidación avanzada (POA) y dependiendo de la concentración de los contaminantes puede requerir que se acoplen a tratamientos biológicos.

#### 3.3.1 Adsorción

El principio de este tratamiento es remover los contaminantes de una fase (agua) a otra (sólida). El carbón activado es el adsorbente más usado debido a su porosidad y área superficial, siendo capaz de remover los EDC debido al proceso físico y químico de la sorción, alcanzando remociones mayores a 90% (Rivera-Utrilla *et al.*, 2013). Los EDC se acumulan en los poros siendo éstos ligeramente más grandes que los contaminantes, los parámetros de calidad de agua como pH, materia orgánica disuelta y temperatura pueden afectar la remoción (Shammas, 2007). Los tipos de carbón activado usados para estos procesos son el carbón activado (Baccar *et al.*, 2012), biocarbón (Ji *et al.*, 2011), arcillas minerales (Genc y Dogan., 2015), nanotubos de carbón (Zheng *et al.*, 2013), y otros materiales como zeolita, materiales meso y microporosos, resinas, y óxidos metálicos (Hou *et al.*, 2010; Ahmed *et al.*, 2015). La principal ventaja del uso de carbón activado es que no genera productos tóxicos o farmacológicamente activos y también elimina compuestos no polares (Shammas, 2007; Bolong *et al.*, 2009; Rivera-Utrilla *et al.*, 2013; Rodríguez-Narvaez *et al.*, 2017).

#### 3.3.2 Membranas

Las membranas son producidas de diversos materiales que les confieren características como tamaño de poro, carga superficial e hidrofobicidad, que determinan el tipo de contaminante a retener. Las membranas se clasifican en: ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF), microfiltración (MF) y ósmosis inversa (OR). La MF al llevarse a cabo a presión atmosférica no es capaz de remover contaminantes con tamaño  $<1 \mu\text{m}$ , la UF remueve contaminantes con tamaños menores a los de los poros de estas membranas (0.001 – 0.1  $\mu\text{m}$ ), la NF es útil para remover EDC debido a su tamaño de poro que va desde 10 – 100 Å; la OR y la osmosis reversa usan membranas semipermeables. Cuando el tamaño de poro disminuye la eficiencia de remoción de contaminantes incrementa (Melo-Guimarães *et al.*, 2013; Rodríguez-Narvaez *et al.*, 2017).

#### 3.3.3 Procesos de oxidación avanzada

Este tipo de procesos son efectivos en la oxidación de numerosos compuestos orgánicos e inorgánicos. Se basan en la generación de radicales libres ( $\text{HO}\cdot$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{HO}_2^-$ ), siendo el radical  $\text{HO}\cdot$  el más reactivo. Los sistemas basados en la oxidación avanzada utilizan ozono, cloración, radiación ultravioleta, radiación gamma,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , proceso Fenton, sonoquímico,  $\text{TiO}_2$ , o combinaciones de los ya mencionados,

alcanzando porcentajes de remoción mayores al 70% (Rivera-Utrilla *et al*, 2013; Rodríguez-Narvaez *et al*, 2017).

### 3.3.4 Tratamientos biológicos

Varios procesos biológicos han sido usados, tanto aerobios como anaerobios, por medio de sistemas como: lodos activados (más usado), filtración de suelos, filtración biológica, filtro percolador, reactor de biopelícula y reactores de microalgas. Estos sistemas simulan la habilidad natural de los ecosistemas en atenuar la contaminación del agua constituyendo una alternativa sustentable de costo – beneficio. Los procesos involucrados en este tipo de sistemas facilitan la remoción, reciclaje, transformación o inmovilización de sedimentos, nutrientes y otros contaminantes. Los mecanismos de remoción involucrados pueden ser físicos (sorción, fotodegradación, volatilización y sedimentación), químicos (reacciones de degradación e hidrólisis) y biológicos (biodegradación y fitorremediación), siendo de estos procesos los más predominantes la biodegradación, fitorremediación, fotodegradación y sorción (García-Rodríguez *et al*, 2014; Rodríguez-Narvaez *et al*, 2017; Ahmed *et al*, 2017).

## 3.4 Remoción de contaminantes emergentes usando microalgas

El agua residual contiene nutrientes como nitrógeno y fósforo, así como mezclas de contaminantes, por lo que el uso de microalgas no solo es eficiente para la remoción de nutrientes (usados como sustrato para el crecimiento), sino también para remover metales pesados y sustancias orgánicas. Varias especies de microalgas verdes como *C. reinhardtii*, *S. obliquus*, *C. pyrenoidosa*, *C. vulgaris*, se han empleado en el estudio de remoción de varios contaminantes orgánicos debido a sus altas eficiencias de remoción y a su recuperación como fertilizante, biocombustible y a la producción de efluentes de agua con alta calidad (Matamoros *et al*, 2015; Zhou *et al*, 2014). Los principales procesos que ocurren en los reactores que usan microalgas para el tratamiento de agua residual y que remueven los contaminantes emergentes son la biodegradación, fotodegradación, volatilización y sorción (Tolboom *et al*, 2019).

### 3.4.1 Cultivo y cosecha de microalgas

El cultivo de microalgas requiere grandes cantidades de agua y nutrientes, el uso de agua residual es una opción que disminuye los costos de cultivo, además de ser una alternativa de tratamiento de agua; siendo los nutrientes contenidos en el agua residual benéficos para el crecimiento de microalgas. Las microalgas crecen autotóficamente (usan luz solar, CO<sub>2</sub> como fuente de carbono inorgánico, nutrientes como nitrógeno y fósforo) para realizar la fotosíntesis, haciendo uso de agua residual como medio de cultivo, el metabolismo autótrofo es la ruta metabólica reportada para el aprovechamiento de contaminantes inorgánicos. El agua residual contiene grandes cantidades de nutrientes como el amoníaco, fosfatos y otros componentes esenciales para el crecimiento de las microalgas, éstas asimilan el fósforo en exceso que es almacenado en las células en forma de polifosfato, y el nitrógeno es aprovechado en la forma de NH<sub>3</sub> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup> mayormente, seguido de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y urea. Durante el crecimiento autótrofo los valores de pH entre 7 y 9 son favorables para el crecimiento algal y los cambios de temperatura debidos al cambio de estaciones son importantes ya que algunas especies de microalgas

son capaces de adaptarse a estos cambios de temperatura (Dang y Lee 2018; Cuellar-Bermudez *et al.*, 2017).

Los sistemas de tratamiento basados en microalgas son más eficientes al remover nutrientes, metales pesados y contaminantes emergentes de agua residual comparados con tratamientos químicos, además de ser tratamientos rentables y ecológicos (López-Serna *et al.*, 2019; Maryjoseph y Ketheesan, 2020). Estos sistemas se basan en la conversión de la energía solar y la ingesta de nutrientes para generar biomasa y oxígeno esto a través de la fotosíntesis (López-Serna *et al.*, 2019; Mohsenpour *et al.*, 2021). Siendo la biomasa generada de interés como un recurso renovable para la producción de biocombustibles y otros bioproductos valorizables como bioplásticos debido al alto contenido de lípidos y a su rápida tasa de crecimiento (Dang y Lee 2018; González-Balderas *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2020).

En el cultivo de microalgas en agua residual, existen interacciones entre bacterias y microalgas, éstas son positivas para el crecimiento algal. Las bacterias consumen oxígeno que degrada la materia orgánica mientras el CO<sub>2</sub> producido de esta degradación posteriormente es aprovechado por las microalgas; esta sinergia puede incrementar la producción de biomasa y reducir los requerimientos de aireación, además de incrementar la remoción de contaminantes (Cuellar-Bermudez *et al.*, 2017).

Las microalgas pueden aprovechar los metales pesados por medio del proceso de sorción y bioacumulación; así como contaminantes emergentes como fenoles, etinilestradiol, cetonas, fármacos, BPA pueden ser removidos o degradados a moléculas simples por especies como *Scenedesmus* sp., *Chlorella* sp., entre otras. Sin embargo, debido a que muchos contaminantes emergentes son moléculas altamente estables es de interés determinar el mecanismo de remoción involucrado (Cuellar-Bermudez *et al.*, 2017).

El cultivo de microalgas se lleva a cabo en reactores, por lo que existen distintas configuraciones y estrategias de cultivo que tienen como objetivo mejorar la producción de biomasa. Hay aspectos importantes para su diseño como la iluminación, consumo de agua, consumo de CO<sub>2</sub>, suministro de nutrientes, control de la temperatura, material de construcción y limpieza (Carvalho *et al.*, 2014); en la tabla 11, se enlistan los tipos de reactores y sus características.

**Tabla 11.** Tipos de reactores para cultivo de microalgas

Tipo de reactor	Geometría / Forma	Características	Desventajas	Referencia
Estanques abiertos	Óvalo, llamado raceway (pista de carreras)	Bajos costos de construcción y operación Profundidad de agua de 20 a 100 cm Agitación con propelas Existe relación simbiótica alga – bacteria Usado para producir grandes cantidades de biomasa	El crecimiento depende de las condiciones climáticas No se puede tener un monocultivo debido a su exposición al ambiente La luz no penetra totalmente en la profundidad del agua en el reactor El CO <sub>2</sub> no es usado eficientemente Se requieren grandes áreas para instalar	Rawat <i>et al.</i> , 2016  Carvalho <i>et al.</i> , 2014

Tipo de reactor	Geometría / Forma	Características	Desventajas	Referencia
Fotorreactor de columna vertical	Tubular	Reactor cerrado Escala laboratorio Compacto, bajo costo, fácil de operar Horizontal, vertical, inclinado, helicoidal o en serpentín Buena transferencia de masa y calor	Limitado a volúmenes de 50 a 100 L Las algas pueden pegarse al tubo obstruyendo el paso de la luz Al escalar la transferencia de masa es un problema y no hay buena distribución de luz	<i>Carvalho et al, 2014</i>
Fotorreactor de panel plano	Paneles	Hecho de dos hojas que se pegan entre sí Hechos de material transparente Barato, fácil de limpiar, para cultivos en el exterior Bajo consumo de energía eléctrica	Su diseño no es robusto Limitación en la concentración de biomasa Escalamiento requiere muchos compartimientos y materiales de soporte Dificultades en el control de la temperatura Posible estrés hidrodinámico en las microalgas	<i>Carvalho et al, 2014</i>
Fotorreactor de capa delgada	Capa delgada	Diseñado para operar por largos periodos Incrementa la productividad y reduce el costo de producción Construido de material transparente	La capa delgada de cultivo (6 a 8 mm) se calienta por acción de la luz, por lo que necesita agua de refrigeración	<i>Carvalho et al, 2014</i>

### 3.4.2 Vías de remoción de contaminantes emergentes

Los mecanismos involucrados en la remoción de contaminantes emergentes durante el tratamiento de agua residual son complejos, estando en contacto con bacterias, algas, compuestos orgánicos, iones disueltos bajo condiciones variables de pH, luz y temperatura, por lo que es difícil caracterizar y revelar los mecanismos implicados (Larsen, 2018). Autores como Matamoros *et al*, (2015) sugieren que los procesos involucrados en los reactores de estanque abierto de alta tasa (*High rate algal pond*, HRAP, por sus siglas en inglés) son la biotransformación o biodegradación, fotodegradación, sorción, y volatilización por lo que a continuación se describen.

#### ***Biotransformación o biodegradación***

Se refiere a la ruptura de sustancias orgánicas catalizadas por enzimas producidas por los microorganismos. Existen dos vías de degradación que son la metabólica y la co-metabólica. La degradación metabólica usa los contaminantes como fuente de carbono, mientras la degradación co-metabólica depende de enzimas no específicas que se encuentran en el ambiente siendo éstas las que degradan los contaminantes. Este mecanismo es considerado el más efectivo y se puede catalogar como biodegradación intracelular y extracelular; con un sistema complejo de enzimas las microalgas pueden tener diferentes tipos de reacciones enzimáticas (hidroxilación, carboxilación, oxidación, hidrogenación, demetilación y división de anillos). Por otro lado, las microalgas al ser capaces de excretar varias sustancias poliméricas (formando una biopelícula) pueden usar esta biopelícula como un sistema digestivo externo que transportan desde la fase acuosa a la matriz los contaminantes que posteriormente son acumulados y utilizados debido a la retención de enzimas extracelulares en la matriz (Nguyen *et al.*, 2020; Gondi *et al.*, 2022; Zhou *et al.*, 2022).

### ***Fotodegradación***

Puede ocurrir por fotólisis directa o foto oxidación indirecta, dependiendo de la estructura de los contaminantes presentes, la cantidad de luz que penetra en el reactor, y la presencia de iones en el agua (Norvill *et al.*, 2016).

La fotólisis directa ocurre cuando los fotones son absorbidos por el contaminante objetivo rompiendo los enlaces químicos de éste, se ve afectada por el pH, la temperatura y la interacción con iones orgánicos e inorgánicos presentes. Los compuestos con anillos aromáticos, sistemas conjugados  $\pi$ , los heteroátomos son propensos a la fotólisis directa debido a que su alta absorción de la irradiación ultravioleta en el rango de la luz solar (Norvil *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017).

La fotólisis indirecta o foto oxidación ocurre con la generación de radicales libres como el hidroxilo ( $\text{OH}\cdot$ ), radical peróxido ( $\text{ROO}\cdot$ ) y oxígeno en estado excitado o singlet ( $^1\text{O}_2$ ) producidos durante la irradiación con luz solar, estos radicales se forman en presencia de materia orgánica disuelta (ácidos húmicos y fúlvicos o materia orgánica disuelta),  $\text{NO}_3^-$ , y algunos iones metálicos (Norvil *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017). La materia orgánica disuelta y el nitrato son dos componentes del agua residual que absorben luz alcanzando un estado energético excitado y producen compuestos reactivos que reaccionan y transforman otras moléculas orgánicas, estos compuestos reactivos son llamados fotosensibilizadores (Koumaki *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017).

La fotodegradación depende de la estructura molecular de los contaminantes y las condiciones ambientales, además de que este tipo de mecanismo es más efectivo a profundidades menores a 10 cm, teniendo como desventajas una incompleta degradación de los contaminantes y la generación de subproductos que pueden ser más tóxicos que el contaminante inicial (Nguyen *et al.*, 2020).

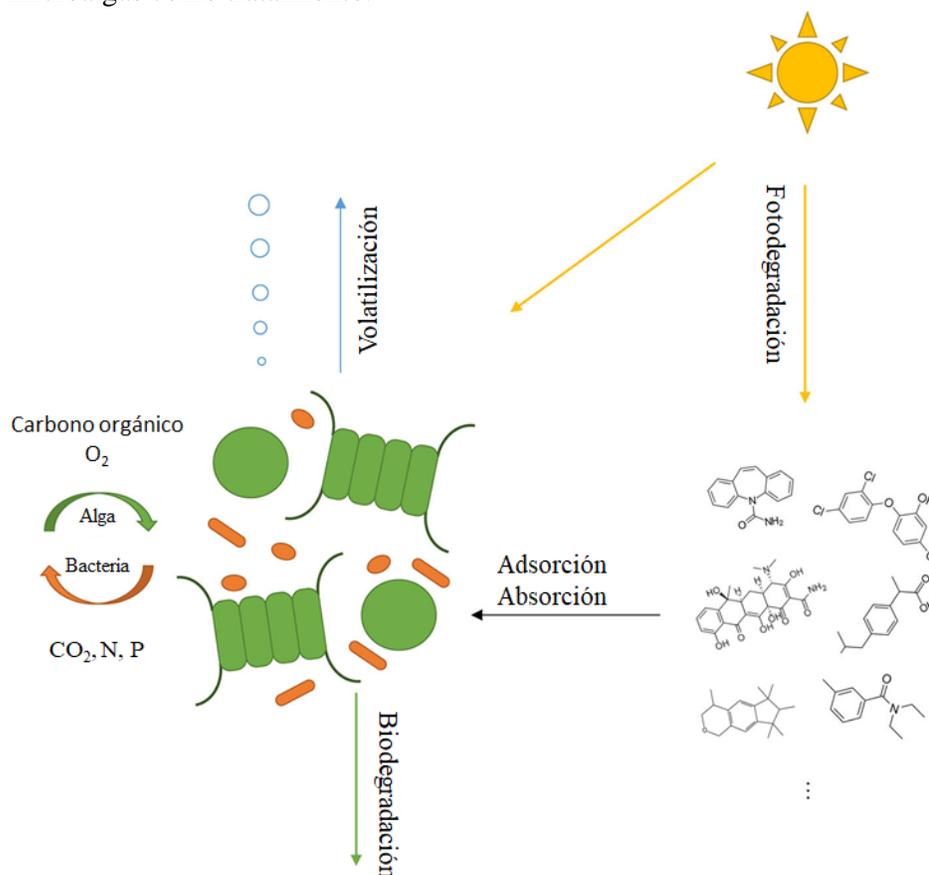
### ***Biosorción***

Se puede definir como la remoción de sustancias de la fase acuosa a un material biológico. Incluye mecanismos fisicoquímicos como la absorción (el contaminante entra dentro de la célula microalgal, intracelular), adsorción (el contaminante se queda en la superficie celular, extracelular), intercambio iónico, complejación y precipitación de superficie. Hace uso de biomasa viva y muerta (seca o liofilizada), siendo el metabolismo de los microorganismos vivos que afecta los mecanismos fisicoquímicos de biosorción. La biosorción se ve afectada por las características de los contaminantes, como la hidrofobicidad, grupos funcionales, pH, temperatura, tiempo de contacto (Gadd, 2009; Xiong *et al.*, 2017; Bilal *et al.*, 2018). Debido a la presencia de grupos funcionales dominantes como carboxil, fosforil y amida, la pared celular de las microalgas tiene una carga negativa, y como resultado de la interacción electrostática los contaminantes con grupos catiónicos se pegan a la superficie de la célula resultando en biosorción; además de que las microalgas excretan sustancias similares a la celulosa, pectina, quitina, alginato, glicano, lignina, entre otros, que proporcionan importantes sitios de sorción (Nguyen *et al.*, 2020).

### Volatilización

Contribuye a la remoción de contaminantes emergentes con valores altos de la constante de ley de Henry (H), y de la aireación suministrada, este proceso es afectado por la intensidad y la temperatura de la extracción de aire en el sistema; transporta contaminantes de la fase líquida a la atmosfera en lugar de descomponerlos (Wang *et al.*, 2017). Este tipo de mecanismo se ve afectado por la intensidad de la corriente de aire y la temperatura del sistema (Nguyen *et al.*, 2020)

En la Figura 6 se muestran los procesos que intervienen en la remoción de contaminantes emergentes usando microalgas como tratamiento.



**Figura 6** Procesos involucrados en la remoción de contaminantes emergentes usando microalgas como tratamiento (adaptado de Wang *et al.*, 2017)

### 3.4.3 Reúso de la biomasa

Los estudios realizados al reúso de la biomasa posterior a un tratamiento de agua residual están orientados a la generación de biocombustibles, la extracción de fósforo, lípidos, proteínas y carbohidratos (González-Balderas *et al.*, 2020a, González-Balderas, *et al.*, 2020b) para su posterior aprovechamiento en bioplásticos (González-Balderas *et al.*, 2020c; López-Rocha, *et al.*, 2020). Sin embargo, existen pocas publicaciones en las que se estudia el reúso de la biomasa microalgal, posterior a un tratamiento de remoción de contaminantes emergentes presentes en agua residual.

Ávila *et al.*, 2021, evaluó la producción de biogás en un sistema microalgal. El consorcio usado se compuso de una mezcla de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp., la remoción de pesticidas a nivel laboratorio fue del 97% de clorpirifós, 88 % de oxadiazona y 74 % de cipermetrina; posteriormente de la remoción de pesticidas se evaluó el potencial bioquímico de metano (BMP). Después de evaluar el BMP, se encontró que la remoción de los pesticidas no inhibe la producción de biogás.

En el estudio realizado por Xie, *et al.*, 2019, la remoción de bisfenol-A (BPA), tetraciclina (TCY) y sulfametoxazol (SMX) se hizo usando la microalga *Chlamydomonas* sp., se encontró que SMX es removido por biodegradación; y una combinación de fotólisis e hidrólisis para la remoción de BPA y TCY. Se observó que la cantidad de ácidos grasos C16 y C18 aumentó, no habiendo diferencia en otros ácidos grasos importantes. La cantidad de C18 aumentó en un 15.2% a una concentración de TCY de 10 µg/L. La degradación de intermediarios puede inducir la acumulación de ácidos grasos monoinsaturados, lo cual aumenta la calidad del biodiesel.

### 3.5 Legislación y normatividad

Debido a la importancia y énfasis que se ha hecho en secciones anteriores sobre los efectos a la salud y el ambiente que la presencia de los contaminantes emergentes causa, principalmente presentes en la descarga de aguas, es recomendable analizar la normatividad nacional e internacional que rige el uso, descarga y límites máximos permisibles de estas sustancias.

#### 3.5.1 México

En la regulación de contaminantes en agua residual, residual tratada y agua potable, las Normas Oficiales Mexicanas de la SEMARNAT en sus normas [NOM-001-SEMARNAT-1996](#), [NOM-002-SEMARNAT-1996](#), [NOM-003-SEMARNAT-1997](#); indican los límites máximos de contaminantes para agua residual, siendo parámetros fisicoquímicos, parámetros biológicos (huevos de helminto y coliformes fecales), metales pesados. La [NOM-014-CONAGUA-2003](#) indica los límites máximos permisibles para agua residual tratada para recarga en acuífero, teniendo como parámetros biológicos, demanda biológica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>), carbono orgánico total (COT) y los contaminantes regulados por la [NOM-127-SSA1-1994 \(2000\)](#).

La [NOM-127-SSA1-1994 \(2000\)](#) contempla entre sus parámetros a regular características físicas, organolépticas, biológicas, radiactivas y químicas; dentro de éstas últimas se consideran plaguicidas (aldrin y dieldrin, clordano, DDT, gamma-HCH, hexaclorobenceno, heptacloro y epóxido de heptano, metoxicloro, 2,4-D) y trihalometanos totales; siendo los únicos contaminantes emergentes regulados que se presentan en agua potable, para el resto de los contaminantes emergentes mencionados anteriormente (fármacos, hormonas, esteroides, entre otros) no se tiene una regulación nacional.

### 3.5.2 América Latina

Para la regulación en países de América Latina, se tiene que en Chile la Norma Oficial Chilena NCh 409/1.Of2005 referente a agua potable regula sustancias químicas de importancia para la salud, entre las cuales se engloban compuestos orgánicos (tolueno, benceno), plaguicidas y subproductos de la desinfección (Henríquez, 2012). En Colombia las regulaciones 1164 de 2002 y 371 de 2009 establecen la gestión de residuos hospitalarios y la devolución de productos de post consumo de fármacos o medicamentos vencidos, respectivamente, esto para reducir la presencia de fármacos al ambiente. En cuanto a aguas, el decreto 1575 de 2009 se refiere a la protección y control de la calidad del agua para consumo humano que no incluye límites máximos para productos farmacéuticos o de higiene personal (Caviedes, *et al.*, 2017). En Brasil hay 30 pesticidas contemplados en la Portaria MS 2914/2011 y en las resoluciones CONAMA 357/2005 y 396/2008 (Montagner, *et al.*, 2017).

### 3.5.3 Estados Unidos

En cuanto a regulación a nivel internacional la EPA ha desarrollado guías y métodos de prueba, tales como Clean Water Act (1997), Safe Drinking Water Act (1974), Pharmaceutical manufacturing guidelines (1998), Nanomateriales Facts-Sheet (2012) y Compuestos fluorados PFOS y PFOA (2013).

### 3.5.4 Europa

Mientras en la Unión Europea existen las regulaciones Water framework directive (2000/60/EC), Priority substances directive (2008/105/EC), Groundwater directive (2006/118/EC), Drinking water directive (98/83/ED) y para Inglaterra y Gales se tiene la Groundwater (England and Wales) regulation de 2009. Las normativas europeas se centran en límites máximos permisibles de contaminantes que consideran fármacos y hormonas, sustancias que las normas para América Latina no contemplan.

## 4. HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y ALCANCES

### 4.1 Hipótesis

La presencia de BPA y TCS en agua residual sintética tiene un efecto promotor en el crecimiento y producción de biomoléculas en un consorcio microalgal expuesto a los contaminantes emergentes mencionados; simultáneamente, el consorcio será efectivo para disminuir la cantidad de nutrientes presentes en el agua residual sintética, la concentración de BPA, TCS, y la actividad estrogénica asociada a estos dos contaminantes emergentes.

### 4.2 Objetivos

#### Objetivo general

Determinar las vías de remoción y la actividad estrogénica involucradas en un sistema basado en microalgas para tratar agua residual sintética contaminada con bisfenol-A y triclosán.

#### Objetivos específicos

1. Determinar la concentración letal media ( $EC_{50}$ ) de bisfenol-A y triclosán que provoca la muerte del 50% de una población inicial de microalgas para definir la tolerancia máxima del consorcio microalgal, de acuerdo a la guía OECD 201.
2. Medir la actividad estrogénica de bisfenol-A y triclosán, presentes en agua residual sintética, mediante la validación la técnica de BioLuminescent Yeast Estrogen Screen (BLYES) acoplada con CG/MS.
3. Evaluar el efecto que tiene la adición de bisfenol-A o triclosán en un consorcio microalgal con predominancia de *Scenedesmus obliquus* y *Desmodesmus* sp., cuantificando el crecimiento (sólidos suspendidos totales y clorofila a) y la producción de biomoléculas (carbohidratos, lípidos y proteínas).
4. Determinar a nivel laboratorio la capacidad de un sistema basado en microalgas para tratar agua residual sintética contaminada con bisfenol-A y triclosán; por medio de la medición en el cambio en los nutrientes, DQO soluble, los compuestos emergentes presentes y actividad estrogénica.
5. Establecer las vías de remoción involucradas en la eliminación de bisfenol-A y triclosán en un tratamiento de agua residual basado en microalgas, cuantificando para cada vía de remoción el porcentaje de eliminación de los dos contaminantes emergentes adicionados.

### 4.3 Alcances

- Se determinarán las vías de remoción y la actividad estrogénica de bisfenol-A y triclosán en agua residual sintética a nivel laboratorio usando un consorcio microalgal, previamente adaptado en agua residual, con Predominancia de *S. obliquus* y *Desmodesmus* sp.
- Se evaluará la respuesta al estrés del consorcio microalgal al ser expuesto a BPA o TCS, realizando experimentos a nivel laboratorio.

## 5. METODOLOGÍA

La metodología a seguir se dividió en seis etapas: curvas de calibración y producción de biomasa; determinación de EC<sub>50</sub>, validación de la técnica BLYES/GC-MS, efectos de los contaminantes emergentes sobre el consorcio microalgal, determinación de vías de remoción a escala laboratorio y determinación de la actividad estrogénica. En la figura 7 se muestra un diagrama de flujo general de la metodología a empleada.

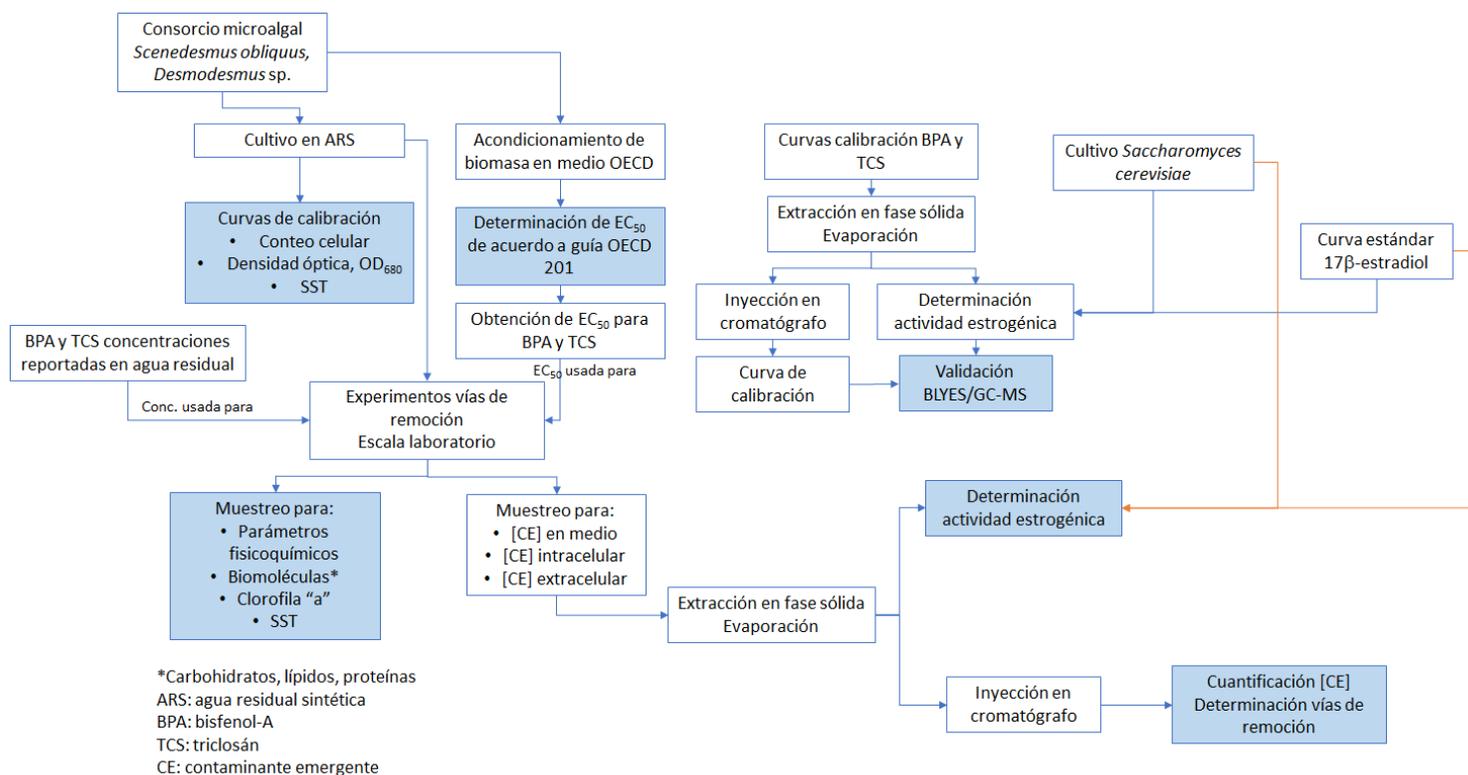


Figura 7. Diagrama de flujo general de la metodología a usar

### 5.1. Parámetros fisicoquímicos de agua residual sintética y curvas de calibración

#### 5.1.1. Parámetros fisicoquímicos de agua residual sintética

La caracterización del agua residual se realizó con los parámetros y métodos enlistados en la tabla 12.

Tabla 12. Métodos para la caracterización de agua residual

Parámetro	Método analítico	Técnica
Sólidos suspendidos totales	Método 2540 D	Gravimetría
Ortofosfatos	Método de cloruro de estaño, 4500P-D	Colorimétrico, a longitud de onda de 690 nm
Nitrógeno amoniacal	Método 4500-NH3 C	Destilación con NaOH y titulación con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
DQO	Método 5220 D	Colorimétrico, a longitud de onda de 600 nm

Parámetro	Método analítico	Técnica
Nitratos	Método 353.1, EPA Sulfato de brucina	Colorimétrico, a longitud de onda de 410 nm
Nitritos	Método 353.2, EPA Ácido sulfanílico	Colorimétrico, a longitud de onda de 543 nm
Alcalinidad total como CaCO <sub>3</sub>	Método 2320B	Titulométrico. Titulación con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>

La composición del agua residual sintética se muestra en la tabla 13, la cual está basada en el medio BG-11 (el cuál no incluye contenido de materia orgánica) , esta agua residual sintética (ARS) corresponde a una composición típica de agua residual doméstica (Habibi *et al.*, 2019).

**Tabla 13.** Composición del agua residual sintética (ARS)

Compuesto	Concentración (mg/L)
NaNO <sub>3</sub>	42
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	48
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	75
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	36
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	20
Ácido cítrico	6
EDTA	1
Solución de metales traza*	1 mL/L
NH <sub>4</sub> Cl**	40

\*Composición solución metales traza (mg/L): H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 2.86; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 1.81; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.222; NaMoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.39; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0.079; Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.049; glucosa, 0.09

\*\*añadido para contenido de nitrógeno amoniacal

### 5.1.2. Curva de calibración de crecimiento de microalgas

Se realizó una curva de calibración en la que se relaciona la absorbancia del cultivo a 680 nm que se midió en un espectrofotómetro Hach DR3900, contra los mg/L de biomasa (o sólidos suspendidos totales, SST) y el conteo celular. Se preparó la curva de calibración para el agua residual sintética, preparando 50 mL de cada punto de la curva de calibración, a densidades ópticas a 680 nm (OD<sub>680</sub>), aproximadas de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0

#### *Sólidos suspendidos totales*

Para la medición de SST se tomaron 10 mL de muestra y se siguió la técnica gravimétrica del Método 2540 D. Se graficó el contenido de SST contra la densidad óptica a 680 nm y contra el conteo celular.

#### *Conteo celular*

La segunda curva de calibración que se realizó fue el número de células/mL, el conteo se realizó en una cámara de Neubauer, (Blaubrand, Alemania, Ref. 717810) de 0.0025 mm<sup>2</sup> de área y 0.1 mm de profundidad, observando en un microscopio óptico Carl Zeiss Microscopie Axio Lab.A1 a un aumento de 40X. Se graficó el conteo celular contra la densidad óptica a 680 nm y en otro gráfico, el conteo celular se graficó contra los SST.

## 5.2. Efecto toxicológico

Se observó el efecto que los contaminantes emergentes tienen sobre el crecimiento del consorcio microalgal, probando distintas concentraciones y se obtuvo una concentración de dosis letal media ( $EC_{50}$ ).

Los experimentos se realizaron siguiendo la metodología de la guía OECD 201, para BPA se usaron, concentraciones de 5.0, 10.0, 15.0, 16.0, 17.0, 18.0, 19.0, 20.0 y 25.0 mg/L. Para triclosán 300, 325, 350, 375, 400, 425 y 450  $\mu\text{g/L}$ . Para cada contaminante se realizó un control sin contaminante emergente y un control con metanol. Las condiciones experimentales fueron fijadas en:

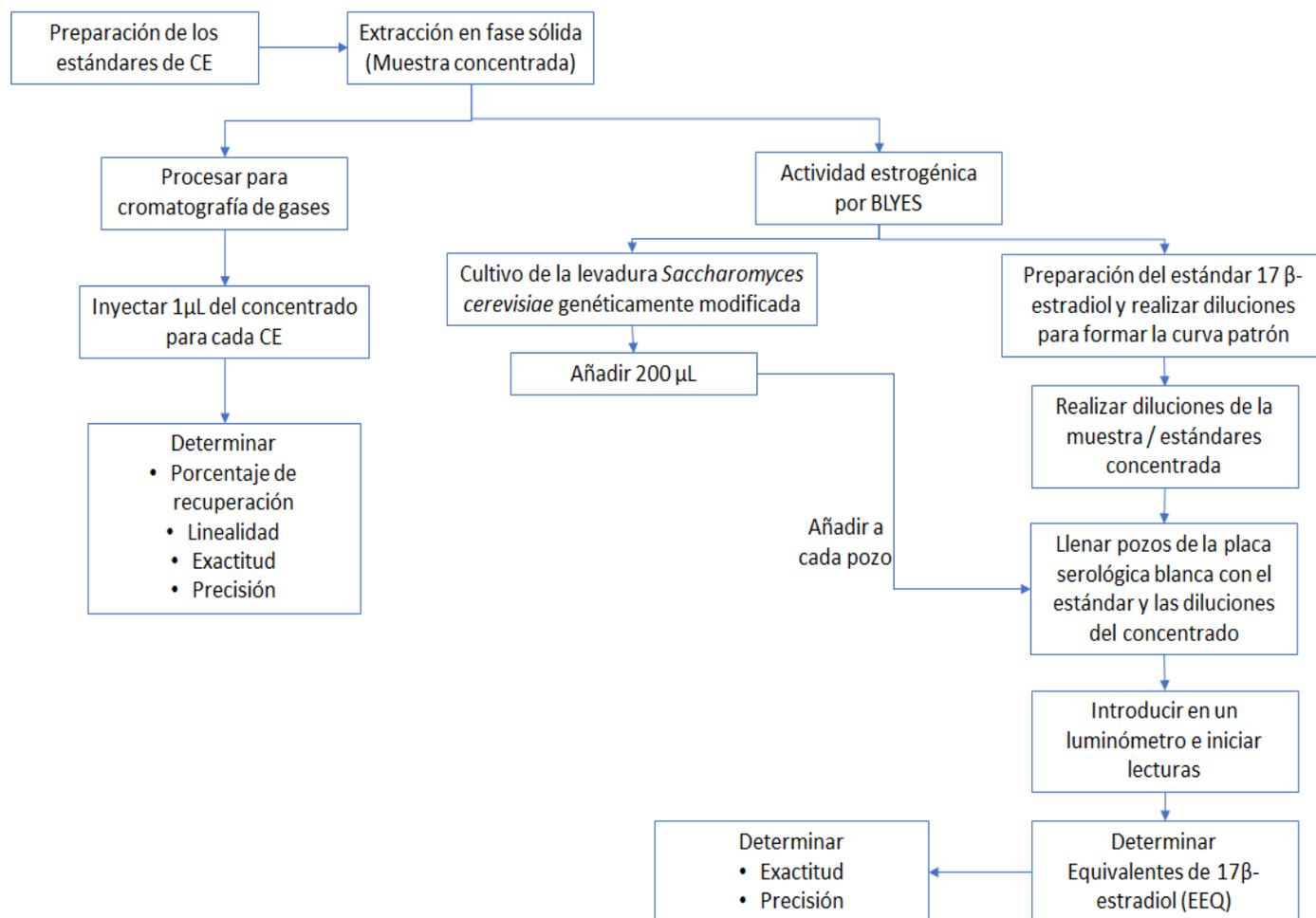
- Volumen: 150 mL
- Luz constante: 100  $\text{mmol/s m}^2$
- Agitación: 150 rpm
- Temperatura ambiente
- Concentración inicial microalgas  $\approx 10^4$  cel/mL
- Tiempo de ensayo: 96 horas

El medio de cultivo utilizado fue el recomendado por OECD, cuya composición incluye por cada litro de medio:  $\text{NaHCO}_3$  50 mg,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  15 mg,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$  12 mg,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$  18 mg,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7(\text{H}_2\text{O})$  15 mg,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.6 mg,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$  0.0640 mg,  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$  0.1 mg,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  0.185 mg,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4(\text{H}_2\text{O})$  0.415 mg,  $\text{ZnCl}_2$  0.003 mg,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$  0.0015 mg,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$  0.007 mg,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$  0.00001 mg, el medio tiene un pH de 8.1. Debido a las bajas cantidades de reactivo para la preparación del medio se realizaron soluciones estándar de acuerdo a la guía OECD 201 las cuales se describen en el anexo B1.

El conteo celular se realizó cada 24 horas en una cámara de Neubauer, observando en un microscopio óptico Carl Zeiss Microscopie Axio Lab.A1 a un aumento de 40X. Al inicio y final del experimento se observaron las microalgas en un microscopio óptico Carl Zeiss Microscopie Axio Lab.A1 a un aumento de 100X para observar cambios fisiológicos que pudieran ocurrir debido a la adición de los contaminantes emergentes.

## 5.3. Validación BLYES/GC-MS

Para la validación de la técnica de cromatografía de gases / espectrometría de masa y BLYES (GC/MS-BLYES) se siguió lo planteado en el diagrama de flujo mostrado en la Figura 8. Esta metodología está planteada para que la muestra tratada sea usada para GC/MS y BLYES.



**Figura 8.** Diagrama general de flujo para la validación de la técnica GC/MS-BLYES

### 5.3.1. Curva de calibración de contaminantes emergentes

Se realizaron curvas de calibración para cada contaminante emergente (BPA  $\geq 99\%$  Sigma Aldrich 239658-50G; TCS  $\geq 99\%$  Sigma Aldrich PHR-1338-1G) y el uso de metanol grado HPLC  $\geq 99.9\%$  (Sigma Aldrich 34860-1L).

#### *Preparación del material*

Para evitar interferencias en el análisis de las muestras, así como en la preparación de las curvas de calibración, el material de cristalería (no volumétrico) se lavó con detergente libre de fosfatos y abundante agua, después se remojó 24 horas en agua corriente, posteriormente se remojó en agua Milli-Q por 24 horas, se dejó secar por 24 horas y se desorbió en un horno a  $180^{\circ}\text{C}$  durante 2 horas.

#### *Curvas de calibración*

Para el análisis cromatográfico, se elaboraron curvas de calibración individualmente para triclosán y bisfenol-A. Se prepararon cinco curvas de calibración para cada analito. Las concentraciones usadas en la curva se establecieron en 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 y 20.0 mg/L para bisfenol-A y para triclosán de 50,

100, 200, 300 y 400  $\mu\text{g/L}$ ; aforando con metanol (curvas directas) a un volumen de 25 mL. Las curvas preparadas con metanol se evaporaron en una parrilla de calentamiento a 55 °C, hasta obtener un volumen de 300  $\mu\text{L}$ . Para comprobar el porcentaje de recuperación por extracción en fase sólida (SPE), se realizó una curva de calibración aforada con agua Milli-Q a 25 mL, para cada analito y a las mismas concentraciones ya mencionadas. Éstas, se pasaron por extracción en fase sólida como se describe en el punto 5.3.1.3. Las curvas de calibración se prepararon a partir de una solución stock de 1 mg/mL.

### ***Extracción en fase sólida***

Para realizar la extracción en fase sólida se utilizaron cartuchos OASIS C-18 con 500 mg de fase sólida (Waters Oasis HLB 6cc, Part. No. 186000115). Se inició con el acondicionamiento del cartucho de extracción en fase sólida adicionando 6 mL de metanol, el cual permaneció durante 15 minutos en el cartucho. Se eluyó el metanol aplicando vacío. La muestra se filtró a través del cartucho OASIS C-18 a flujo lento (aprox. 10 mL/min) a velocidad constante aplicando vacío. Los analitos retenidos en la fase sólida se eluyeron con 6 mL de metanol a flujo lento y velocidad constante aplicando vacío. El extracto obtenido se evaporó en una parrilla con calentamiento a 55 °C hasta obtener un volumen de 300  $\mu\text{L}$  (Factor de concentración 83.33x). Se inyectó 1  $\mu\text{L}$  de cada punto de la curva de calibración por triplicado en un cromatógrafo de gases (Agilent, modelo 7890A) acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent, modelo 5975C).

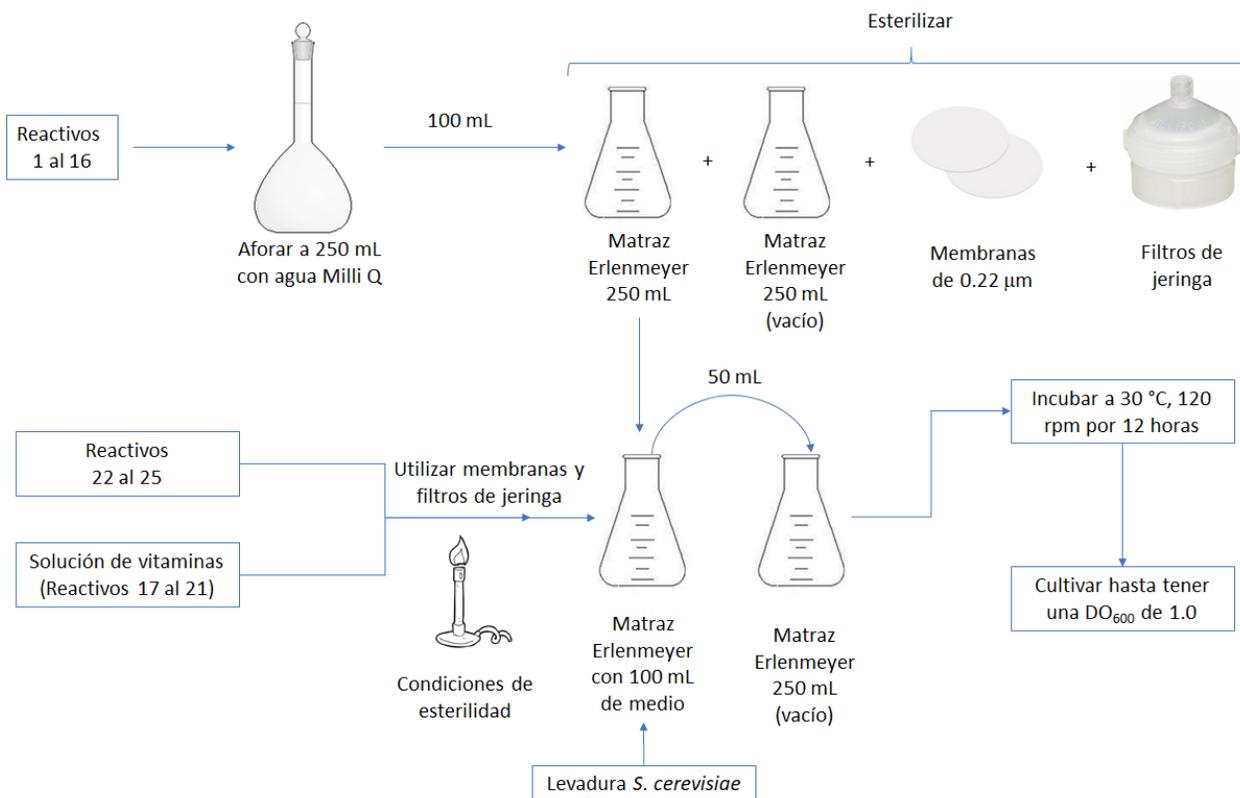
Las condiciones del cromatógrafo fueron:

- ✓ Temperatura de inyección: 250 °C
- ✓ Columna: DB5-MS (30 m x 0.25 mm i.d x 0.25  $\mu\text{m}$  film)
- ✓ Gas acarreador: Helio
- ✓ Rampas de temperatura en el horno (Ma *et al.*, 2017):
  - Inicia en 60°C manteniéndose por 1 min
  - Aumenta 20°C/min hasta llegar a 80°C manteniéndose 1 min
  - Aumenta 5°C/min hasta llegar a 110°C manteniéndose 1 min
  - Aumenta 5°C/min hasta llegar a 150°C manteniéndose 1 min
  - Aumenta 5°C/min hasta llegar a 230°C manteniéndose 1 min
  - Aumenta 20°C/min hasta llegar a 300°C manteniéndose 4 min.
  - Tiempo total: 37.5 minutos
- ✓ Detector: Espectrómetro de masas marca Agilent, modelo MS5975
- ✓ Modo de operación del detector: modo SIM Modo: Splitless
- ✓ Iones específicos:
  - BPA, m/z: 65.0, 91.0, 119.0, 213.0, 228.0
  - TCS, m/z: 51.0, 63.0, 79.0, 114.0, 146.0, 218.0, 290.0

### **5.3.2. Preparación del cultivo de la levadura *Saccharomyces cerevisiae***

La cepa *S. cerevisiae* BLYES es cultivada en medio Yeast Minimal complementado (YMM leu-, ura-comp), la formulación del medio se enlista en el anexo B2.

La preparación del medio de cultivo y el cultivo de *S. cerevisiae* se ilustra en la Figura 9.



**Figura 9** Diagrama de la preparación del medio de cultivo y el cultivo de la levadura *S. cerevisiae*

La levadura *S. cerevisiae* proviene de un stock que se mantiene en ultracongelación, la preparación de este stock se describe en el anexo B3.

### 5.3.3. Dilución de muestras

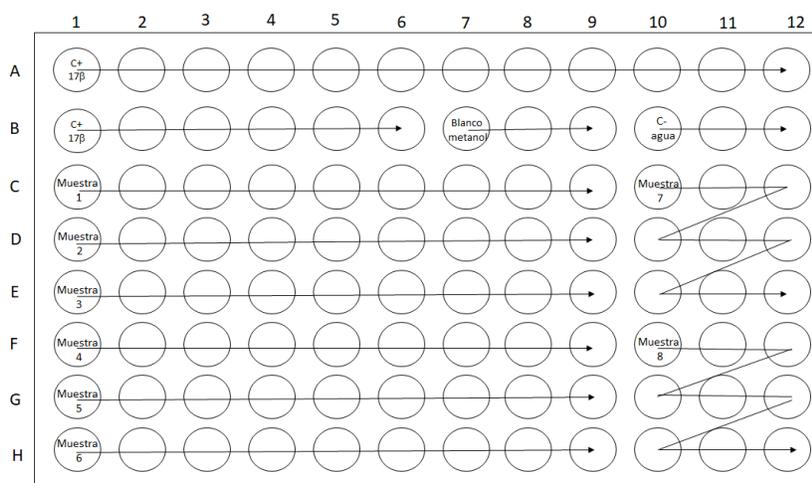
De las inyecciones en cromatografía se determinaron las tres curvas de calibración que presentaron la menor desviación estándar, éstas fueron las utilizadas para el ensayo de BLYES. De las muestras concentradas se realizaron diluciones de acuerdo a lo mostrado en la Figura 10. Los volúmenes indicados son los que se usaron para el análisis de la actividad estrogénica, que se explicará más adelante en el punto 5.3.5.



### 5.3.5. Análisis de actividad estrogénica

Una vez realizadas las diluciones descritos en la sección 5.3.3 y el cultivo de la sección 5.3.2, se procedió a realizar el ensayo BLYES, utilizando una placa serológica de 96 pozos, el llenado de los pozos se realizó como sigue:

Se adicionaron 40  $\mu\text{L}$  de cada una de las diluciones de la curva estándar de 17  $\beta$ -estradiol (dilución uno a la 18), se adicionaron 40  $\mu\text{L}$  de metanol (blanco metanol) y agua Milli-Q (control negativo agua). Se tomaron los volúmenes de las muestras indicados en la figura 11 y se colocaron en sus respectivos pozos (1 al 9). Se dejaron secar los volúmenes colocados en la placa, una vez evaporados se añaden a cada pozo 200  $\mu\text{L}$  del cultivo de la levadura *S. cerevisiae* OD<sub>600</sub> de 1.0, una vez llena la placa se colocó una membrana de sello transpirable y posteriormente se introdujo en un luminómetro que determinó la actividad estrogénica. El llenado de la placa se ilustra en la Figura 12.

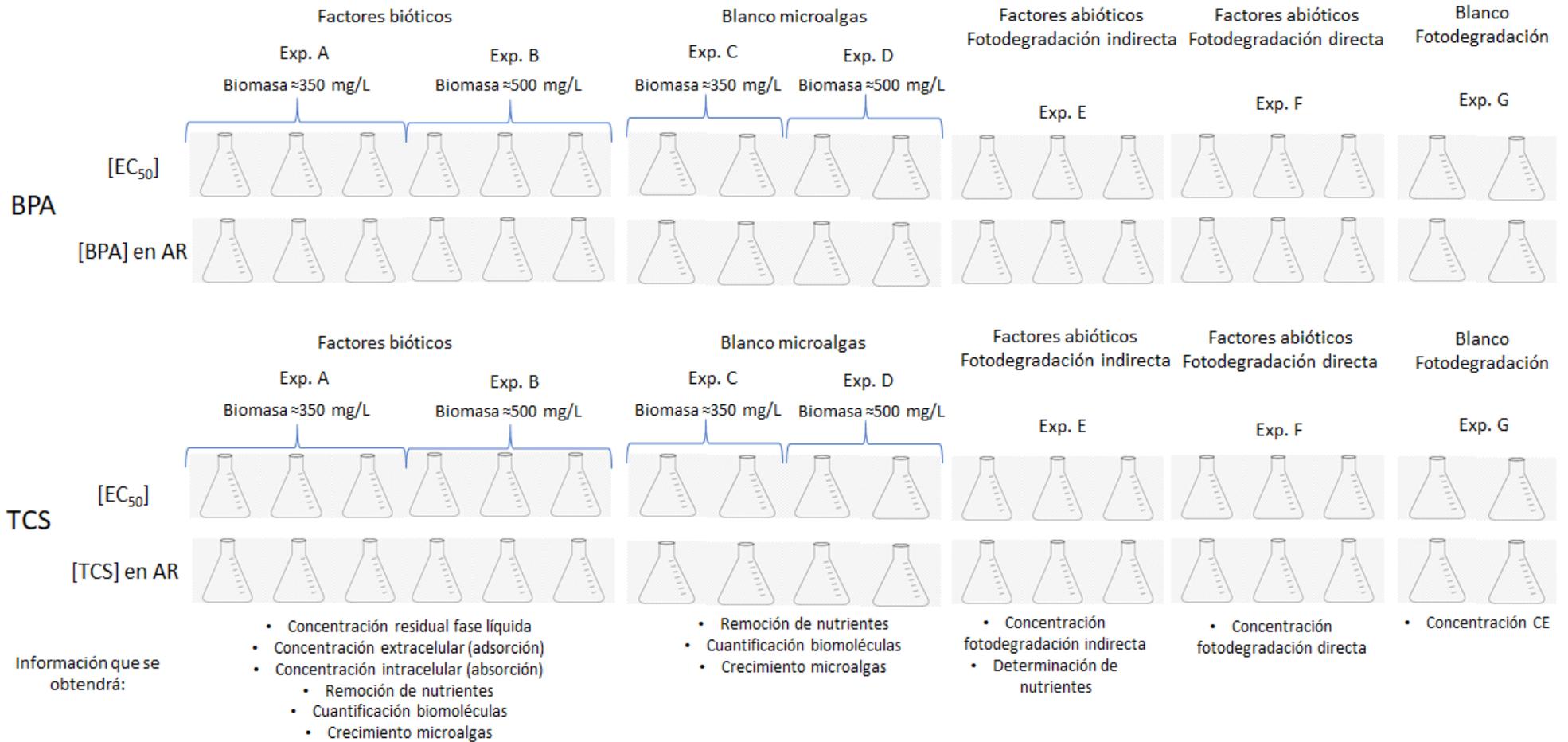


**Figura 12** Esquema para el llenado de las placas serológicas

La lectura de la placa se llevó a cabo en un luminómetro BioTek FLX800, que registra los datos en escala logarítmica generando una curva sigmoideal de componentes hormonales activos. Para ello, el equipo cuenta con un software especializado (Gen5 Microplate Reader and Imager Software), el cual proporciona la lectura de luminiscencia que se refieren a la concentración en moles de 17  $\beta$  – estradiol. El equipo hace la lectura de luminiscencia (una cuenta por segundo) versus la concentración de EDC en moles (M), tarda aproximadamente 2 minutos en emitir el resultado. Las lecturas se realizan cada 60 minutos durante 12 horas.

### 5.4. Determinación de las vías de remoción de contaminantes emergentes

La determinación de las vías de remoción de contaminantes emergentes (fotodegradación, biodegradación y sorción) se realizó en agua residual sintética. En la Figura 13, se muestra el arreglo experimental a seguir para la determinación de las vías de remoción.



**Figura 13** Arreglo experimental para la determinación de las vías de remoción de contaminantes emergentes

#### 5.4.1 Factores bióticos

Los factores bióticos son debidos a la presencia de organismos vivos, los factores que se evaluaron son biodegradación y biosorción (absorción y adsorción). Se realizó triplicado, el experimento A (Figura 13) tiene como medio de cultivo agua residual sintética.

Condiciones experimentales:

- Luz (12 h luz / 12 h oscuridad) 100 mmol/s m<sup>2</sup>; luz blanca fría
- Agitación (150 rpm)
- Temperatura ambiente
- Volumen inicial: 600 mL
- [CE]= EC<sub>50</sub> y concentración reportada en agua residual

#### 5.4.2 Factores abióticos, fotodegradación indirecta

La fotodegradación indirecta necesita la presencia de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> para la formación de radicales libres (como <sup>1</sup>O<sub>2</sub> y ·OH, [Matamoros et al, 2008](#)) que son los que rompen los enlaces de los contaminantes. Al igual que el experimento de factores bióticos el medio en que se realizó el experimento fue agua residual sintética.

Condiciones experimentales:

- Luz (12 h luz / 12 h oscuridad) 100 mmol/s m<sup>2</sup>; luz blanca fría
- Agitación (150 rpm)
- Temperatura ambiente
- Sin biomasa
- Volumen inicial: 600 mL
- [CE]= EC<sub>50</sub> y concentración reportada en agua residual

#### 5.4.3 Factores abióticos, fotodegradación directa

La fotodegradación directa consiste en la ruptura de las moléculas por acción directa de la luz. Por lo que en este experimento solo se evaluó la acción directa de la luz sin otras interferencias, teniendo como matriz agua Milli Q.

Condiciones experimentales

- Agua Milli-Q
- Luz (12 h luz / 12 h oscuridad) 100 mmol/s m<sup>2</sup>; luz blanca fría
- Agitación (150 rpm)
- Temperatura ambiente
- Sin biomasa
- Volumen inicial: 600 mL
- [CE]= EC<sub>50</sub> y concentración reportada en agua residual

#### 5.4.4 Blanco

El objetivo del blanco es tener una referencia de la concentración y estructura de los contaminantes a estudiar, se tuvieron dos blancos, uno de fotodegradación y otro de crecimiento de las microalgas. Condiciones experimentales:

##### *Blanco Fotodegradación*

- Agua Milli-Q
- Oscuridad
- Agitación (150 rpm)
- Temperatura ambiente
- Sin biomasa
- Volumen inicial: 600 mL
- [CE]= EC<sub>50</sub> y concentración reportada en agua residual

##### *Blanco crecimiento microalgas*

- Agua residual sintética
- Luz (12 h luz / 12 h oscuridad) 100 mmol/s m<sup>2</sup>; luz blanca fría
- Agitación (150 rpm)
- Temperatura ambiente
- Volumen inicial: 600 mL
- Sin adición de CE

En la Tabla 14, se esquematizan las condiciones de concentración de biomasa y contaminantes emergentes a usar en cada experimento.

**Tabla 14.** Condiciones experimentales para la determinación de vías de remoción y efecto de BPA y TCS

Experimento		Concentración biomasa mg/L	[BPA]= mg/L		[TCS]= µg/L	
Factores bióticos	A	300	17.0	9.87x10 <sup>-3</sup>	325.0	10.09
	B	500	17.0	9.87x10 <sup>-3</sup>	325.0	10.09
Blanco microalgas	C	300	0	0	0	0
	D	500	0	0	0	0
Fotodegradación directa	E	0	17.0	9.87x10 <sup>-3</sup>	325.0	10.09
Fotodegradación indirecta	F	0	17.0	9.87x10 <sup>-3</sup>	325.0	10.09
Blanco fotodegradación	G	0	17.0	9.87x10 <sup>-3</sup>	325.0	10.09

#### 5.4.5 Análisis de las muestras

De cada réplica de los experimentos se tomaron 100 mL de muestra los días 0, 3, 7, 10, 13 y 15. En la Tabla 15, se enlistan los parámetros a determinar para cada experimento, de acuerdo a lo establecido en la Figura 13.

**Tabla 15.** Parámetros a determinar por cada experimento de determinación de vías de remoción

Parámetro a determinar	Experimento						
	A	B	C	D	E	F	G
1	Temperatura						
2	pH						
3	DQO soluble						
4	Nitratos						
5	Nitritos						
6	Nitrógeno amoniacal						
7	Ortofosfatos						
8	Alcalinidad como mg CaCO <sub>3</sub> /L						
9	SST						
10	Clorofila "a"						
11	OD <sub>680 nm</sub>						
12	Conteo celular						
13	Tasa de crecimiento						
14	Proteínas						
15	Lípidos						
16	Carbohidratos						
17	Conc. CE en el medio						
18	Conc. CE intracelular						
19	Conc. CE extracelular						
20	Actividad estrogénica						

GC: cromatografía de gases; CE: contaminante emergente (BPA y TCS)

Los parámetros fisicoquímicos (1 al 8) se determinaron de acuerdo a los métodos enlistados en la Tabla 12. SST de acuerdo a la sección 5.1.3.1.

Para la medición de clorofila se tomaron 2 mL de cultivo y se agregaron 10 mL de metanol al 90% (extracción del pigmento), la mezcla se sometió a sonicación (Branson 2510 DTH Ultrasonic) por 20 minutos, posteriormente se calentó a 60 °C en un digestor Hach (DBR200) por 15 minutos; seguida de una centrifugación (Hermle Labortechnik GmbH, modelo Z513K) a 5000 rpm por 20 minutos. El sobrenadante se recuperó y se midió la absorbancia a longitudes de onda de 650, 665 y 750 nm (Toledo-Cervantes *et al.*, 2013) en un espectrofotómetro Hach DR 3900. Los resultados obtenidos a  $\lambda = 650$  y 665 nm se le resta a cada uno el obtenido a  $\lambda = 750$  nm. Para calcular el contenido de clorofila se emplearon las siguientes ecuaciones (Becker, 1994):

$$\begin{aligned} \text{Clorofila } a = C_a &= 16.5A_{665} - 8.3 A_{650} \\ \text{Clorofila } b = C_b &= 33.8 A_{650} - 12.5 A_{665} \\ \text{Clorofila } a + b &= 4.0A_{665} + 25.5A_{650} \end{aligned}$$

Estas ecuaciones se usan para una mezcla de microalgas usando metanol al 90% como disolvente, el contenido de clorofila está dado en  $\mu\text{g/mL}$ .

Donde:

$A_{665}$  Absorbancia medida a 665 nm

$A_{650}$  Absorbancia medida a 650 nm

El conteo celular se realizó a partir de la curva de calibración de conteo celular vs SST descrita en la sección 5.1.3.2. La tasa de crecimiento se hizo a partir de las mediciones de SST, usando la ecuación:

$$\mu = \frac{\ln A_1 - \ln A_0}{t_1 - t_0}$$

Donde:

$\mu$  es la tasa de crecimiento en días<sup>-1</sup>

$A_1$  SST al tiempo en que se toma la muestra

$A_0$  SST inicial

$t_1$  tiempo en que se toma la muestra

$t_0$  tiempo inicial

La determinación del contenido de biomoléculas (carbohidratos, lípidos y proteínas) se realizó como sigue:

- a) **Carbohidratos:** utilización del método colorimétrico fenol-ácido sulfúrico. A 1 mL de cultivo se agregó 1 mL de fenol al 5% (p/v) y 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Se dejó reposar por 10 minutos y se introdujo en un baño de agua a temperatura ambiente; midiendo en el espectrofotómetro Hach a 490 nm. El H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hidroliza los enlaces glucosídicos y el fenol reacciona con los monosacáridos dando una coloración amarillo-marrón (Hernández-García *et al.*, 2019).
- b) **Lípidos:** utilización del método colorimétrico de la sulfo-fosfovainillina. A 1 mL de cultivo se agregaron 2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de y se calentó a 100 °C por 15 minutos, transcurrido el tiempo las muestras se dejaron en un baño de hielo y se agregaron 5 mL de sulfo-fosfovainillina. Las muestras se mantuvieron a temperatura de 37°C por 15 minutos y se midieron en el espectrofotómetro Hach a 530 nm. En este método de determinación, el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a altas temperaturas reacciona con los lípidos formando iones carbonilo los cuáles reaccionan con el grupo carbonilo de la fosfovainillina formando un compuesto color rosado (Hernández-García *et al.*, 2019).
- c) **Proteínas:** método alcalino y de Biuret. Se tomaron 5 mL de cultivo y se ajustó el pH a 11 con NaOH 2N, se dejó en un baño de agua a 40 °C por una hora agitando cada 10 minutos. Terminado el tiempo de una hora se dejó reposar por 30 minutos, al término del tiempo, el sobrenadante de la muestra se filtró con una membrana de 0.45 µm de diámetro de poro. De la muestra filtrada se tomó 1 mL y se agregaron 4 mL de reactivo de Biuret, se agitó y se midió en el espectrofotómetro a 540 nm. Este método se basa en la formación de un complejo coloreado entre el Cu<sup>2+</sup> y los grupos NH de los enlaces peptídicos en medio básico. El Cu<sup>2+</sup> se acompleja con los grupos NH en una estequiometría 1:4 (Uzun *et al.*, 2012).

La preparación de las soluciones usadas para la determinación de las biomoléculas se describe en el anexo C.

Para determinar la concentración de CE (contaminante emergente, solo para los experimentos con EC<sub>50</sub>) en el medio se tomaron 20 mL del cultivo de microalgas y se centrifugó a 4000 rpm por 20 minutos, el sobrenadante se trató de acuerdo a lo descrito en la sección 5.1.2.3, para los experimentos sin microalgas se trató directamente la muestra para extracción en fase sólida. La determinación de la concentración de CE extracelular e intracelular se realizó de acuerdo a lo realizado por [He et al, 2016](#). El pellet centrifugado se trató como sigue: se agregaron 6 mL de metanol agitando por 60 segundos, seguido de una centrifugación a 8000 rpm por 25 minutos, se repitió el lavado una segunda vez para asegurar la extracción del contaminante emergente; posteriormente se trató el sobrenadante para la extracción en fase sólida (concentración extracelular). Al pellet después de centrifugar se le agregaron 3 mL de una mezcla diclorometano / metanol (1:2 v/v) y se sometió a sonicación por 20 minutos. Se centrifugó a 8000 rpm por 25 minutos. Los lavados con la mezcla de diclorometano / metanol se realizaron tres veces para asegurar la extracción del CE. El sobrenadante se trató para extracción en fase sólida (concentración intracelular) previamente filtrado con ayuda de una jeringa y filtros PVDF de 0.22 μm (Millex Filter Unit, Ref.: SLGV033NB). Las muestras para los experimentos de fotodegradación fueron de 20 mL, se filtraron a través de un filtro de 0.22 μm y se pasaron a la SPE.

La actividad estrogénica se determinó de acuerdo a la sección 5.3 y se realizó para los parámetros 17 al 19 (Tabla 15) para los experimentos A, B, E, F y G.

#### 5.4.6 Balance de masa

De la determinación de la concentración de los CE en el medio, intracelular y extracelular, y por acción de la fotodegradación, el balance de masa se representa por la siguiente expresión matemática:

$$X_b = X_i - X_r - X_e - X_a - X_{fa} - X_{of}$$

Donde

- X<sub>b</sub> Concentración biodegradada
- X<sub>i</sub> Concentración inicial
- X<sub>r</sub> Concentración residual en la fase acuosa
- X<sub>e</sub> Concentración extracelular o adsorbida
- X<sub>a</sub> Concentración intracelular o absorbida
- X<sub>fa</sub> Concentración degradada por factores abióticos
- X<sub>of</sub> Concentración degradada por otros factores

Donde la concentración degradada por factores abióticos está definida por:

$$X_{fa} = X_{fd} + X_{fi}$$

Donde:

$X_{fd}$  Concentración degradada por fotodegradación directa

$X_{fi}$  Concentración degradada por fotodegradación indirecta

Por lo que el balance de masa queda:

$$X_b = X_i - X_r - X_e - X_a - X_{fd} - X_{fi} - X_{of}$$

### 5.4.7 Diseño experimental

En el diseño planteado para la determinación de los mecanismos de remoción se observan varias condiciones experimentales que son: (1) concentración inicial del contaminante a estudiar, (2) concentración de biomasa, (3) luz (la cual se medirá con un Terrestrial Quantum Sensors” de LI-COR Biosciences que cuenta con un sensor de modelo LI-190R), (4) medio de cultivo, (5) agitación, (6) temperatura y (7) volumen. De las cuales la biomasa, luz, concentración del contaminante emergente y medio acuoso son los que influyen en el experimento, los demás se conservan fijos en todos los experimentos, por lo que se asumirá una influencia nula.

Para simplificar el análisis estadístico se analizará como un diseño de bloques al azar. Los bloques serán los contaminantes emergentes, BPA, TCS por lo que se tendrán 2 bloques. Para cada bloque se tendrán 3 tratamientos diferentes y dos controles, los cuales consisten en las siguientes condiciones experimentales:

- Tratamiento 1: Luz – Biomasa – Medio de cultivo (L-B-M)
- Tratamiento 2: Luz – Sin biomasa – Medio de cultivo (L-NB-M)
- Tratamiento 3: Luz – Sin biomasa– Agua Milli Q (L-NB-A)
- Tratamiento 4: Oscuridad – Sin biomasa– Agua Milli Q (O-NB-A)
- Tratamiento 5: Luz – Biomasa – Sin CE – Medio de cultivo (L-B-M)

En donde el medio de cultivo es el BG-11 o agua residual sintética, según lo indicado en la Figura 13. De acuerdo a esta figura, los tratamientos corresponden a:

- Tratamiento 1: Factores bióticos
- Tratamiento 2: Fotodegradación indirecta
- Tratamiento 3: Fotodegradación directa
- Tratamiento 4: Blanco fotodegradación
- Tratamiento 5: Blanco crecimiento microalgas

De cada tratamiento se hará un triplicado, por lo que el diseño queda como un 3x5x3, que equivale a 45 observaciones. El diseño experimental se puede considerar como bloques al azar, como se muestra en la Tabla 16

**Tabla 16** Diseño de bloques para determinación de mecanismos de remoción

Contaminante (Bloque)	Tratamientos				
	Factores bióticos	Fotodegradación indirecta	Fotodegradación directa	Blanco fotodegradación	Blanco crecimiento microalgas
BPA	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep
TCS	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep

El modelo estadístico para un diseño de bloques se representa por:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

$i = 1, \dots, 3$  Bloques

$j = 1, \dots, 5$  Tratamientos

$k = 1, 2, 3$  Repeticiones

Dónde:

- $\mu$  Media general
- $\tau_i$  Efecto del bloque “contaminante emergente”
- $\beta_j$  Efecto del tratamiento
- $\varepsilon_{ij}$  Error experimental de la unidad experimental

En este tipo de diseño no hay interacción entre bloque y tratamiento, por lo que los efectos de los tratamientos son aditivos. El análisis estadístico se realizará con el programa R Studio

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Efecto toxicológico, determinación EC<sub>50</sub>

Se estudió el efecto toxicológico del bisfenol-A y el triclosán tomando como referencia la guía 201 para la prueba de sustancias químicas de la OECD, de la cual se tomaron en cuenta las siguientes recomendaciones: la biomasa empleada se inoculó durante la fase de crecimiento logarítmico, al final del experimento el crecimiento del blanco debe ser al menos 16 veces que la concentración inicial, el tiempo del experimento es de 72 o 96 horas, el medio de cultivo usado es el OECD (ver anexo B para formulación del medio), la biomasa inicial no debe exceder los 0.5 mg/L, probar por lo menos cinco concentraciones del contaminante emergente a estudiar, las condiciones de iluminación de luz blanca fría constante (medición realizada: 100  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ).

#### 6.1.1 Experimentos control (blanco)

Los experimentos control (o blanco) se realizaron adicionando metanol al cultivo microalgal (100  $\mu\text{L}/\text{L}$ ) y sin adición de metanol ni contaminante emergente. Los experimentos de efecto toxicológico de BPA y TCS, se llevaron a cabo en fechas distintas, por lo que cada experimento tiene sus respectivos controles. En el Gráfico 1 se muestra el crecimiento del consorcio microalgal en los controles para los experimentos de determinación de EC<sub>50</sub> para BPA. El control de crecimiento de microalgas sin metanol indica que la concentración inicial de microalgas se multiplicó 41 veces a las 72 horas y 46 veces a las 96 horas. En cuanto al control con adición de metanol se muestra un crecimiento menor respecto al control sin BPA y metanol, multiplicando la concentración inicial de microalgas 26 veces a las 72 horas y 24 veces a las 96 horas. Para verificar si el metanol tiene efecto en la reducción del crecimiento de las microalgas, se realizó un análisis de varianza, ANOVA.

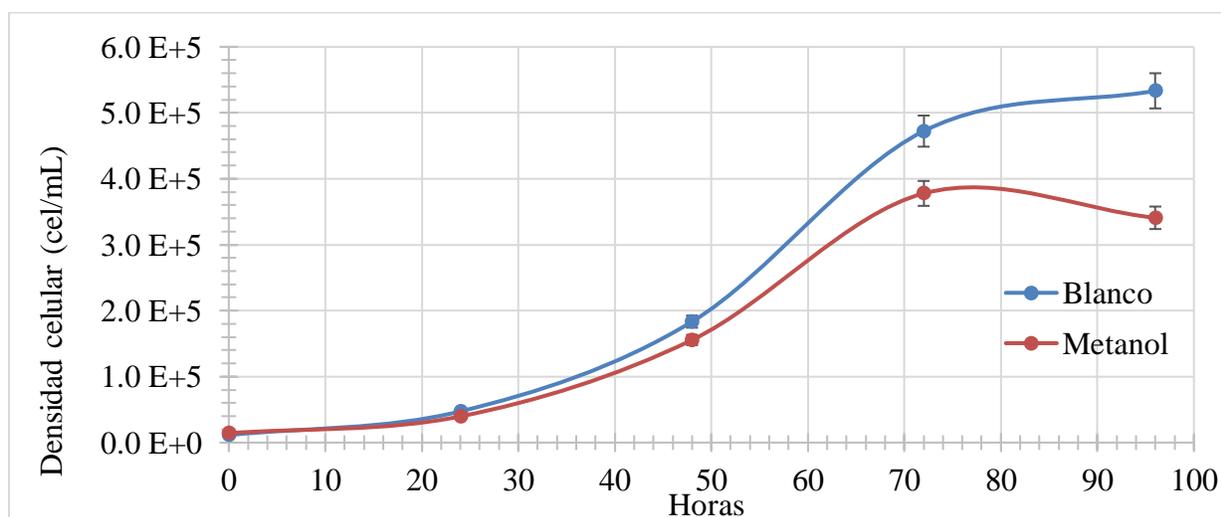
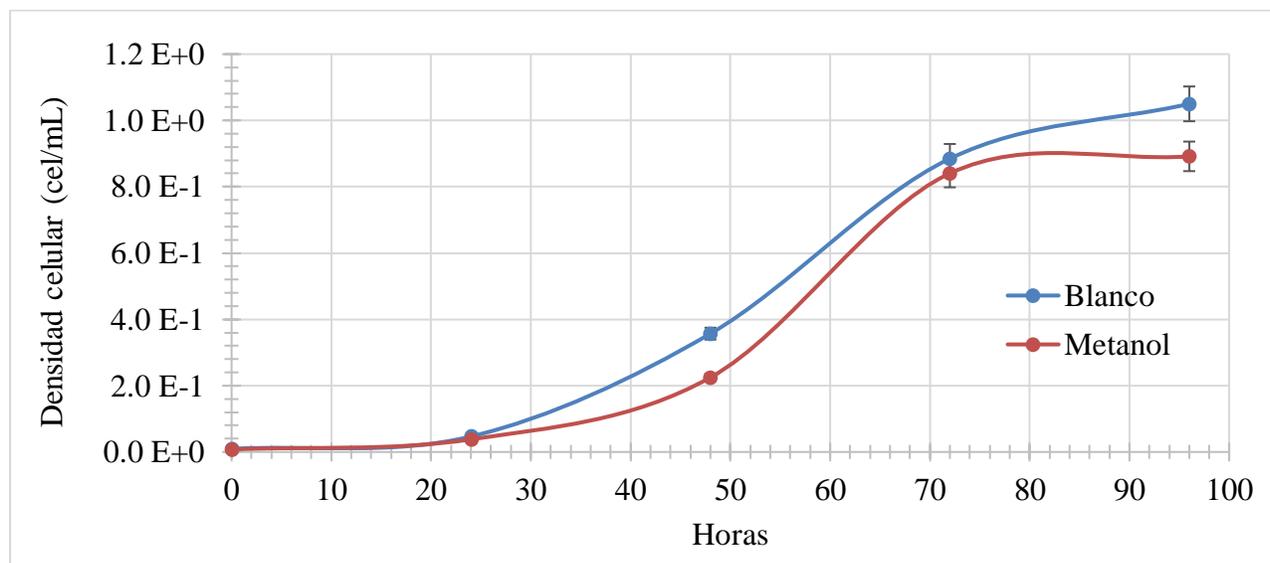


Gráfico 1. Controles (en presencia y ausencia de metanol) en el crecimiento de *Desmodesmus* sp. y *S. obliquus*. Experimentos control realizados para BPA

En el análisis de varianza se observa que los factores considerados son el tiempo de exposición (0, 24, 48, 72, 96 horas) y la concentración de metanol (0 y 100  $\mu\text{L}/\text{L}$ ). El metanol ( $P \approx 1.0$ ) tiene un efecto

poco significativo sobre la variable de respuesta (cantidad de células viables), solo el tiempo ( $P \approx 0$ ) influye en el crecimiento.

Se realizó el mismo análisis para los controles en la determinación de la  $EC_{50}$  para el triclosán. En el Gráfico 2, se muestra el crecimiento de los controles. La concentración inicial de microalgas se multiplicó 93 veces a las 72 horas y 111 veces a las 96 horas para el experimento sin adición de metanol o TCS. Mientras el control con adición de metanol muestra un crecimiento de 112 veces con respecto a la concentración inicial de microalgas a las 72 horas y de 118 veces a las 96 horas.



**Gráfico 2.** Controles (en presencia y ausencia de metanol) en el crecimiento de *Desmodesmus* sp. y *S. obliquus*

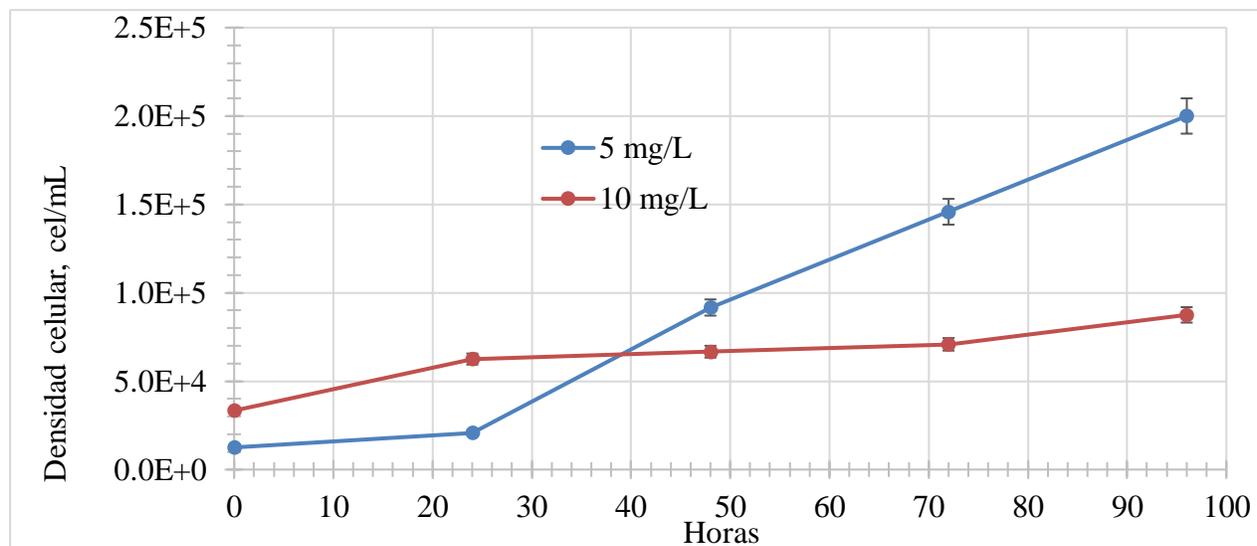
Al igual que con el BPA, se realizó un ANOVA para determinar si el metanol tiene un efecto inhibitorio en el crecimiento del consorcio microalgal. Las concentraciones de metanol ( $P \approx 1.0$ ) tienen influencia poco significativa en el crecimiento del consorcio microalgal, solo el tiempo de exposición ( $P \approx 0$ ) tiene un efecto significativo en el crecimiento del consorcio microalgal.

*P. subcapitata* tiene una  $EC_{50}$  al metanol de 2 570 mM (Cho *et al.*, 2009), la cantidad de metanol usada en este experimento fue de 100  $\mu$ L/L que equivale a 2.47 mM siendo 1000 veces menor a la concentración reportada como letal media para *P. subcapitata*. Especies de microalgas como *C. vulgaris* y *S. capricornutum* mostraron inhibición del crecimiento a una concentración de metanol de 3.96 g/L; *Raphidocelis subcapitata* y *C. pyrenoidosa* a 4.68 g/L; *D. tertiolecta*, *Isochrysis galbana* y *Heterosigma akashiwo* registraron un decaimiento del crecimiento de 50% a 23 g/L, 21 g/L y 0.5 g/L, respectivamente (Miazek *et al.*, 2017).

### 6.1.2 Bisfenol-A

Las concentraciones de BPA de 5 y 10 mg/L no mostraron tener un efecto inhibitorio en el crecimiento del consorcio microalgal, se observó que permite al consorcio seguir creciendo. En el gráfico 3 se muestran las curvas de crecimiento en presencia de BPA. La concentración de 5 mg/L presenta un

crecimiento 16 veces mayor con respecto a la concentración inicial a las 96 horas de exposición. Mientras la concentración de 10 mg/L de BPA a las 96 horas de exposición mostró un incremento en la densidad celular de 2.62 veces con respecto a la inicial.



**Gráfico 3** Crecimiento del consorcio microalgal al ser expuesto a BPA

De acuerdo al Gráfico 4, la  $EC_{50}$  para BPA se ubica a una concentración de 17 mg/L a las 72 horas, de acuerdo al ANOVA, la adición de metanol no tiene influencia significativa en la inhibición del crecimiento, por lo que se atribuye este efecto inhibitorio a la presencia de BPA. En la Tabla 17, se muestra el porcentaje de crecimiento e inhibición del crecimiento para las concentraciones usadas de BPA. En el Gráfico 4 se muestra solo el porcentaje de inhibición del consorcio microalgal.

**Tabla 17.** Porcentajes de inhibición y crecimiento en la determinación de la  $EC_{50}$  para BPA

Tiempo Horas	Blanco	Metanol 100 $\mu$ L/L	Concentraciones BPA, mg/L								
			5	10	15	16	17	18	19	20	25
			% de crecimiento			% inhibición de crecimiento					
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	415.85	280.39	166.67	187.5	92.09	91.11	81.99	78.57	45.16	20.39	25.83
48	1609.76	1098.04	733.33	200	67.44	77.78	77.96	68.57	40.65	20.29	25.83
72	4146.34	2666.67	1166.67	212.5	61.63	55.56	50.54	34.92	30.97	16.67	20
96	6341.46	2701.96	1600.00	262.5	56.98	46.30	30.65	30.16	29.03	15.59	15

La concentración de BPA reportada en agua residual es de  $[BPA_{AR}] = 0.02$  a  $9.87 \mu\text{g/L}$  (Peña-Álvarez y Castillo-Alanís, 2017, Calderón *et al.*, 2019), a una concentración de microalgas de  $1.54 \times 10^4$  cel/mL la inhibición de crecimiento se da a los 3 días (72 horas) por lo que el consorcio microalgal usado puede tratar agua residual contaminada con BPA. De acuerdo al análisis estadístico el tiempo de exposición ( $P \approx 0$ ), concentración de BPA ( $P \approx 0$ ) y la interacción de ambos factores ( $P \approx 0$ ), afectan la inhibición del crecimiento del consorcio microalgal. Por lo que la determinación de la  $EC_{50}$  depende del tiempo de exposición y la concentración del BPA.

En la Tabla 18 se enlistan varios estudios en los que se usaron concentraciones similares de BPA que las empleadas para determinar la EC<sub>50</sub> en este estudio. Se observa que las concentraciones usadas de BPA y la concentración de microalgas empleadas son similares a lo empleado por otros estudios.

Las concentraciones letales medias (EC<sub>50</sub>) reportadas para *Scenedesmus* y *Desmodesmus* son de 19.6 mg/L a las 72 horas para *D. subspicatus* con una concentración inicial de 10<sup>4</sup> células/mL (Tisler *et al.*, 2016). *S. quadricauda* a 96 horas, 13.233 mg/L con una concentración inicial de 2.13 x 10<sup>6</sup> células/L (Xiang *et al.*, 2018); sin embargo, las EC<sub>50</sub> reportadas son para cultivos puros, mientras en este estudio se tiene un consorcio.

Otros experimentos realizados en otras especies de microalgas distintas a las enlistadas en la Tabla 18, muestra que microalgas como *Ditylum brightwellii*, *Skeletonema costarum*, *Prorocentrum minimum*, *S. capricornurum*, y *Navicula incerta*, tuvieron como concentraciones letales media (EC<sub>50</sub>) 0.039, 1.0, 1.506, 2.73 y 3.37 mg/L, siendo microalgas altamente sensibles al estrés por BPA. Otras especies de microalgas que son muy tolerantes al estrés provocado por la presencia de BPA, son *C. pyrenoidosa* (44.9 – 89.39 mg/L), *Cochlodinium polykrikoides* (68.15 mg/L), *C. mexicana* (44.8 mg/L), *C. vulgaris* (39.8 mg/L). Y una especie altamente tolerante al estrés por BPA es *Picocystis* (75 mg/L) (Azizullah, *et al.*, 2022).

Al comparar los intervalos de EC<sub>50</sub> reportadas para otras especies de microalgas, se observa que el consorcio en estudio compuesto por *S. obliquus* y *Desmodesmus* sp., tiene una EC<sub>50</sub> determinada en 17 mg/L; lo que coloca al consorcio en un punto intermedio entre las especies con alta sensibilidad al estrés por BPA y las que toleran mejor la presencia de BPA.

**Tabla 18.** Concentraciones usadas de BPA en experimentos con microalgas

Conc. BPA mg/L	Microalga	Conc. microalgas	Medio	Notas, EC <sub>50</sub>	Referencia
0.01, 0.1, 3.0, 5.0, 7.0 y 9.0	<i>Stephanodiscus hantzschii</i>	1.3 x 10 <sup>4</sup> cel/mL	Agua de mar artificial	EC <sub>50</sub> @ 96 h, 8.65 ± 0.26 mg/L	Li <i>et al.</i> , 2009
2, 4 y 10	<i>M. braunii</i>	10 <sup>5</sup> cel/mL	FW04	Escala laboratorio, remoción 81 al 90 %	Gatullo <i>et al.</i> , 2012
7.0	<i>C. mexicana</i> , <i>C. vulgaris</i>	OD <sub>680nm</sub> =1.0	Basal de Bold	Bioacumulación y biodegradación	Ji <i>et al.</i> , 2014
10, 20, 50	<i>C. sorokiniana</i>	10 <sup>4</sup> , 10 <sup>5</sup> , 10 <sup>6</sup> y 10 <sup>7</sup> cel/mL	Sales minerales	≈38.5% remoción BD y BA	Eio <i>et al.</i> , 2015
10 – 50	<i>C. reinhardtii</i>	2.5 x 10 <sup>5</sup> cel/mL	Medio tris fosfato mínimo	EC <sub>50</sub> @ 96 h, 30 mg/L	Esperanza <i>et al.</i> , 2020
7 – 42	<i>D. subspicatus</i>	10 <sup>4</sup> cel/mL	NE	EC <sub>50</sub> 19.6 mg/L, 72 h	Tisler <i>et al.</i> , 2016
0.1 – 20	<i>S. quadricauda</i>	2.13 x 10 <sup>6</sup> cel/mL	Medio MA	EC <sub>50</sub> 96 horas, 13.233 mg/L	Xiang <i>et al.</i> , 2018
5 – 25	<i>Desmodesmus</i> sp., <i>S. obliquus</i>	1.54 x 10 <sup>4</sup> cel/mL	OECD 201	EC <sub>50</sub> 17 mg/L; 72 h	Este estudio

BD: biodegradación; BA: bioadsorción; NE: no especificado

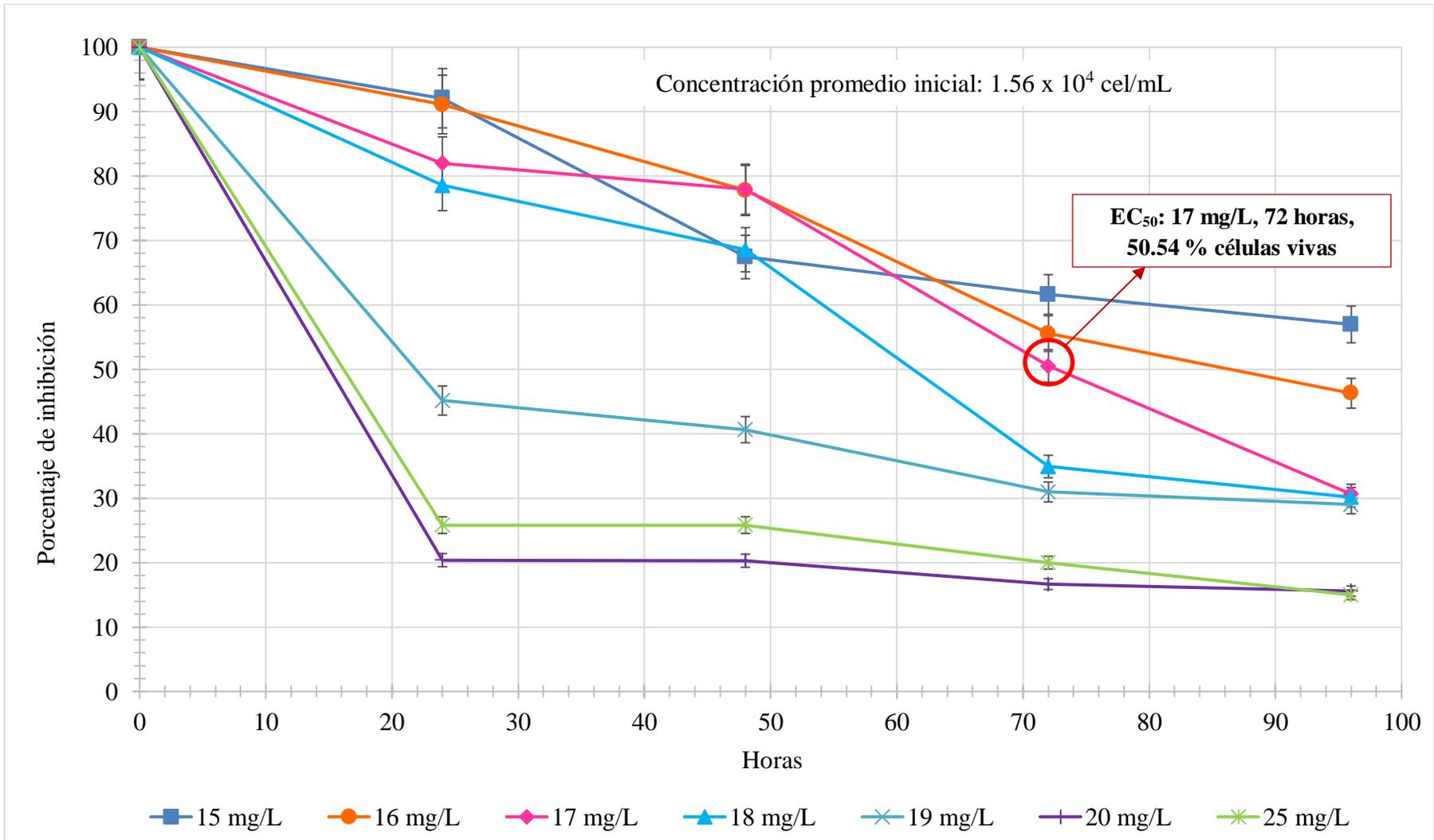


Gráfico 4. Porcentaje de inhibición de crecimiento *Desmodesmus* sp. y *S. obliquus* en presencia de bisfenol-A

### 6.1.3 Triclosán

En el caso de la determinación de la  $EC_{50}$  para TCS se usaron concentraciones de 300, 325, 350, 375, 400, 425 y 450  $\mu\text{g/L}$  (Gráfico 5). Las condiciones experimentales fueron iguales a las empleadas en la determinación de  $EC_{50}$  para BPA. Si se compara el crecimiento de las microalgas a las 72 horas con el Gráfico 4, se observa que el decaimiento en la población de microalgas en los experimentos con adición de TCS no es debido al efecto del metanol, sino a la presencia del TCS. Por lo que la  $EC_{50}$  para TCS se ubica a 325  $\mu\text{g/L}$  a las 72 horas.

De acuerdo al análisis estadístico el tiempo de exposición ( $P \approx 0$ ), concentración de BPA ( $P \approx 0$ ) y la interacción de ambos factores ( $P \approx 0$ ), afectan la inhibición del crecimiento del consorcio microalgal. Por lo que la determinación de la  $EC_{50}$  depende del tiempo de exposición y la concentración del BPA.

En la Tabla 19, se muestra el porcentaje de crecimiento e inhibición del crecimiento para las concentraciones usadas de TCS.

**Tabla 19.** Porcentajes de inhibición y crecimiento en la determinación de la  $EC_{50}$  para TCS

Tiempo Horas	Blanco	Metanol	Concentraciones TCS, $\mu\text{g/L}$						
			300	325	350	375	400	425	450
			% inhibición de crecimiento						
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	494.12	507.41	86.98	87.42	85.00	89.10	90.96	79.29	69.03
48	3779.41	2996.30	76.05	72.90	54.80	54.18	63.86	56.43	57.20
72	9367.65	11203.70	58.14	50.00	41.00	42.99	54.70	52.50	45.81
96	11117.65	11888.89	28.14	38.71	29.00	25.52	30.36	30.00	32.26

De acuerdo a las concentraciones de TCS en agua residual reportadas van de  $78.4 \times 10^{-3}$  a 10.09  $\mu\text{g/L}$  (Peña-Álvarez y castillo-Alanís, 2017, Lesser *et al.*, 2018) por lo que las concentraciones usadas para determinar el efecto toxicológico son mayores, lo que indica que si el consorcio se usa para tratar agua residual que tenga TCS a las concentraciones reportadas no habría inhibición del crecimiento del consorcio.

En la Tabla 20, se enlistan estudios en los que se usan concentraciones similares de TCS que las usadas en la determinación de  $EC_{50}$  de este estudio. Las concentraciones letales medias para microalgas reportadas son de 187.5  $\mu\text{g/L}$  para *S. obliquus* y 325  $\mu\text{g/L}$  para *S. quadricauda* a 96 horas (Bi *et al.*, 2018). *S. subspicatus* 0.7, 2.8 (método guía OECD 201) y 1.4  $\mu\text{g/L}$  (Roberts *et al.*, 2014).

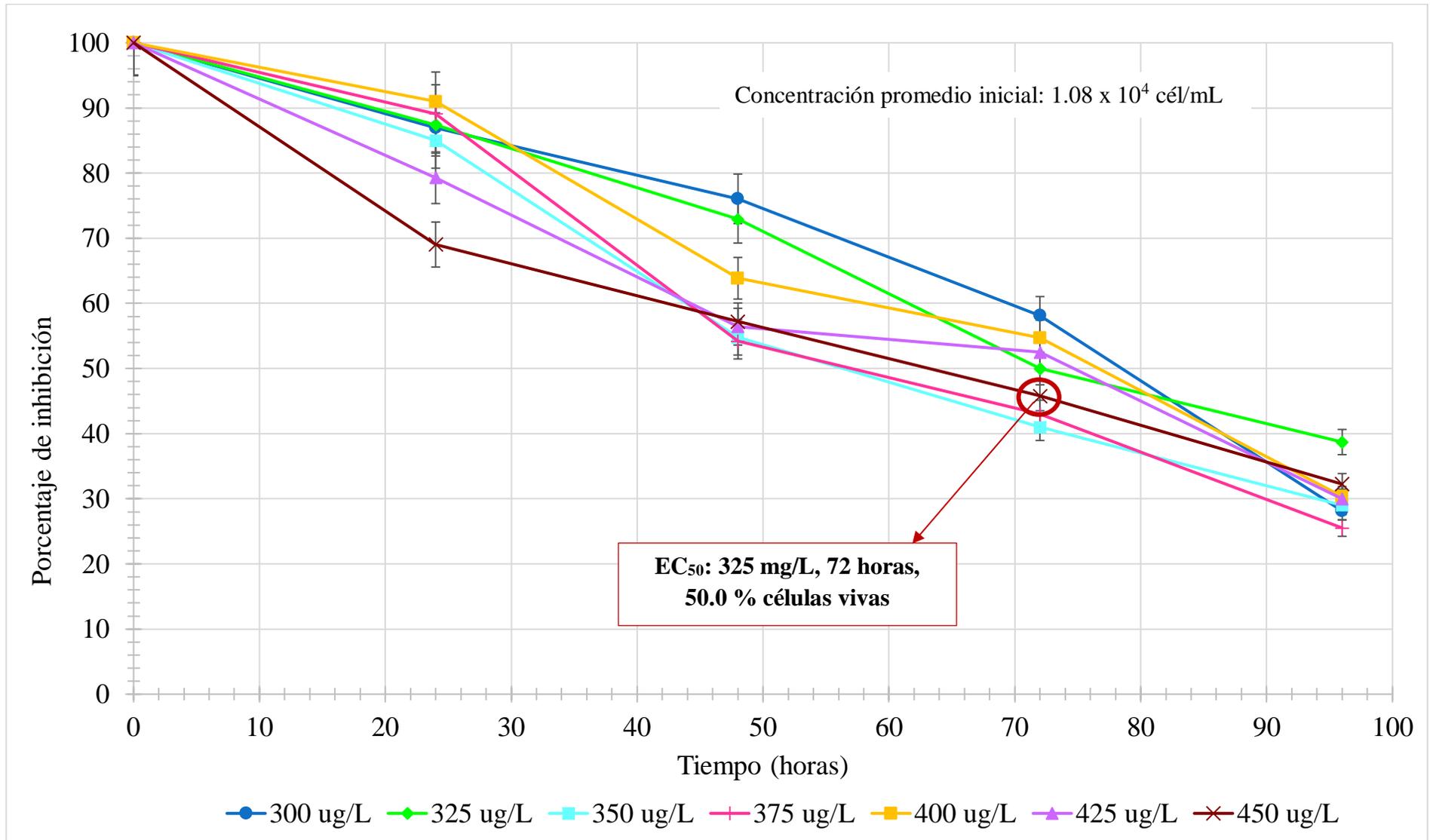


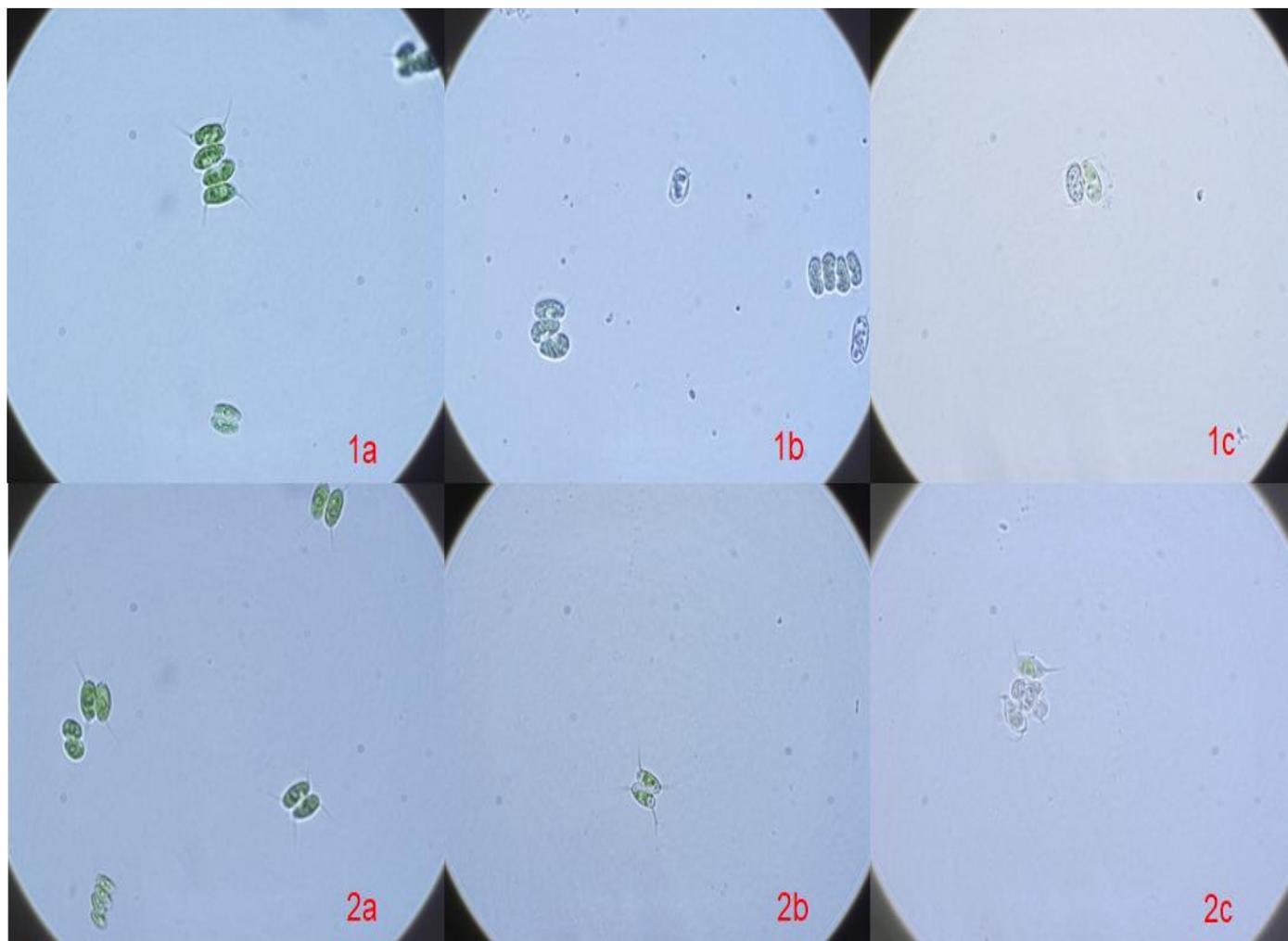
Gráfico 5. Porcentaje de inhibición de crecimiento de *Desmodermus* sp. y *S. obliquus* en presencia de triclosán

**Tabla 20.** Concentraciones usadas de TCS en experimentos con microalgas

Conc. TCS	Microalga	Conc. microalgas	Medio	Notas, EC <sub>50</sub>	Referencia
10 µg/L	<i>S. obliquus</i> , <i>C. vulgaris</i>	1. 4 a 1.7 x 10 <sup>5</sup> cel/mL	Basal de Bold, agua de laguna y agua de laguna estéril	61% remoción	Larsen <i>et al.</i> , 2019
0.537 µg/L	<i>C. vulgaris</i> <i>Pseudonabaena acicularis</i> <i>S. acutus</i>	NE	Agua residual doméstica sintética	83% remoción	López-Serna <i>et al.</i> , 2019
1, 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 25, 50 mg/L	<i>P. tricornutum</i>	0.4 g/L	Agua de mar	≈100% remoción	Santaeufemia <i>et al.</i> , 2019
0 - 2000 µg/L	<i>S. quadricauda</i> <i>S. obliquus</i>	5x10 <sup>4</sup> cel/mL	OECD 201	<i>S. quadricauda</i> : EC <sub>50</sub> 96 h, 325 µg/L <i>S. obliquus</i> : EC <sub>50</sub> 96 h, 187.5 µg/L	Bi <i>et al.</i> , 2018
0.6, 1.3, 2.5, 5 y 10 µg/L	<i>S. subspicatus</i>	10 <sup>4</sup> cel/mL	OECD 201	EC <sub>50</sub> 96 h; 2.8 µg/L	Orvos <i>et al.</i> , 2002
300 - 450 µg/L	<i>Desmodesmus</i> sp. <i>S. obliquus</i>	1.09x10 <sup>4</sup> cel/mL	OECD 201	EC <sub>50</sub> 72 h, 325 µg/L	Este estudio

NE: no especificado

Al inicio y final de los experimentos de determinación de EC<sub>50</sub> se observaron las microalgas al microscopio a un aumento de 100X, las imágenes obtenidas se muestran en la Figura 14. Las imágenes 1a, 1b y 1c corresponden a la exposición de microalgas a BPA, las imágenes 1b y 1c corresponden a las 72 horas a una concentración de 17 mg/L, se observa que el pigmento verde inicial de las microalgas se deterioró y en algunas microalgas se observa nulo contenido celular dentro de las microalgas. Lo mismo se observó al exponer al consorcio microalgal a TCS (imágenes 2b y 2c). Esto sugiere que la presencia de BPA y TCS afecta la producción de clorofila en las microalgas, sin embargo, debido a la baja concentración de microalgas no se pudo realizar cuantificación del contenido de clorofila.



**Figura 14.** Determinación de  $EC_{50}$  para BPA 17 mg/L, (1a) 0 horas, (1b, 1c) 72 horas. TCS 325  $\mu$ g/L, (2a) 0 horas, (2b, 2c) 72 horas. Vista al microscopio Carl Zeiss Microscopie Axo Lab.A1 aumento 100X

## 6.2 Efecto de los contaminantes emergentes sobre el consorcio microalgal

Se observó el efecto que la presencia de BPA y TCS tuvieron sobre el consorcio microalgal, para esto se cuantificaron el crecimiento de las microalgas (SST), clorofila “a” y biomoléculas (carbohidratos, lípidos y proteínas). También se evaluó si el BPA y TCS tiene efecto sobre la remoción de nutrientes presentes en agua residual sintética.

### 6.2.1 Bisfenol-A

En la Tabla 21 se muestra los porcentajes de incremento para SST, clorofila “a”, carbohidratos, lípidos y proteínas con respecto al control y porcentaje de remoción con respecto al control para DQO,  $P - PO_4^{3-}$ ,  $N - NO_3^-$ ,  $N - NH_3$ , alcalinidad total. En los Gráficos 6 y 7 se muestra gráficamente la información de la Tabla 21. El análisis de varianza se realizó comparando el experimento control contra

el experimento que contenía BPA, se comparó entre los experimentos con idénticos SST iniciales y solo se muestra si el BPA tiene una influencia significativa en el parámetro medido.

**Tabla 21.** Porcentajes cuantificados con respecto a los controles. Experimentos con BPA

Concentración BPA	17 mg/L					9.87 µg/L				
	300 mg/L TSS		500 mg/L TSS			300 mg/L TSS		500 mg/L TSS		
Concentración microalgas	%		%			%		%		
Crecimiento y biomoléculas										
SST	116.10	± 6.00	108.25	± 1.87	101.72	± 6.16	112.17	± 0.87		
Clorofila “a”	140.19	± 16.93	94.67	± 10.78	111.51	± 14.38	66.70	± 19.60		
Carbohidratos	97.88	± 7.79	95.42	± 3.06	97.32	± 11.81	104.22	± 7.29		
Lípidos	137.84	± 2.94	125.33	± 3.19	97.66	± 9.60	97.92	± 2.13		
Proteínas	116.73	± 2.18	113.24	± 21.65	108.33	± 14.19	68.52	± 22.50		
Nutrientes										
DQO	79.68	± 8.71	38.68	± 3.76	12.06	± 16.80	139.95	± 24.25		
Nitratos	225.13	± 23.56	134.72	± 11.11	77.72	± 18.97	184.34	± 21.58		
Nitrógeno amoniacal	0.00	± 0.00	0.00	± 0.00	107.06	± 22.17	166.75	± 36.57		
Ortofosfatos	134.78	± 1.30	102.36	± 6.06	170.49	± 31.74	67.18	± 10.99		
Alcalinidad	124.00	± 0.00	100.00	± 0.00	161.51	± 18.81	94.16	± 13.70		

Valores mayores al 100% indican que superan lo medido en el control. En el caso de nitrógeno amoniacal, el valor de 0% indica que la muestra tuvo una remoción total

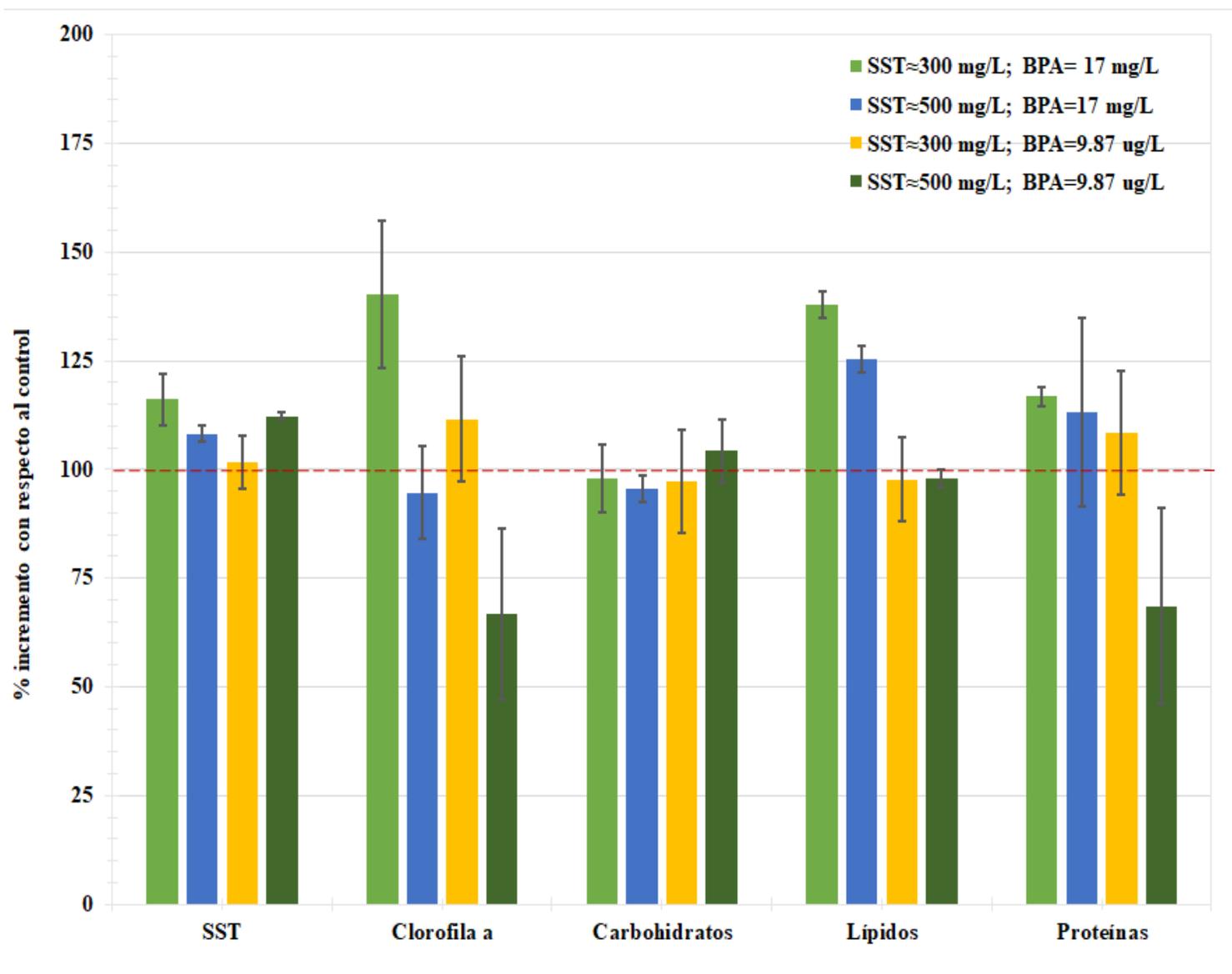
### ***Crecimiento y contenido de biomoléculas***

Los resultados obtenidos en los experimentos en presencia de BPA (Gráfico 6), se observa que en cuanto a crecimiento, clorofila y contenido de biomoléculas las condiciones experimentales probadas que mostraron un mejor incremento fueron ≈300 mg SST/L y concentración de BPA de 17 mg/L.

En ambas condiciones de biomasa inicial y BPA se observa que el crecimiento medido como SST aumenta en presencia de BPA. Para concentraciones iniciales ≈300 mg SST/L ( $3.33 \times 10^6$  cel/mL) se obtuvo un aumento del 16.1% y de 1.72% para concentraciones de BPA de 17 mg/L y 9.87 µg/L, respectivamente. Para concentraciones iniciales de ≈500 mg SST/L ( $6.21 \times 10^6$  cel/mL) el crecimiento tuvo un incremento del 8.25% y 12.17% a concentraciones de BPA de 17 mg/L y 9.87 µg/L, respectivamente.

Autores han observado el efecto de BPA en géneros similares a los utilizados en este estudio. Wang *et al.*, 2017, reporta una baja inhibición del crecimiento en *Desmodesmus* sp. WR1 ( $8.3 \times 10^5$  cel/L) a concentraciones de BPA de 1, 3, 5.5 y 13.5 mg/L. Xiang *et al.*, 2018 obtuvo inhibición del crecimiento de *S. obliquus* ( $2.13 \times 10^6$  cel/mL) a concentraciones de BPA de 1 a 10 mg/L. Ji *et al.*, 2014 observó inhibición del crecimiento del 28.6 % a 7 mg/L de BPA para *S. obliquus*. Li *et al.*, 2017 registró inhibición del crecimiento del 80 % para *S. obliquus* a una concentración de BPA de 50 mg/L. Diferencias entre los efectos reportados sobre el crecimiento de microalgas y lo observado en los experimentos realizados puede ser atribuido a la cantidad inicial de biomasa, agitación, intensidad de luz. Otras especies de microalgas, distintas a las usadas en este estudio, como *S. hantzschii* muestra inhibición del 8.41 – 89.23% a concentraciones de BPA de 3 – 15 mg/L (Li *et al.*, 2009). *Tetraselmis*

*suecica* presentó inhibición en conteo celular a concentraciones mayores a 7.5 mg/L (Ebenezer y Ki, 2016). BPA a 7 mg/L causa inhibición del crecimiento de 4.1, 24.5 y 41.5 % para *C. mexicana*, *C. vulgaris* y *Micractinium reisseri*, respectivamente (Ji *et al.*, 2014). *C. pyrenoidosa* muestra inhibición del crecimiento en un 7%, 14% y 21% al cuarto día de exposición a 5, 8 y 11 mg/L de BPA, respectivamente (Li *et al.*, 2022).



**Gráfico 6** Cambio con respecto al control. Consorcio microalgal expuesto a dos concentraciones distintas de BPA y dos concentraciones distintas de biomasa microalgal. (\*P<0.05).

Valores menores al 100% indican que no alcanzaron lo registrado en el control correspondiente.

La clorofila es un indicador primario de la actividad fotosintética en microalgas, además de ser un marcador de presencia de sustancias tóxicas (Kurade *et al.*, 2016). El contenido de clorofila “a” (Chl-a) mostró tener un incremento para ambas concentraciones de BPA para la concentración inicial de

≈300 mg SST/L de 40.19 y 11.51% para 17 mg/L y 9.87 µg/L, respectivamente. Para la concentración inicial de ≈500 mg SST/L para ambas concentraciones de BPA se registró una disminución en el contenido de Chl-a (Gráfico 5, Tabla 21). Efectos similares al incremento en el contenido de Chl-a fueron observados en *Desmodesmus* sp. WR1, hubo incremento de la clorofila para las concentraciones de 1, 3, 5.5 mg/L de BPA (Wang *et al.*, 2017). Sin embargo, el efecto contrario se observó en *S. obliquus* disminuyendo la concentración de Chl-a de 27.63 – 82.59% a BPA de 1 – 20 mg/L (Xiang, *et al.*, 2018). Una explicación para que el contenido de Chl-a haya disminuido en *S. obliquus* en los experimentos de Xiang *et al.*, 2018, podría radicar en la diferencia en la intensidad de luz usada la cual fue de 25 µmol/m<sup>2</sup>s; mientras la usada en este trabajo fue de ≈100 µmol/m<sup>2</sup>s.

Otras especies distintas a *Desmodesmus* y *Scenedesmus*, presentaron un efecto promotor en la producción de Chl-a. Por ejemplo, *C. reinhardtii* a una concentración de BPA de 30 mg/L tuvo un incremento en la producción de clorofila (Miguez *et al.*, 2021). El contenido de clorofila en *S. hantzschii* no se vio afectado a concentraciones de BPA de 3 – 15 mg/L (Li *et al.*, 2009). Mediciones como la concentración de oxígeno se han usado para monitorear la actividad fotosintética. En experimentos realizados con *Picocytis* sp. se probaron concentraciones de BPA de 1, 10, 25, 50 y 75 mg/L, la disminución de la cantidad de oxígeno correspondió al 18 – 38% a concentraciones de 1 – 25 mg/L. A concentraciones de 50 mg/L la cantidad de oxígeno disminuyó más del 80% y a 75 mg/L fue cercana al 100% (Ben Ouda *et al.*, 2018). Li *et al.*, 2022; en experimentos realizados con *C. pyrenoidosa* se observó inhibición de la clorofila del 11 – 46% a un rango de concentraciones de 2 – 11 mg/L. En un rango de concentración de BPA de 10 – 40 mg/L se registraron porcentajes de inhibición de clorofila del 12 – 69%.

El comportamiento de los carbohidratos en presencia de BPA mostró una reducción con respecto al control. Ambas concentraciones de inóculo con BPA=17 mg/L mostraron una reducción del 2.12% y 4.58%, para SST iniciales de ≈300 mg/L y ≈500 mg/L, respectivamente. Cuando se usó una concentración de BPA de 9.87 µg/L se registró una disminución de 2.68% con SST iniciales de ≈300 mg/L; pero se observó un aumento de 4.22% con SST iniciales de ≈500 mg/L. Si se compara *N. incerta* contra microalgas de agua fresca como *C. vulgaris* y *C. mexicana*, el BPA causa un ligero incremento del 9.6 y 6.5 % en los carbohidratos; a 25 y 50 mg/L de BPA. El efecto del BPA en los carbohidratos refleja una influencia en las funciones estructurales y metabólicas, cada especie de microalgas responden de manera distinta al estrés por BPA con respecto al metabolismo y almacenamiento de energía (Azizullah, *et al.*, 2022). *Spirulina platensis* expuesta a 10 mg/L de ácido acetilsalicílico (ASA) tuvo un incremento del 35% y para *S. obliquus* hubo un incremento del 10 al 17% a concentraciones de ASA de 50, 70 y 100 mg/L (Rempel *et al.*, 2021). Oxibenzona causó decaimiento del contenido de carbohidratos del 54.3 – 67.6% en *S. quadricauda* y en *Chlorella* sp. aumentó del 4.1% - 6% (Teoh *et al.*, 2020).

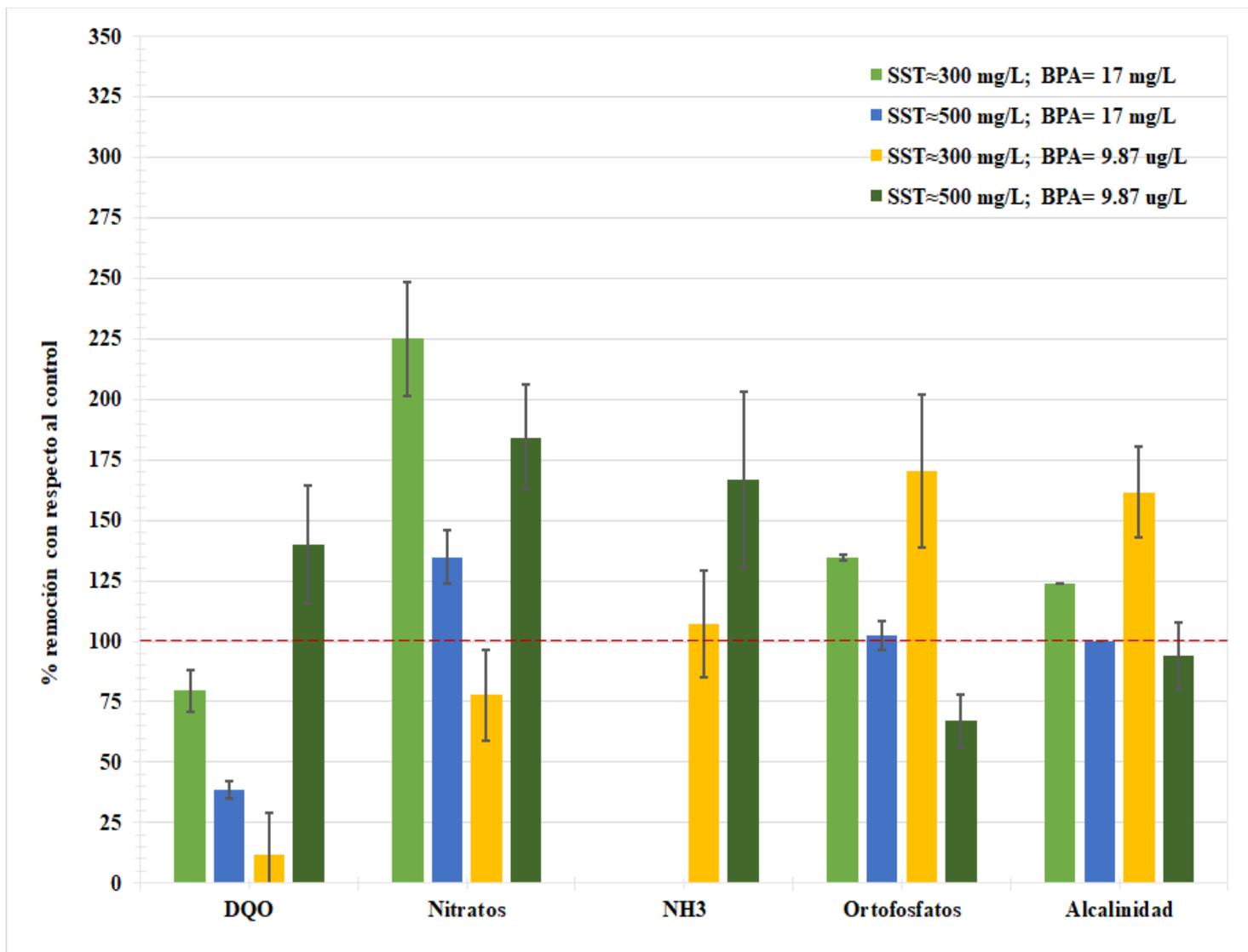
Se observó que en los experimentos con BPA= 17 mg/L, el contenido de lípidos aumentó 37.84% y 25.33% para SST iniciales de ≈300 mg/L y ≈500 mg/L, respectivamente. En experimentos con BPA= 9.87 µg/L, los lípidos disminuyeron 2.34% y 2.08% en experimentos con SST iniciales de ≈300 mg/L

y  $\approx 500$  mg/L, respectivamente. En otros estudios que reportan cuantificación en el contenido de lípidos, Miguez *et al.*, 2021; encontró que hubo un incremento de 2.7 veces en la peroxidación de los lípidos (daño oxidante en las membranas celulares) de *C. reinhardtii* a BPA= 30 mg/L. En cuanto al contenido de lípidos, *N. incerta* mostró un incremento en los lípidos totales arriba mayor del 134% a 5 mg/L de BPA. *C. vulgaris* y *C. mexicana* revelaron una tendencia similar a la cianobacteria de un incremento del 9.3 y 8.9 %. El incremento de los ácidos grasos insaturados se puede deber al daño en la membrana causada por el estrés oxidativo a causa del BPA (Azizullah, *et al.*, 2022).

El cambio en el contenido de proteínas con respecto al control se observó en un aumento del 16.73% y 113.24% SST iniciales de  $\approx 300$  mg/L y  $\approx 500$  mg/L, respectivamente al ser expuesto a BPA= 17 mg/L. en presencia de BPA= 9.87  $\mu$ g/L, las proteínas aumentaron un 8.33% con inóculo inicial  $\approx 300$  mg/L, pero se observó una disminución del 31.47%. En la cianobacteria *Navicula incerta* hay una reducción en el contenido de proteínas a 3 mg/L de BPA. La misma cianobacteria expuesta a una concentración de BPA de 2 mg/L demostró tener una disminución significativa en el contenido de polisacáridos (Azizullah, *et al.*, 2022). La exposición de *S. platensis* a 1 mg/L de paracetamol y diazepam aumentó en un 44% el contenido de proteínas, mientras en *S. obliquus* el aumento en el contenido de proteínas fue del 66% en presencia de ASA y cafeína (Rempel *et al.*, 2021). *S. quadricauda* presentó decaimiento del 54.3 – 67.7% y *Chlorella* sp. aumentó entre 56.1 – 75.2%, en presencia de oxibenzona (Teoh *et al.*, 2020).

### ***Remoción de nutrientes***

La remoción de nutrientes para BPA a SST iniciales de  $\approx 300$  mg/L y  $\approx 500$  mg/L se muestran en el gráfico 7. Para BPA (17 mg/L) y  $\approx 300$  mg/L en combinación, los parámetros fisicoquímicos que mostraron una mayor y significativa eliminación fueron los nitratos (2.51 veces mayor eliminación con respecto al control), nitrógeno amoniacal ( $\approx 100\%$ ), ortofosfatos (34.78% mayor que el control) y alcalinidad (24% mayor que el control). Para BPA y  $\approx 500$  mg SST/L en combinación, se observaron eliminaciones de nitratos (34.72% de eliminación mayor que el control), nitrógeno amoniacal ( $\approx 100\%$ ,  $P < 0.05$ ), alcalinidad y ortofosfatos (igual que el control). Cuando se usó BPA= 9.87  $\mu$ g/L, los parámetros que mostraron un incremento mayor al control fueron nitrógeno amoniacal (7.06%), ortofosfatos (70.49%) y alcalinidad (61.51%) para SST  $\approx 300$  mg/L. Al usar inóculo inicial de  $\approx 500$  mg/L, DQO (39.95%), nitratos (84.34%) y nitrógeno amoniacal (66.75%) mostraron una mayor remoción con respecto al control.



**Gráfico 7** Porcentaje de remoción de nutrientes en agua residual sintética en presencia de BPA. (\* $P < 0.05$ ).

Nitrógeno amoniacal en presencia de BPA= 17 mg/L mostró tener una remoción  $\approx 100\%$ , por lo que las barras de ambas concentraciones de inóculo no se graficaron.

Valores menores al 100% indican que no alcanzaron lo registrado en el control correspondiente

Hay pocos estudios que reportan el efecto que tiene la presencia de BPA en agua residual como medio de cultivo de microalgas, no hay datos que indiquen cuál es el nivel de afectación que se tiene. Solo [Azizullah et al., 2022](#), indica que el BPA interfiere en la ingesta de nutrientes resultando en un poco crecimiento celular debido a la disminución en la absorción de algunos nutrientes. Esto puede deberse a sensibilidad que presenta cada especie de microalgas al estrés en presencia de BPA.

### 6.2.2 Triclosán

Se observó el efecto que tiene la cantidad de biomasa y la presencia de triclosán en un consorcio de microalgas. Las condiciones de biomasa a usar fueron las mismas empleadas para experimentos en presencia de BPA. Las concentraciones de triclosán probadas fueron  $[TCS] = 325 \mu\text{g/L}$  y  $10.09 \mu\text{g/L}$ .

En la Tabla 22 se muestra los porcentajes de incremento para SST, clorofila “a”, carbohidratos, lípidos y proteínas con respecto al control y porcentaje de remoción con respecto al control para DQO,  $P - PO_4^{3-}$ ,  $N - NO_3^-$ ,  $N - NH_3$ , alcalinidad total. En los Gráficos 8 y 9 se muestra gráficamente la información de la Tabla 22.

**Tabla 22** Porcentajes cuantificados con respecto a los controles. Experimentos con TCS

Concentración BPA	325 µg/L					10.09 µg/L				
	300 mg/L TSS		500 mg/L TSS			300 mg/L TSS		500 mg/L TSS		
Concentración microalgas	%		%			%		%		
Crecimiento y biomoléculas										
SST	117.78	± 2.41	109.92	± 2.11	94.46	± 3.93	101.25	± 1.97		
Clorofila “a”	173.84	± 15.60	100.14	± 8.73	146.17	± 19.09	85.96	± 24.70		
Carbohidratos	82.09	± 4.24	101.77	± 3.48	108.33	± 6.67	98.04	± 9.00		
Lípidos	109.09	± 2.08	118.75	± 4.21	105.71	± 5.41	109.52	± 4.35		
Proteínas	206.16	± 8.64	171.43	± 10.78	130.90	± 12.66	95.58	± 28.99		
Nutrientes										
DQO	78.00	± 29.67	76.40	± 8.80	131.67	± 23.84	159.60	± 19.29		
Nitratos	76.69	± 16.99	86.41	± 9.49	100.71	± 28.33	110.47	± 16.99		
Nitrógeno amoniacal	307.14	± 21.43	112.61	± 18.02	96.18	± 23.37	111.72	± 12.89		
Ortofosfatos	94.83	± 16.25	0.00	± 0.00	105.28	± 8.13	97.13	± 10.44		
Alcalinidad	116.67	± 23.33	78.13	± 14.06	159.09	± 27.55	103.66	± 12.77		

Valores mayores al 100% indican que superan lo medido en el control.

### ***Crecimiento y contenido de biomoléculas***

La mejor combinación de condiciones que mostró tener un incremento en los SST, clorofila “a”, carbohidratos, lípidos y proteínas fue a una concentración de TCS de 325 µg/L y 300 mg/L SST de biomasa (Gráfico 8). Este comportamiento también se observó con la combinación de TCS= 10.09 µg/L y 300 mg/L SST.

El crecimiento del consorcio microalgal fue afectado por el TCS. Para SST ≈300 mg/L el crecimiento a TCS= 325 µg/L 17.78%, mientras para TCS= 10.09 µg/L el crecimiento disminuyó en 5.54%. A SST ≈500 mg/L tuvo incremento del 9.92% y del 1.25% para concentraciones de TCS de 325 µg/L y 10.09 µg/L, respectivamente (Tabla 22, Gráfico 7). Experimentos en *Desmodesmus* sp. registraron inhibición del crecimiento del 47.7% y del 64.8% para *C. pyrenoidosa* ( $10^7$  cel/mL, medio TAP), a concentración de 400 µg/L de TCS (Wang *et al.*, 2018). *Pseudokirchnerella subcapitata* ( $5 \times 10^4$  cel/mL; medio OECD) tuvo una reducción del crecimiento del 59±3% y 88±1% a concentraciones de TCS de 27 y 37 µg/L, respectivamente (Machado *et al.*, 2021). Otros experimentos realizados en presencia de TCS, mostraron que *C. reinhardtii* se observó una disminución del crecimiento de 77%, 54% y 34% a concentraciones de TCS de 1, 2 y 4 mg/L respectivamente (Wang *et al.*, 2020). *Closterium ehrenbergii* fue expuesta a concentraciones de TCS de 0.125, 0.187, 0.25, 0.5 y 1 mg/L. A 0.125 mg/L no se observó un efecto adverso; sin embargo, a 0.187 y 0.25 mg/L se observó que la viabilidad de la célula disminuyó en un 60% en 48 horas. A 0.5 – 1.0 mg/L, a dos horas de iniciado el experimento, tiene efectos en la morfología del cloroplasto, pero no en la viabilidad de las células. Después de 48 horas, solo el 10% de

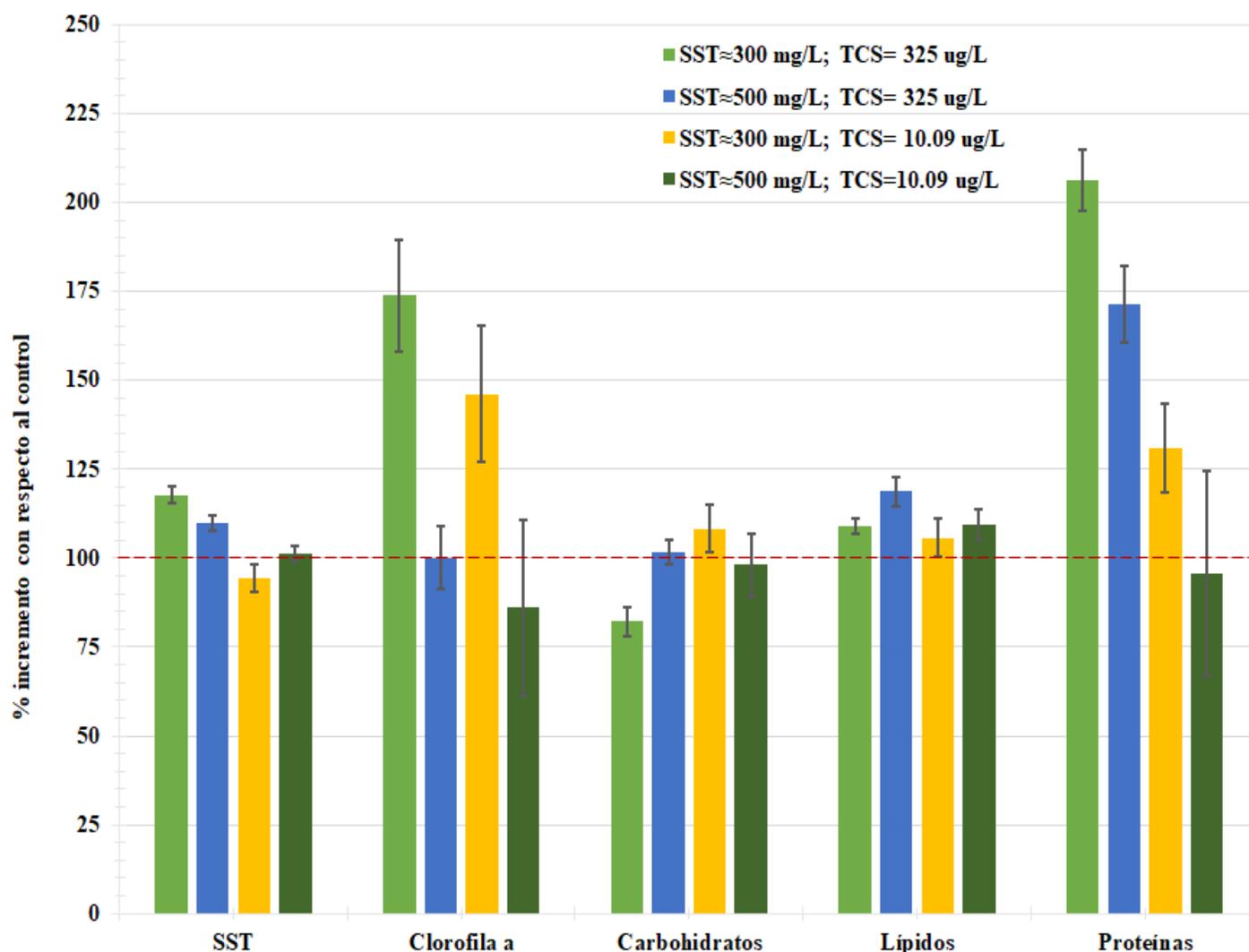
las células seguían viables, pero mostraban un menor tamaño y un cloroplasto deforme (Ciniglia *et al.*, 2005). *C. vulgaris*, expuesta a 0.05, 0.15, 0.45, 0.75 y 1.05 mg/L de TCS; el crecimiento de *C. vulgaris* a una concentración de 1.05 mg/L al día 10 tuvo una reducción de  $0.062 \pm 0.0203$  g/L. A bajas concentraciones de TCS (<0.75 mg/L) se estimula el crecimiento de *C. vulgaris*, además de que hay poco efecto en la producción de clorofila. (Dai *et al.*, 2021).

El contenido de Chl-a para SST  $\approx 300$  mg/L a TCS= 325  $\mu\text{g/L}$  73.84%, mientras para TCS= 10.09  $\mu\text{g/L}$  hubo un aumento del 0.14%. A SST  $\approx 500$  mg/L tuvo incremento del 46.17% y disminución del 14.04% para concentraciones de TCS de 325  $\mu\text{g/L}$  y 10.09  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente (Tabla 22, Gráfico 7). Hubo una disminución significativa en el contenido de Chl-a en *P. subcapitata* del 25% y 74% a TCS= 27  $\mu\text{g/L}$  y 37  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente (Machado *et al.*, 2021). *C. reinhardtii* tuvo una reducción significativa del 26.8% a 4 mg/L y 72 horas de exposición (Wang *et al.*, 2020). A 0.075 mg/L de TCS el contenido de clorofila a aumentó  $20.18 \pm 0.64$  mg/L; el contenido de Chl-a a una concentración de 1.05 mg/L de TCS tiene una disminución de  $4.44 \pm 0.05$  (Dai *et al.*, 2021).

El cambio en los carbohidratos para SST  $\approx 300$  mg/L registró una disminución del 17.91% a TCS= 325  $\mu\text{g/L}$ , mientras para TCS= 10.09  $\mu\text{g/L}$  hubo un aumento del 8.33%. A SST  $\approx 500$  mg/L tuvo incremento del 1.77% y disminución del 1.96% para concentraciones de TCS de 325  $\mu\text{g/L}$  y 10.09  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente (Tabla 22, Gráfico 7). El cambio en el contenido de carbohidratos se ha registrado en otras especies de microalgas y con otros contaminantes emergentes como *C. vulgaris*, *C. mexicana*. (expuestas a BPA); *S. plantensis* y *S. obliquus* (expuestas a ASA); *S. quadricauda* y *Chlorella* sp. (expuestas a oxibenzona) (Teoh *et al.*, 2020; Rempel *et al.*, 2021; Azizullah, *et al.*, 2022).

El contenido de lípidos tuvo un aumento para ambas concentraciones de TCS usadas y para ambas concentraciones iniciales de inóculo. TCS= 325  $\mu\text{g/L}$ , 9.09% y 18.75 para SST  $\approx 300$  y  $\approx 500$  mg/L. TCS= 10.09  $\mu\text{g/L}$  5.71% y 9.52% para SST  $\approx 300$  y  $\approx 500$  mg/L. se observa que, a mayor cantidad de inóculo inicial, la cantidad de lípidos es mayor. No hay estudios en los que se realice la cuantificación de lípidos en presencia de TCS. Solo experimentos en presencia de BPA realizados para *C. reinhardtii*, *C. vulgaris*, *C. mexicana* y la cianobacteria *N. incerta* (Miguez *et al.*, 2021; Azizullah *et al.*, 2022).

El contenido de proteínas mostró un aumento a TCS= 325  $\mu\text{g/L}$  de 106.16% y 71.43% para SST  $\approx 300$  y  $\approx 500$  mg/L, respectivamente. Con la concentración de TCS= 10.09  $\mu\text{g/L}$  hubo incremento del contenido de proteínas 30.90% a SST  $\approx 300$  mg/L y disminución del 4.42% para SST  $\approx 500$  mg/L. Estudios sobre el efecto del TCS en las biomoléculas indican que solo hay trabajos que reportan el efecto en el contenido de proteínas; *C. vulgaris* mostró un ligero incremento a dosis bajas de TCS (<0.75 mg/L). A 0.05 mg/L de TCS hubo un incremento de  $0.145 \pm 0.041$  mg/L, a 0.75 mg/L  $0.427 \pm 0.018$  mg/L. A 1.05 mg/L TCS hubo una disminución de  $0.046 \pm 0.008$  mg/L (Dai *et al.*, 2021).

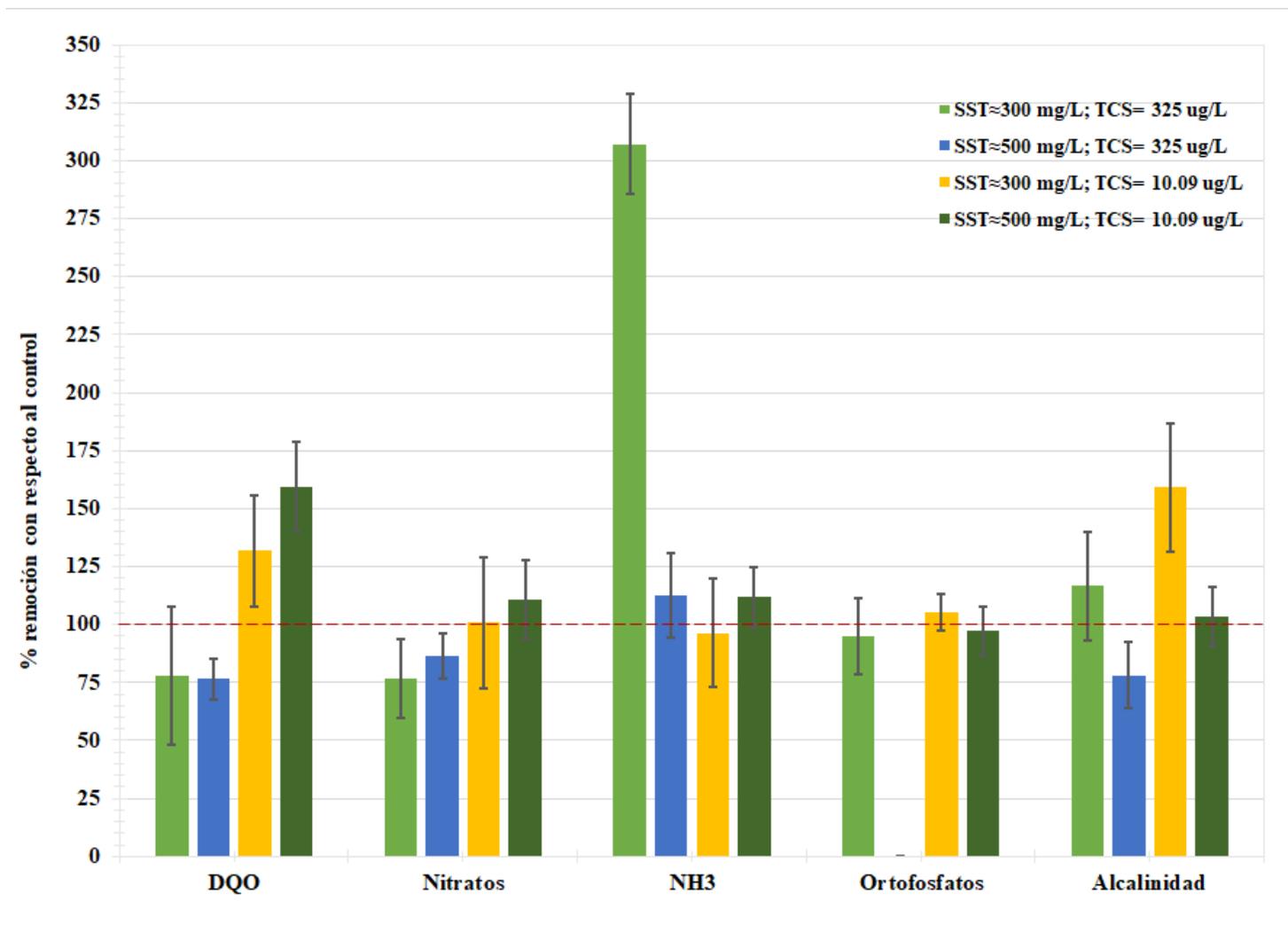


**Gráfico 8** Porcentaje de incremento con respecto al control. Consorcio microalgal expuesto a dos concentraciones distintas de TCS y dos concentraciones distintas de biomasa microalgal. (\* $P < 0.05$ )  
Valores menores al 100% indican que no alcanzaron lo registrado en el control correspondiente

### **Remoción de nutrientes**

A una concentración de TCS de 325  $\mu\text{g/L}$  y  $\approx 300$  mg SST/L (Gráfico 9) de inóculo mostraron una mayor eliminación que el control para el nitrógeno amoniacal (3.07 veces mayor) y la alcalinidad (16.67% mayor). Mientras que TCS= 325  $\mu\text{g/L}$  y  $\approx 500$  mg SST/L en combinación mostraron una mayor eliminación para nitrógeno amoniacal (12.61%) y se obtuvo una concentración final de ortofosfatos  $\approx 0$  mg/L. La combinación de TCS= 10.09  $\mu\text{g/L}$  y  $\approx 300$  mg SST/L mostró una remoción mayor al 100% respecto al control en los parámetros DQO (131.67%), nitratos (100.71%), ortofosfatos (105.28%) y alcalinidad (159.09%). Y la combinación de TCS = 10.09  $\mu\text{g/L}$  y  $\approx 500$  mg SST/L los parámetros con remoción mayor al control son DQO (59.6%), nitratos (10.47%), nitrógeno amoniacal (11.72%) y alcalinidad (3.66%).

La presencia de TCS mostró un efecto positivo sobre el nitrógeno amoniacal y los ortofosfatos en ambas concentraciones de inóculo ensayadas. La presencia de TCS produce efectos significativos en la ingesta de fósforo a altas temperaturas, y la absorción de nitrógeno puede verse afectada por TCS (Xin *et al.*, 2018). Al igual que en el caso del BPA no hay trabajos reportados en los que se estudie el efecto de la presencia de TCS en agua residual y el nivel de afectación que pudiera tener en la absorción de nutrientes.



**Gráfico 9** Porcentaje de remoción de nutrientes en agua residual sintética en presencia de TCS. (\*P<0.05)  
Valores menores al 100% indican que no alcanzaron lo registrado en el control correspondiente

### 6.3 Remoción de contaminantes emergentes

Un objetivo de este trabajo, es determinar las vías de remoción por las cuales los contaminantes emergentes son removidos del agua residual sintética. Estas vías son la biodegradación, sorción (adsorción y absorción) y fotodegradación (directa e indirecta).

#### 6.3.1 Vías de remoción de BPA y TCS

La remoción de BPA y TCS, se realizó por acción de microalgas y fotodegradación. En los experimentos realizados con microalgas, se evaluó la degradación por acción de las microalgas y la remoción por efecto de sorción. De los mismos experimentos con microalgas, se tomaron muestras para determinar la remoción de los contaminantes emergentes por acción de la adsorción y absorción. Paralelamente, se realizaron experimentos de fotodegradación directa (en presencia de agua ultrapura) e indirecta (en presencia de ARS). Además, para evaluar si otros factores contribuyen a la remoción de los contaminantes emergentes, se realizó un blanco de fotodegradación. Se midieron las concentraciones de los contaminantes emergentes relacionadas a la concentración residual, concentración adsorbida, concentración absorbida, concentración degradada por fotodegradación directa, concentración degradada por fotodegradación indirecta, concentración degradada por otros factores. Mientras la concentración biodegradada se deduce de la resta de la concentración inicial menos las concentraciones calculadas. El balance de masa se realizó para ambas concentraciones de inóculo inicial, para cada contaminante emergente, solo para las concentraciones determinadas a la EC<sub>50</sub>. El balance de masa se representa en la siguiente ecuación:

$$X_b = X_i - X_r - X_e - X_a - X_{fd} - X_{fi} - X_{of}$$

Donde:

- X<sub>b</sub> Concentración biodegradada
- X<sub>i</sub> Concentración inicial
- X<sub>r</sub> Concentración residual en la fase acuosa
- X<sub>e</sub> Concentración extracelular o adsorbida
- X<sub>a</sub> Concentración intracelular o absorbida
- X<sub>fd</sub> Concentración degradada por fotodegradación directa
- X<sub>fi</sub> Concentración degradada por fotodegradación indirecta
- X<sub>of</sub> Concentración degradada por otros factores

La remoción de BPA por cada vía de remoción se muestra en la Tabla 23, Gráfico 10 y en la Figura 15. La remoción total fue del 95.1% que equivale a 16.172±0.828 mg/L para el inóculo inicial de ≈300 mg/L. Mientras para el inóculo inicial de ≈500 mg/L la remoción total fue de 95.68%, equivalente a 16.271±0.703 mg/L. Se observa que a una cantidad mayor de inóculo la remoción general es mayor, así como la cantidad biodegradada de BPA. En cuanto a la sorción se observa una mayor adsorción en la concentración inicial de inóculo de ≈300 mg/L, mientras en la absorción se observó la misma cantidad de BPA absorbida para ambas concentraciones de inóculo inicial. La fotodegradación indirecta (26.23%, 4.461±0.263 mg/L) mostró una mayor remoción comparada con la directa (3.8%, 0.646±0.082 mg/L); mientras que, se determinó una remoción del 10.54% (1.793±0.495 mg/L)

presumiblemente debida a otros factores, los cuales podrían ser el manejo de las muestras, la retención en el cartucho de SPE, la degradación poco significativa por la acción de la luz que se pudo filtrar al matraz, una ligera volatilización y la incrustación de los contaminantes emergentes en las paredes del matraz.

$$X_b = X_i - X_r - X_e - X_a - X_{fd} - X_{fi} - X_{of}$$

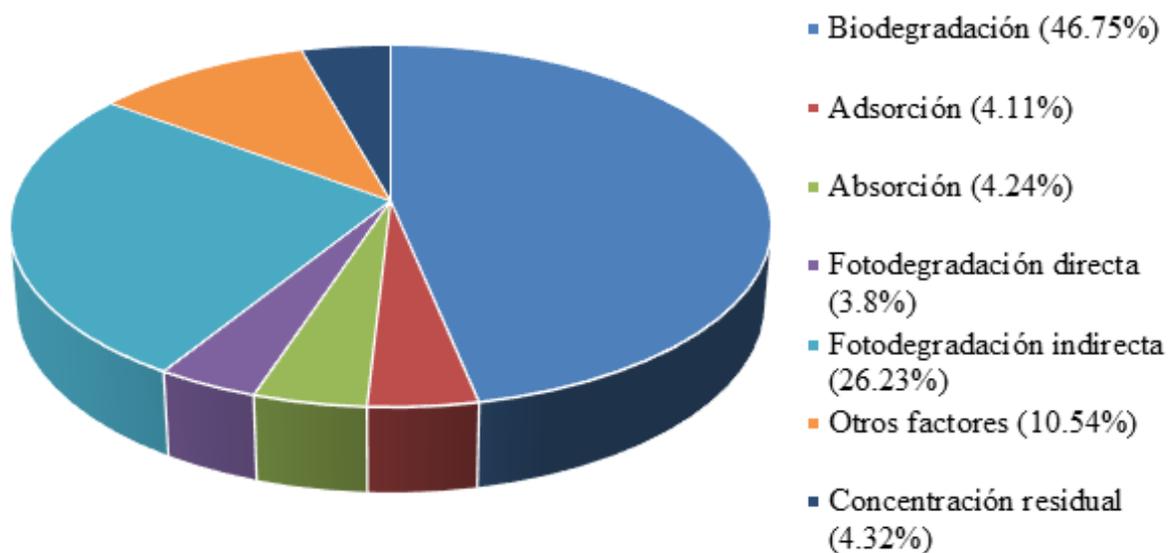
$$X_i = 17.006 \pm 0.476 \text{ mg/L}$$

**Tabla 23.** Remoción de bisfenol-A

Inóculo inicial, mg/L	$X_r$	$X_e$	$X_a$	$X_{fd}$	$X_{fi}$	$X_{of}$	$X_b$
	Concentración (mg/L)						
≈300	0.834±0.043	1.573±0.043	0.722±0.002	0.646±0.082	4.461±0.263	1.793±0.495	6.976±0.201
≈500	0.735±0.008	0.698±0.001	0.72±0.01	0.646±0.082	4.461±0.263	1.793±0.495	7.951±0.151
Porcentaje (%)							
≈300	4.9	9.25	4.24	3.8	26.23	10.54	41.02
≈500	4.32	4.11	4.24	3.8	26.23	10.54	46.75

La remoción de BPA con respecto a la cantidad de inóculo inicial tuvo como factores el tiempo de exposición y la cantidad inicial de SST. Al realizar los ANOVA correspondientes para la remoción de BPA con respecto a los SST iniciales; se observó que los factores individualmente tienen significancia sobre la remoción de BPA (tiempo,  $P \approx 0.0$  y SST,  $P < 0.001$ ). Cuando se realiza el ANOVA considerando la adición de los factores, se observa que la interacción del tiempo de exposición y los SST iniciales influyen significativamente en la remoción de BPA ( $P \approx 0.0$ ). En los experimentos de fotodegradación, los factores que influyen en la remoción de BPA son tiempo de exposición, luz/oscuridad y el medio acuoso (agua ultrapura o ARS). Para los ANOVA el medio acuoso, estadísticamente, no tiene influencia significativa en la remoción del BPA. Individualmente, el tiempo de exposición ( $P \approx 0.0$ ) y la presencia o ausencia de luz ( $P < 0.01$ ) y la interacción de ambos factores ( $P \approx 0.0$ ).

BPA=17 mg/L, SST≈ 500 mg/L



BPA=17 mg/L, SST≈ 300 mg/L

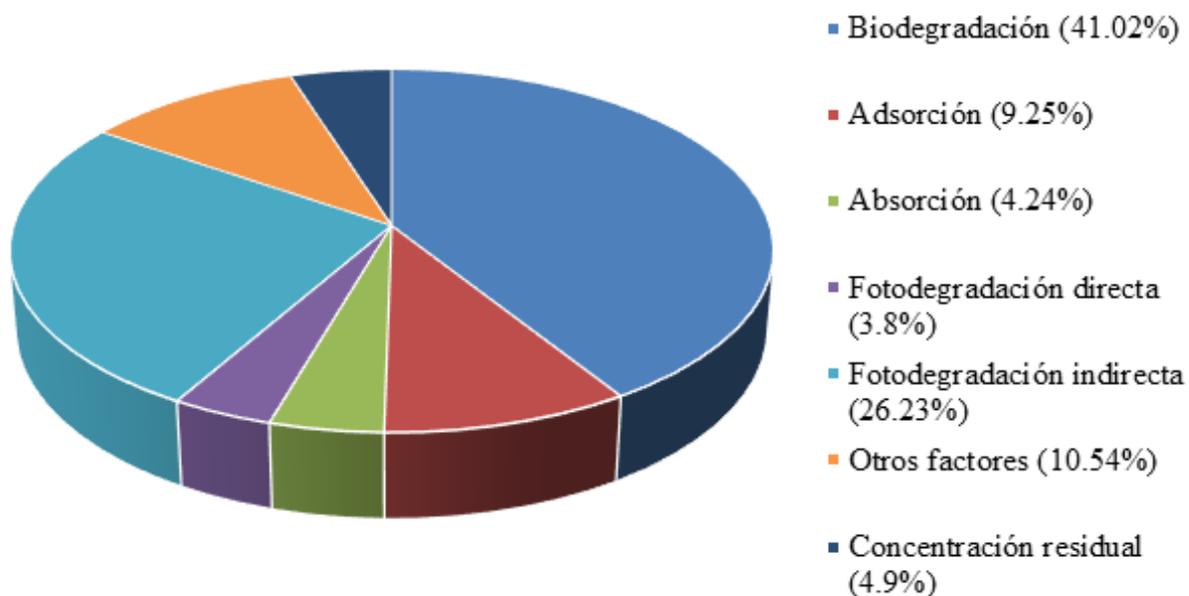
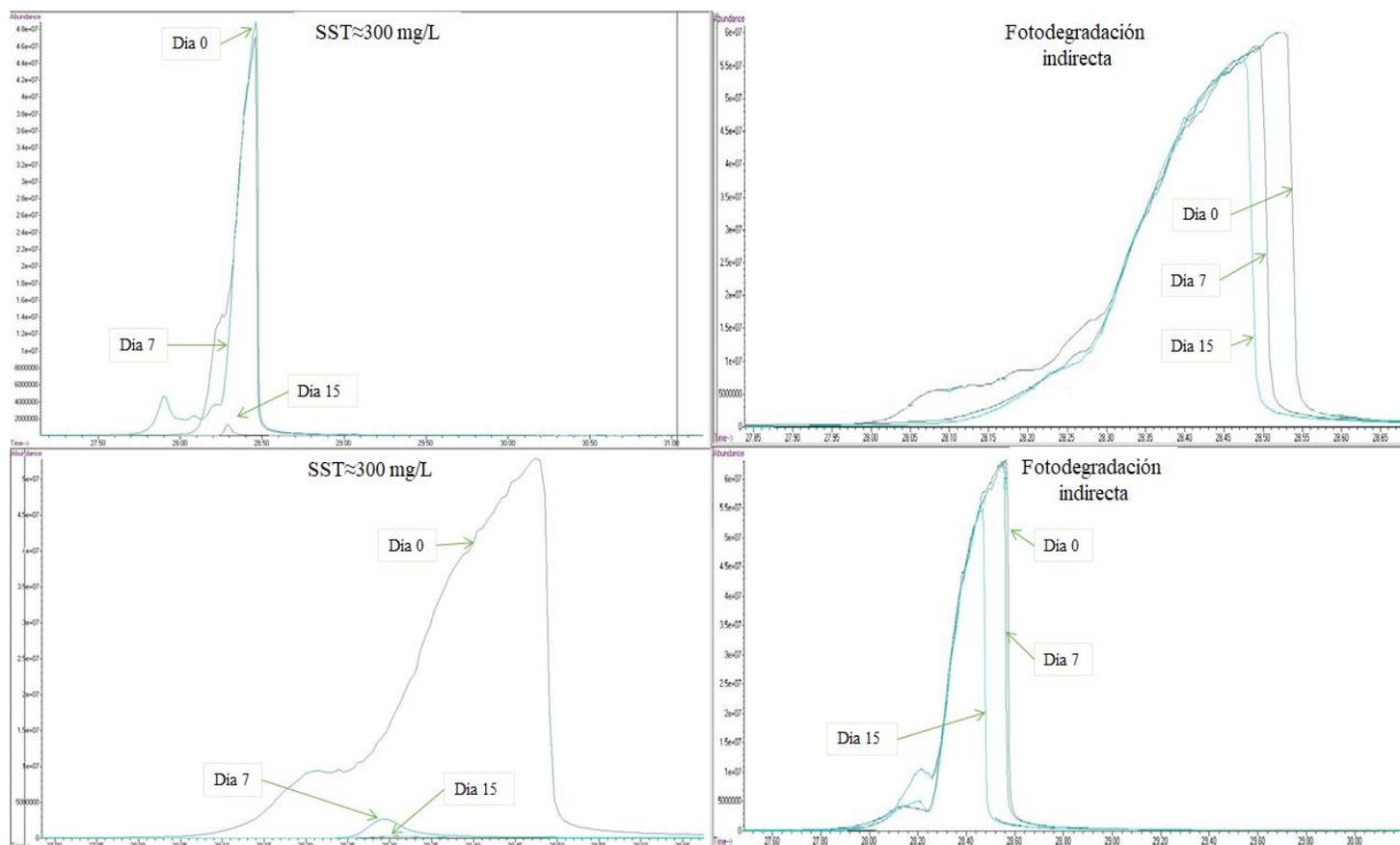


Gráfico 10. Vías de remoción para BPA



**Figura 15.** Cromatogramas de la remoción de BPA, para ambas concentraciones de SST iniciales y fotodegradación directa e indirecta. Se muestra la remoción a los días 0, 7 y 15.

En la tabla 24, se muestra el cambio en el pH para los experimentos en presencia de BPA. El pH promedio inicial de los experimentos con ARS es de 6.59, mientras que el pH promedio inicial para AMQ es de 5.77. El pKa del BPA es de 9.6, por lo que al inicio y al final del tratamiento, el BPA permanece sin disociar (Fig. 16).

**Tabla 24.** Cambio en el pH para experimentos en presencia de BPA

		Experimentos						
		A	B	C	D	E	F	G
Condiciones experimentales	Concentración inicial microalgas (mg/L)	≈300	≈300	≈500	≈500	0	0	0
	BPA concentración (mg/L)	17	0	17	0	17	17	17
	Luz	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No
	Medio	ARS	ARS	ARS	ARS	ARS	AMQ	AMQ
Inicio	pH	6.42	6.44	6.90	6.77	6.40	5.61	5.94
Final		5.29	4.15	5.3	4.69	5.15	5.38	6.18

ARS: agua residual sintética, AMQ: agua Milli-Q

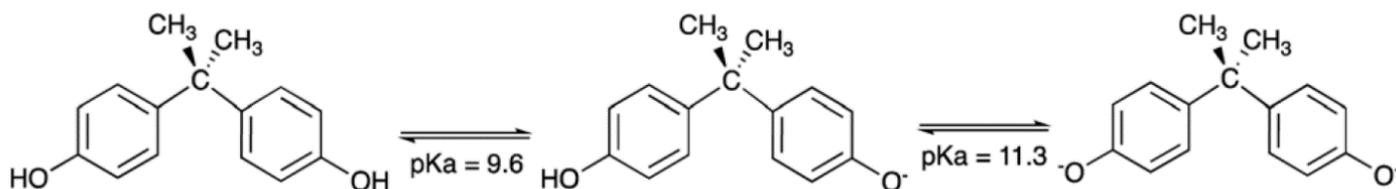


Figura 16. Constantes de disociación de BPA (Rovani *et al.*, 2020)

La remoción de triclosán se observa en la Tabla 25, Gráfico 11 y Figura 17. La remoción total fue del 61.1% que equivale a  $192.383 \pm 36.177 \mu\text{g/L}$  para el inóculo inicial de  $\approx 300 \text{ mg/L}$ . Mientras para el inóculo inicial de  $\approx 500 \text{ mg/L}$  la remoción total fue de 86.25%, equivalente a  $271.584 \pm 39.925 \text{ mg/L}$ . Se observa que a una cantidad mayor de inóculo la remoción general es mayor, así como la cantidad biodegradada de TCS. En cuanto a la sorción se observa una mayor adsorción en la concentración inicial de inóculo de  $\approx 500 \text{ mg/L}$ , lo mismo se observó en la absorción. La fotodegradación indirecta (14.074%,  $44.313 \pm 17.151 \text{ mg/L}$ ) mostró una remoción casi igual a la fotodegradación directa (14.434%,  $45.447 \pm 1.897 \text{ mg/L}$ ). En los experimentos en los que se estudiaron otros factores que contribuyen a la remoción de TCS, no se registró un cambio en la concentración inicial.

$$X_b = X_i - X_r - X_e - X_a - X_{fd} - X_{fi} - X_{of}$$

$$X_i \approx 314.862 \pm 56.46 \mu\text{g/L}$$

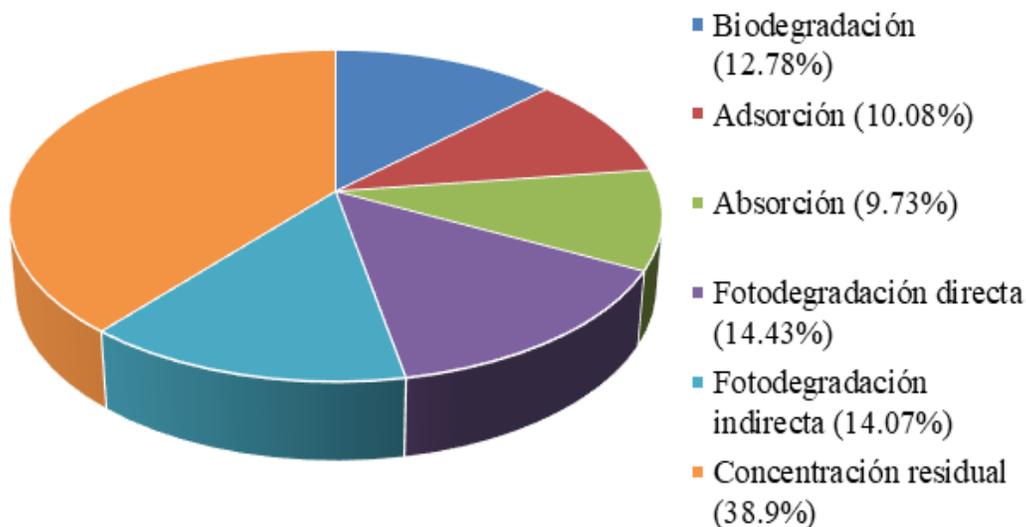
Tabla 25. Remoción de triclosán

Inóculo inicial, mg/L	$X_r$	$X_e$	$X_a$	$X_{fd}$	$X_{fi}$	$X_{of}$	$X_b$
	Concentración ( $\mu\text{g/L}$ )						
$\approx 300$	$122.477 \pm 23.031$	$31.746 \pm 0.067$	$30.652 \pm 6.111$	$45.447 \pm 1.897$	$44.313 \pm 17.151$	0	$40.227 \pm 22.856$
$\approx 500$	$43.277 \pm 6.362$	$59.258 \pm 15.35$	$57.181 \pm 14.069$	$45.447 \pm 1.897$	$44.313 \pm 17.151$	0	$65.386 \pm 22.856$
Porcentaje (%)							
$\approx 300$	38.889	10.082	9.735	14.434	14.074	0	12.776
$\approx 500$	13.745	18.820	18.161	14.434	14.074	0	20.766

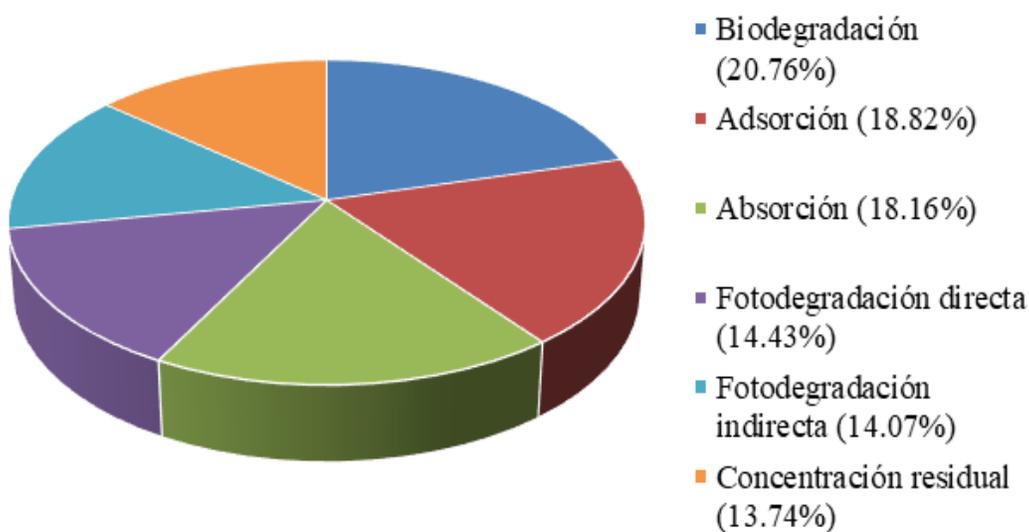
Los ANOVA para la remoción de TCS, fueron realizados de la misma manera que para el BPA y se consideraron los mismos factores que para BPA. Cuando se analizó la influencia de los SST iniciales, se encontró que individualmente el tiempo de exposición tiene una mayor significancia ( $P \approx 0.0$ ) mientras los SST ( $P < 0.1$ ) no tuvo un efecto significativo en la remoción de TCS; sin embargo, la adición de los efectos de ambos factores mostró una alta significancia ( $P \approx 0.0$ ), lo que indica que la remoción

de TCS se debe a un efecto conjunto entre los SST iniciales y el tiempo de exposición. Al igual que con el BPA, el medio acuoso no tiene influencia en la remoción de TCS. El tiempo de exposición ( $P < 0.01$ ) y la luz ( $P \approx 0.0$ ) individualmente tienen un efecto significativo, mientras la combinación de ambos factores presenta un efecto aditivo significativo ( $P \approx 0.0$ ).

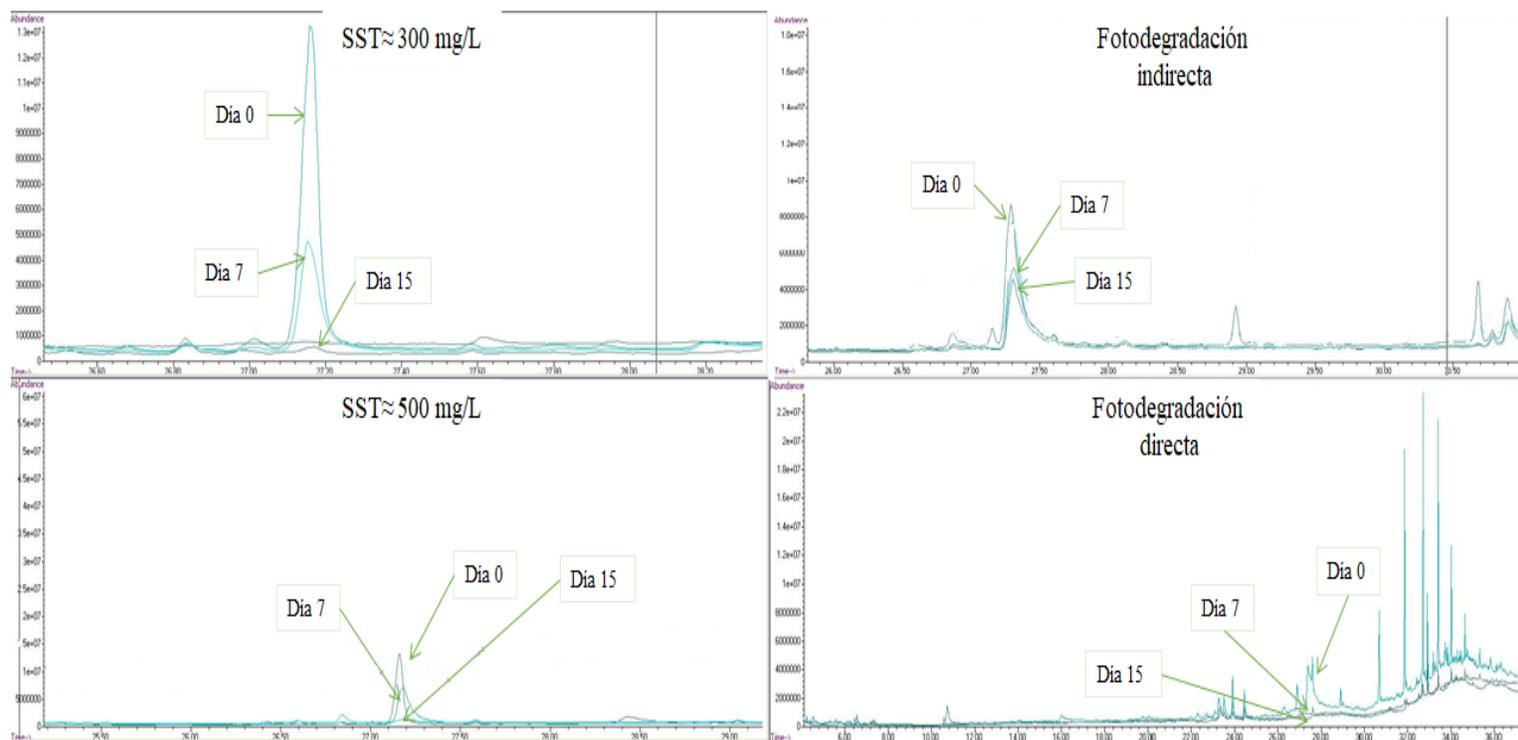
TCS  $\approx$  325 ug/L; SST  $\approx$  300 mg/L



TCS  $\approx$  325 ug/L; SST  $\approx$  500 mg/L



**Gráfico 11.** Vías de remoción para TCS



**Figura 17.** Cromatogramas de la remoción de TCS, para ambas concentraciones de SST iniciales y fotodegradación directa e indirecta. Se muestra la remoción a los días 0, 7 y 15.

En la tabla 26, se muestra el cambio al inicio y final del pH. El pKa del TCS es de 8.14, por lo que de acuerdo a la figura 18, durante los 15 días del tratamiento el TCS estuvo sin disociar.

**Tabla 26.** Cambio de pH en experimentos en presencia de triclosán

		Experimentos						
		A	B	C	D	E	F	G
Condiciones experimentales	Concentración inicial microalgas (mg/L)	≈300	≈300	≈500	≈500	0	0	0
	TCS concentración (μg/L)	325	0	325	0	325	325	325
	Luz	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No
	Medio	ARS	ARS	ARS	ARS	ARS	AMQ	AMQ
Inicio	pH	6.29	6.22	6.36	6.18	6.1	5.31	5.69
Final		5.69	5.19	5.57	4.59	6.51	5.88	5.81



**Figura 18.** Disociación de triclosán (Dhillon *et al.*, 2015)

La remoción de contaminantes emergentes por acción de microalgas ha sido reportada para especies de microalgas similares a las usadas en este estudio y para consorcios con distintas especies de microalgas. Entre los consorcios usados está el reportado por Matamoros *et al.*, 2015, en la que reportó aproximadamente 27 CE encontrados en agua residual urbana, entre ellos el BPA y TCS. El consorcio está compuesto de *Stigeoclonium* sp., diatomeas, *Chlorella* sp., *Monoraphidium* sp., la remoción se llevó a escala piloto con un TRH de 10 días, y volumen de 0.47m<sup>3</sup>; los porcentajes de remoción alcanzaron >90%. Palardé *et al.*, 2018 removió 17β-estradiol en agua residual urbana, el consorcio compuesto principalmente de *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., *Vorticellides* sp., *Uronema minutum* se probó a escala piloto y teniendo una remoción del 55 al 100%; mientras a escala laboratorio la remoción fue del 71 al 100%. Matamoros y Rodríguez, 2016; usaron un consorcio compuesto de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. removieron 11 CE en agua de drenaje agrícola, la remoción se realizó a escala laboratorio y a un volumen de 5 litros, para ambos casos la remoción supero el 90%. Fu *et al.*, 2023 usaron un consorcio conformado por *C. pyrenoidosa*, *Acinebacter* sp., *Serratia marcencens*, *Pseudomonas* sp. y bacterias, se removió BPA en un 20, 46.4, 42.9 y 43% de concentraciones iniciales de BPA de 2, 4, 6 y 8 mg/L.

La remoción de BPA se ha realizado para otras especies de microalgas distintas a las usadas en este estudio. Hirooka *et al.*, 2009 removió BPA con *C. fusca*, obtuvo porcentajes de remoción mayores a 95% en un intervalo de concentración de BPA de 10 a 80 μM y un 70% a 160 mM. Gatullo *et al.*, 2012 cuantificó la remoción de 81 a 90% con *M. braunii*. Zhou *et al.*, 2014 removió 50 CE en agua residual municipal, de éstos alrededor de 32 tuvieron una remoción mayor al 50%. Entre estos CE se encontraron BPA y TCS, que fueron removidos por *C. reinhardtii* (14.25% BPA; 41.72% TCS), *S. obliquus* (11.2 % BPA; 68.58% TCS), *C. pyrenoidosa* (0.855% BPA; 57.55% TCS), y *C. vulgaris* (0.953% BPA; 47% TCS). La remoción de CE también se ha realizado para especies de microalgas individualmente. La remoción de triclosán (400 μg/L) ha sido reportada para *C. pyrenoidosa*, *Desmodesmus* sp., *Scenedesmus obliquus* teniendo un porcentaje de remoción de 69.3, ≈100 y 99.7%, respectivamente (Wang *et al.*, 2018).

Otras especies de microalgas han sido reportadas para la remoción de CE distintos a los usados en este estudio. Por ejemplo, De Godos *et al.*, 2012 empleó *C. vulgaris* para la remoción de tetraciclina (2 mg/L) obteniendo una remoción de 69%. Ding *et al.*, 2017 removió naproxeno con *S. quadricauda* teniendo remoción de 58.8, 72.6 y 1.7% a concentraciones iniciales de 1, 10 y 100 mg/L. Xiong *et al.*, 2017, usaron *C. mexicana*, *C. pitschmanni*, *C. vulgaris*, y *Ourococcus multisporus*, removieron un 13, 1.6, no observado y 2% de ciprofloxacino con concentración inicial de 2 mg/L, respectivamente. Xiong *et al.*, 2019, se removieron sulfametazina y sulfametoxazol con *S. obliquus*, obtenido porcentajes de remoción de 31 al 62% para sulfametazina y 28 a 47% para sulfametoxazol.

Las vías de remoción reportadas en general para contaminantes emergentes son biodegradación, biosorción y fotodegradación. De acuerdo a lo obtenido en este estudio la vía que aporta la mayor remoción de BPA es la biodegradación y para TCS es la fotodegradación. Estudios realizados por otros autores revelan que las vías de remoción de BPA para otras especies de microalgas son la

biodegradación como vía predominante y la más reportada. *Eio et al., 2015* con *C. sorokiniana* obtuvieron porcentajes de remoción de 0.15, 0.32, 0.36 y 0.6% a concentraciones de microalgas de  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  y  $10^7$  cel/ml, respectivamente. La acumulación tuvo un porcentaje de 0.05 y 0.11 % para las concentraciones de microalgas de  $10^6$  y  $10^7$  cel/ml, respectivamente; mientras que, para las concentraciones de  $10^4$ ,  $10^5$  cel/mL no se detectó BPA. Los porcentajes de remoción por biodegradación fueron de 38.5, 30.7 y 20.7 para las concentraciones de BPA de 10, 20 y 50 mg/L, respectivamente. *Wang et al., 2017*, reporta porcentajes de remoción de 57, 25, 18 y 26 para concentraciones de BPA de 1,3, 5.5 y 13.5%, respectivamente, las cuales atribuye a la bioactividad de *Desmodesmus* sp.WR1 y una leve remoción debida a fotodegradación. *Ji et al., 2018* al remover BPA con *C. mexicana* y *C. vulgaris*, individualmente, las vías de remoción reportadas conjuntamente fueron bioacumulación y biodegradación. El porcentaje de BPA removido fue de 39 y 28% para *C. mexicana* y *C. vulgaris*, respectivamente. De acuerdo al Gráfico 14, las remociones de BPA en este estudio fueron de 41.02 y 46.75% para SST iniciales  $\approx 300$  y  $\approx 500$  mg/L. Los valores de biodegradación reportados contra los obtenidos tienen ligeras diferencias, por lo que coincide con lo reportado para el BPA y su alta predisposición a la biodegradación.

La biodegradación de triclosán en este estudio se cuantificó en 12.78 y 20.76% para SST iniciales  $\approx 300$  y  $\approx 500$  mg/L, respectivamente. Pocos estudios sobre las vías de remoción han sido realizados para triclosán, por ejemplo, *Wang et al., 2013* removió TCS (800 ng/L) con *C. pyrenoidosa* ( $3 \times 10^7$  cel/mL) teniendo una remoción de 72.3% a las 6 horas de exposición, los autores reportan que las vías de remoción involucradas fueron la adsorción y absorción. *Wang et al., 2018* determinó que la cantidad de TCS (400  $\mu$ g/L) ingerido por microalgas, fue de 59.2 % en el primer día mientras en el séptimo día se cuantificó un 55% para *C. pyrenoidosa*. Para *Desmodesmus* sp., la ingesta de TCS fue de 39.9% el primer día, al cuarto día el porcentaje baja a 14.5, y para el séptimo día 2.8%. *S. obliquus* tuvo una ingesta de 2.1% el primer día de exposición y 1% al séptimo día.

En cuanto a la fotodegradación, *da Silva et al., 2014*, reporta que la fotólisis aporta una remoción del 70% a una concentración inicial de BPA de 5 mg/L. *Eio et al., 2015*, obtuvieron porcentajes de remoción, por factores abióticos, de 11.3, 13.2 y 18.8% a concentraciones de BPA de 10, 20 y 50 mg/L, respectivamente. *Koumaki et al., 2015* obtuvo para una concentración de BPA de 2  $\mu$ g/L remoción no mayor al 60% a 110 h de exposición (fotodegradación) y de 30% por 163 h de exposición (fotólisis), sin embargo, esta remoción incrementó a 90% en presencia de  $\text{NO}_3^-$  (10 mg/L). para el caso de TCS presentó la mayor fotodegradación sin la presencia del ion nitrato (93.55%) la adición del ion aumentó ligeramente la remoción a 98.06 y 96.77% a concentraciones de ion nitrato de 1 y 10 mg/L, respectivamente. *Wang et al., 2017*, no reporta un porcentaje, solo que el BPA es ligeramente removido por factores abióticos. *Martínez-Zapata et al., 2013*, encontraron una remoción de TCS (2 mg/L) de 72% a 19 h de exposición. *Wang et al., 2017*, estudiaron la fotodegradación directa (agua Milli Q) e indirecta (agua residual) para TCS a 150  $\mu$ g/L; a 4 h de exposición hubo una remoción del 97% (fotodegradación directa o fotólisis) y 62 % (fotodegradación indirecta). El autor argumenta que la vía primaria en la fotodegradación de TCS es la directa, es decir la acción de la luz para romper los enlaces

de la molécula. Wang *et al.*, 2018 determinó que TCS a 400 µg/L tuvo un ≈3.28% de remoción por fotodegradación.

En este estudio se observó que la mayor remoción por efecto de la fotodegradación de BPA fue la indirecta, en donde las especies químicas presentes en el ARS intensificaron el porcentaje de remoción. Se obtuvo un 3.8 y 26.23% de remoción para fotodegradación directa e indirecta, respectivamente. Al igual que reporta Koumaki *et al.*, 2015, la presencia de nitratos aumentó la degradación de BPA; la cantidad inicial promedio de nitrato fue de 5.1 mg/L. La interacción de la luz y el ion nitrato forma radical nitrito y radical  $\cdot\text{O}^-$ , éste último reacciona con el agua para formar el ion hidroxilo y el radical hidroxilo (Koumaki *et al.*, 2015). Eso explica la mayor eficiencia de degradación en el agua residual sintética. La fotodegradación de TCS fue de 14.43 y 14.07% para fotodegradación directa e indirecta, respectivamente. La diferencia es mínima entre ambas vías de remoción atribuidas a la fotodegradación.

### 6.3.2 Subproductos de degradación

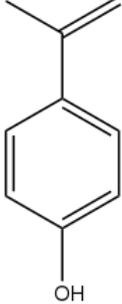
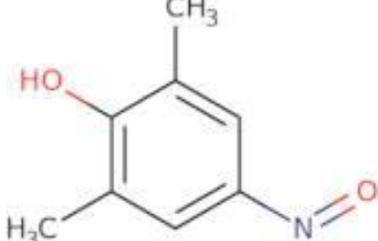
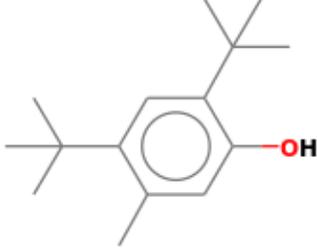
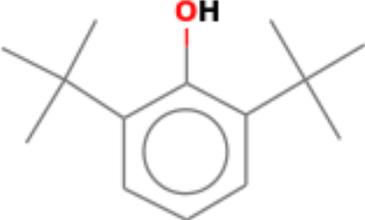
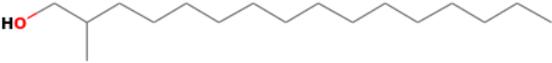
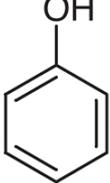
Los subproductos de degradación fueron detectados en el modo SCAN, para los experimentos con microalgas fueron el *p*-isopropenilfenol, el cual ha sido identificado en la oxidación de BPA con ferrato de potasio (Li *et al.*, 2008); y al ser expuesto a la luz en presencia de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (Ye *et al.*, 2019). La formación de radicales  $\bullet\text{OH}$  los cuales atacan el carbón tert-butil el cual es rico en electrones en los anillos aromáticos del BPA que da dos productos de degradación: fenol y *p*-isopropenilfenol (Ye *et al.*, 2019). 2,6-dimetilbenzoquinona-4-oxima reportado en degradación por luz UV, la reacción principal consiste en la reacción del BPA con oxígeno en la que la reacción de oxidación se concentra en la posición *para* del fenol (Macko e Ishida, 2000). 4,6-di-tert-butil-*m*-cresol fue encontrado en las muestras de adsorción, este compuesto químico ha sido reportado en la degradación con catalizadores (Ma *et al.*, 2018). Fenol 2,4-bis(1,1-dimetiletil)- ha sido reportado en la degradación de BPA por acción de microorganismos, *Bacillus megaterium* (Suyamud *et al.*, 2018); *Serratia* sp. (Gupta *et al.*, 2015); *Escherichia coli* (Zhang *et al.*, 2019) y por catálisis con peroxidisulfato (Hu *et al.*, 2022). 1-hexadecanol-2-metil se ha reportado en la degradación de BPA por *Funali trogii* (Erkut *et al.*, 2015). Fenol que ha sido reportado en fotodegradación, y se debe a un ataque de radicales  $\bullet\text{OH}$  (Katsumata *et al.*, 2004). Las estructuras químicas de los subproductos de degradación identificados se muestran en la tabla 25.

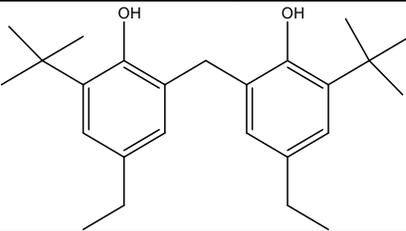
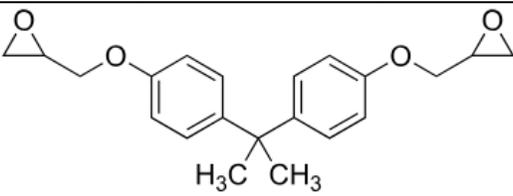
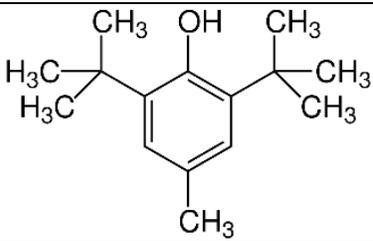
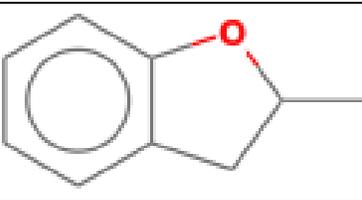
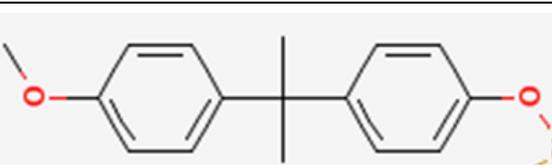
Compuestos químicos identificados pero que no han sido reportados son fenol 2,2'-metileno-bis[6-(1,1-dimetiletil)-4-etil]-, BPA diglicídico éter, hidroxitolueno butilado, los cuales por la estructura química podrían ser subproductos del BPA. Las estructuras de estos compuestos se muestran en la Tabla 25. En las muestras de adsorción y absorción se encontró la presencia de ácidos grasos, los cuales pertenecen a los presentes en microalgas. Subproductos de degradación en las muestras de microalgas (fase acuosa y sorción) no detectados podrían corresponder a compuestos químicos que se degradaron y no se detectaron en los cromatogramas, ya que los días de muestreo fueron cada 7 días.

Para ambos experimentos de fotodegradación se encontró el compuesto benzofuran 2,3-dihidro-2-metil fue reportado en presencia de oxígeno (Kitajima *et al.*, 2006). Otro compuesto identificado pero que no

ha sido reportado o asociado a la degradación de BPA es 2-(4'hidroxifenil)-2-(4'metoxifenil)-propano; por su estructura química (Tabla 27) podría asociarse al BPA.

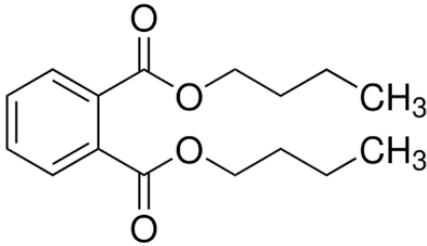
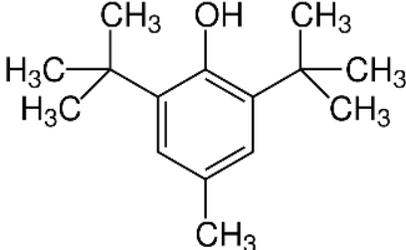
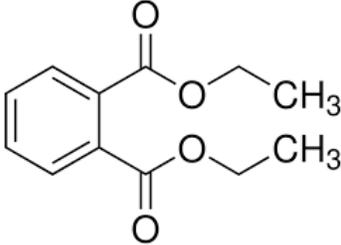
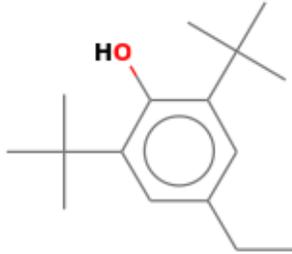
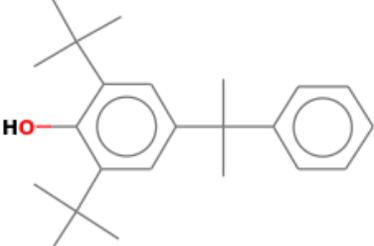
**Tabla 27.** Subproductos de degradación de BPA

Nombre	Estructura química
<i>p</i> -isopropenilfenol	
2,6-dimetilbenzoquinona-4-oxima	
4,6-di-tert-butyl- <i>m</i> -cresol	
Fenol 2,4-bis(1,1-dimetiletil)-	
1-hexadecanol, 2-metil	
Fenol	

Nombre	Estructura química
2,2'-metileno-bis[6-(1,1-dimetiletil)-4-etil]-	
BPA diglicidil éter	
Hidroxitolueno butilado	
Benzofuran 2,3-dihidro-2-metil	
2-(4'hidroxifenil)-2-(4'metoxifenil)-propano	

Los subproductos de degradación del triclosán que se identificaron fueron dibutil ftalato, hidroxitolueno butilado, dietil ftalato, fenol 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-etil, fenol 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-(1-metil-1-feniletil)-, estos compuestos químicos no están reportados en la literatura, sin embargo, por su estructura química podrían relacionarse al TCS. En las muestras derivadas de los experimentos con microalgas se detectaron ácidos grasos relacionados con microalgas. En los experimentos de fotodegradación los compuestos detectados fueron dibutil ftalato, y fenol 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-; al igual que los experimentos con microalgas, los compuestos químicos detectados no están reportados para la degradación con TCS. La razón de que no se detectaron subproductos de degradación ya reportados para TCS, podría deberse a la estabilidad y tiempo de vida de los subproductos generados y que el tiempo de muestreo fue cada 7 días. En la Tabla 28 se muestran las estructuras químicas de los compuestos detectados.

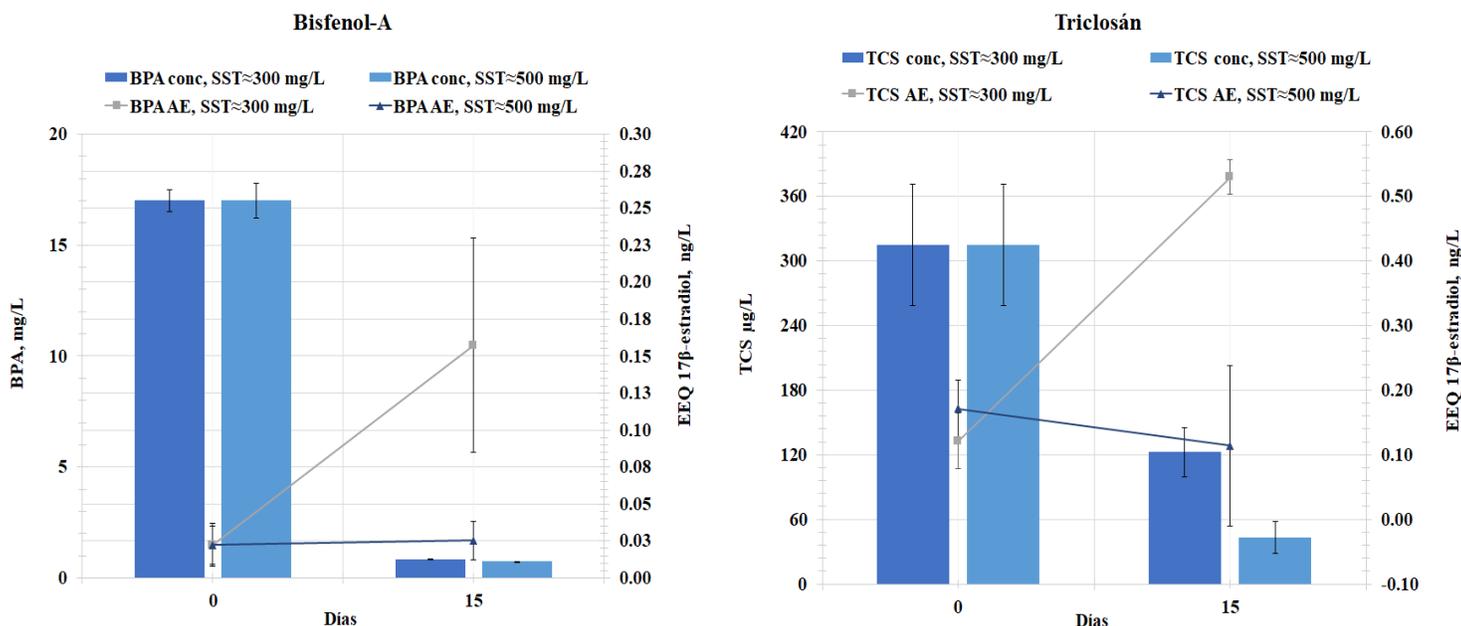
**Tabla 28.** Subproductos de degradación de TCS

Nombre	Estructura química
Dibutil ftalato	
Hidroxitolueno butilado	
Dietil ftalato	
Fenol 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-etil	
Fenol 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-(1-metil-1-feniletil)-	

## 6.4 Actividad estrogénica

Al igual que para la remoción de los contaminantes emergentes, la actividad estrogénica solo se determinó para BPA y TCS a la  $EC_{50}$  determinada. Los datos mostrados para BPA y TCS muestran el cambio en los equivalentes de  $17\beta$ -estradiol para cada experimento, determinación en el medio, fotodegradación directa e indirecta y sorción.

En el Gráfico 12, se muestra el cambio en la remoción de BPA y TCS y el cambio en la actividad estrogénica. Se observa que la actividad estrogénica aumenta conforme disminuye la cantidad de BPA y TCS en el medio acuoso. La concentración final de BPA fue de 0.834 y 0.735 mg/L, para SST iniciales  $\approx 300$  y  $\approx 500$  mg/L, respectivamente. La actividad estrogénica al día 15 de exposición aumentó siete veces y 1.13 veces para SST iniciales  $\approx 300$  y  $\approx 500$  mg/L, respectivamente. El TCS al día 15 de exposición se cuantificó en 12.477 y 43.277  $\mu\text{g/L}$  a SST  $\approx 300$  y  $\approx 500$  mg/L, correspondientemente. La actividad estrogénica para SST  $\approx 300$  y  $\approx 500$  mg/L aumentó 4.37 veces y disminuyó un 33.35%, respectivamente. Se observa que la actividad estrogénica no es directamente proporcional a la cantidad de CE presente.



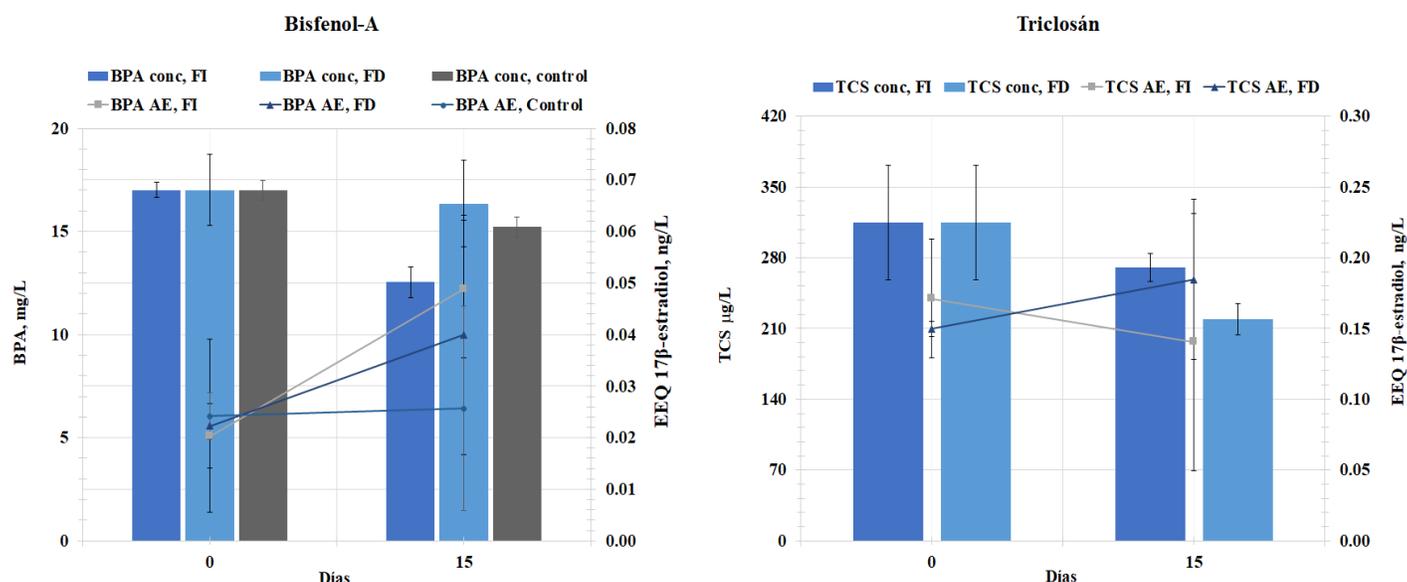
**Gráfico 12.** Remoción de BPA y TCS y actividad estrogénica en el medio acuoso  
AE: actividad estrogénica

En la Tabla 27, se muestran estudios reportados en donde la actividad estrogénica es removida por varios tratamientos, como microalgas, oxidación y fotodegradación. En los experimentos que involucran microalgas, se observa que los resultados obtenidos en este estudio alcanzan un porcentaje de remoción de los contaminantes emergentes mayor a 95% para el BPA, mientras para el TCS el porcentaje de remoción no superó el 90%. Los porcentajes de remoción obtenidos son similares a los reportados por Zhou *et al.*, 2018, que obtuvo una remoción de 98.88% para BPA y 31.41 para TCS

para *S. obliquus* individualmente. En cuanto a la remoción de la actividad estrogénica, los estudios reportados muestran remociones que van desde 30 al 80% de remoción. En este estudio se encontró que a SST iniciales  $\approx 300$  mg/L, la actividad estrogénica se multiplicó con respecto al día cero; sin embargo, con SST iniciales  $\approx 500$  mg/L la actividad estrogénica se redujo en un 38.2% para BPA y de 80% para TCS. Lo que indica que a mayor concentración de microalgas iniciales la actividad estrogénica disminuye. Esto podría explicarse que a mayor cantidad de microalgas la biodegradación aumenta, siendo una vía de remoción en la que las moléculas al degradarse se rompen en subproductos de degradación que exhiben menor o ninguna toxicidad (Zhou *et al.*, 2022).

Se estudió la sorción de los contaminantes emergentes acumulados en las células de microalgas usadas en los experimentos de vías de remoción. En el Gráfico 13 se muestra la relación de la actividad estrogénica y la remoción de BPA y TCS al día 15 de exposición. El porcentaje de adsorción de BPA para SST  $\approx 300$  mg/L fue del 9.25% (1.573 mg/L) que equivale a 0.1907 EEQ ng/L 17 $\beta$ -estradiol. Mientras la absorción a esta misma concentración de 4.24% (0.698 mg/L), equivalente a 0.0978 EEQ ng/L 17 $\beta$ -estradiol. A SST  $\approx 500$  mg/L, la SST, fue adsorción fue de 4.11% (0.698 mg/L) con 0.3874 EEQ ng/L 17 $\beta$ -estradiol; y el porcentaje de absorción 4.24 (0.72 mg/L) con 0.1268 EEQ ng/L 17 $\beta$ -estradiol.

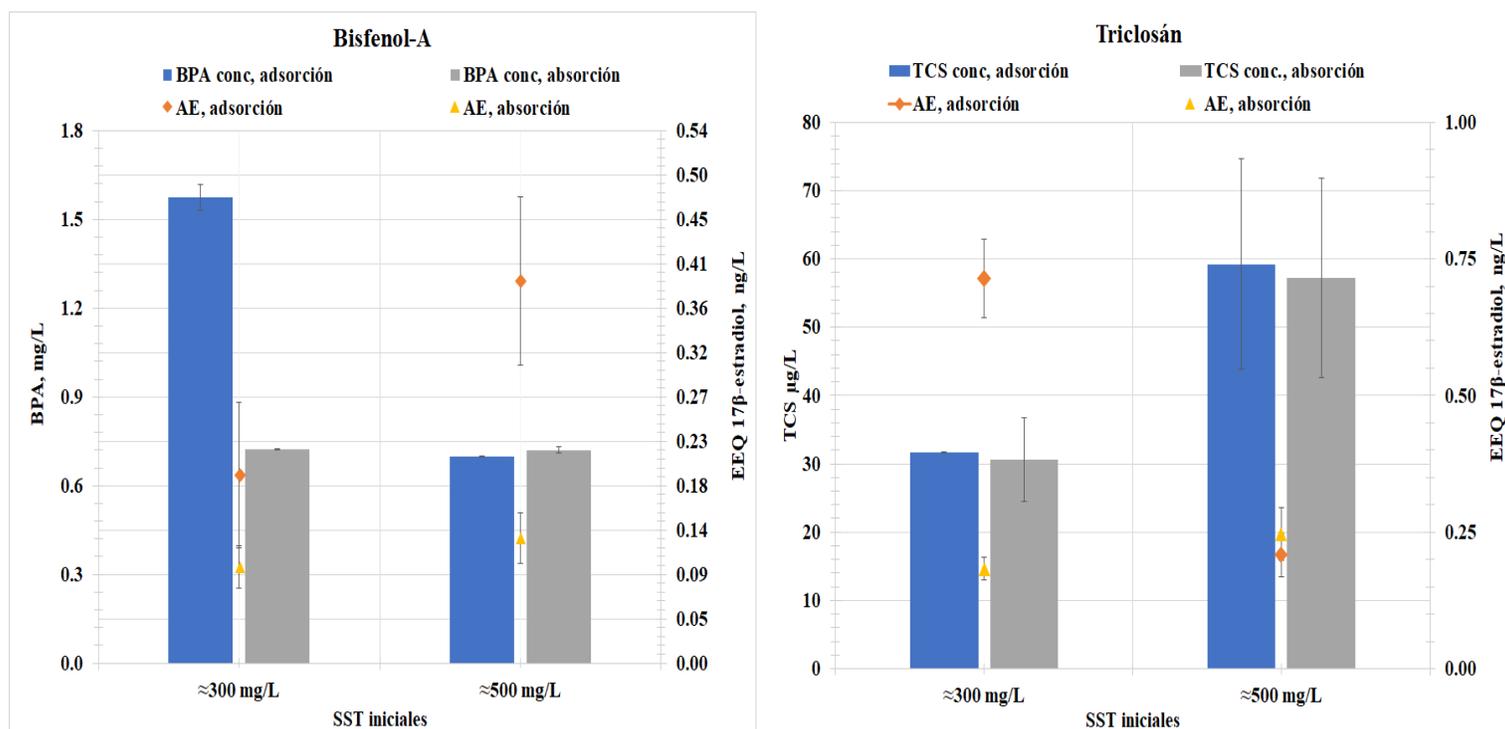
El porcentaje de adsorción de TCS para la concentración de SST  $\approx 300$  mg/L fue de 10.082 (31.746  $\mu$ g/L) equivalente a 0.714 EEQ ng/L 17 $\beta$ -estradiol, mientras la absorción la misma concentración de SST fue de 9.735% (30.652  $\mu$ g/L) que equivale a 0.1829 EEQ ng/L 17 $\beta$ -estradiol. Para SST  $\approx 500$  mg/L, el porcentaje de TCS adsorbido fue de 18.82 (59.258  $\mu$ g/L) que en equivalentes 17 $\beta$ -estradiol es igual a 0.2082 ng/L; en el caso de la absorción la misma concentración de SST, el porcentaje de TCS removido fue de 18.161 (57.181  $\mu$ g/L) equivalente a 0.2468 EEQ ng/L 17 $\beta$ -estradiol.



**Gráfico 13.** Actividad estrogénica y sorción de BPA y TCS  
AE: actividad estrogénica

En el gráfico 14 se muestra la relación entre la remoción de BPA y TCS por fotodegradación y la actividad estrogénica. En el caso de BPA se muestra la remoción de BPA y la actividad estrogénica para el control de fotodegradación, esto debido a que en el caso de TCS en el control de fotodegradación no se observó remoción del contaminante emergente. La actividad estrogénica removida en el control de fotodegradación (otros factores) tiene un ligero incremento del 6.19% con respecto al día cero. La actividad estrogénica removida por fotodegradación indirecta (26.23% remoción de BPA) mostró un incremento de 2.406 veces con respecto a lo determinado al día cero de exposición. La fotodegradación directa mostró tener una disminución en la remoción de la actividad estrogénica de 23.07%. La remoción de la actividad estrogénica de TCS, con respecto al día cero de exposición, mostró tener una disminución del 17.99%.

En el caso de la remoción por fotodegradación directa (agua Milli Q como medio) tuvo un 3.8% y 14.43% para BPA y TCS, respectivamente. En cuanto a la actividad estrogénica hubo remoción para BPA y TCS en la fotodegradación indirecta y directa, respectivamente. Sin embargo, la actividad estrogénica en la fotodegradación directa aumentó 1.79 veces para BPA y se observó un aumento de 1.23 veces para TCS.



**Gráfico 14.** Remoción de BPA y TCS por acción de la fotodegradación y disminución en la actividad estrogénica

AE: actividad estrogénica, FI: fotodegradación indirecta, FD: fotodegradación directa

En la Tabla 27, el único trabajo que se enfoca en la fotodegradación, *Mutou et al., 2006*, probó la degradación de BPA en agua Milli Q, en la que no se detectó actividad estrogénica al final del experimento. En los estudios recopilados en la Tabla 27, se probó la combinación de fotodegradación en conjunto con  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , cloración, hierro. En estos estudios las remociones de los contaminantes emergentes van del 7.3 al 99%, y la actividad estrogénica se cuantificó después de los tratamientos de 0 a  $\approx 100\%$  de remoción, sin embargo, las concentraciones iniciales de los contaminantes emergentes estuvieron entre los 100 ng/L a los 500  $\mu\text{g/L}$ .

Otros estudios que involucran oxidación en los que se hace uso de agentes químicos que también son usados en la desinfección como cloro y ozono, reportan remociones de contaminantes emergentes de 79.3% al 99.72%, los cuales son más altos que los reportados en otros estudios. La cuantificación de la actividad estrogénica en tratamientos de cloración y ozonación se reporta de  $>4\%$  hasta  $\approx 100\%$ . Las concentraciones de los contaminantes emergentes probados van desde los 1000 ng/L hasta los 4 mg/L.

**Tabla 29.** Remoción de contaminantes emergentes y actividad estrogénica por tratamientos de microalgas, fotodegradación y oxidación

Contaminante emergente (CE)	Concentración CE	Matriz	Condiciones experimentales	Actividad estrogénica (AE) método	Porcentaje remoción CE	Porcentaje remoción AE	Referencia
<b>Tratamiento: microalgas</b>							
BPA	10 – 160 $\mu$ M	Medio Bristol	<i>C. fusca</i> 0 – 36 W/m <sup>2</sup> 8:16 horas luz/oscuridad TRH: 168 h	YES	70% @ 160 >95% @ 10 – 80	≈100	Hirooka <i>et al.</i> , 2005
17 $\alpha$ -estradiol E1 E2 E3	5 $\mu$ g/L	Agua residual	<i>S. dimorphus</i> , 40 mg/L TRH: 8 días 12:12 horas luz/oscuridad Intensidad de luz: 100 $\mu$ E/m <sup>2</sup> s	E-screen	10 – 20	30% @ 24 h	Zhang <i>et al.</i> , 2014
BPA TCS	BPA: 20145.6 ng/L TCS: 41.7 ng/L *	Agua residual	<i>C. reinhardtii</i> , <i>S. obliquus</i> , <i>C. pyrenoidosa</i> , <i>C. vulgaris</i> Conc. Microalgas: 0.05 mg/L de Chl-a 12:12 horas luz/oscuridad Intensidad de luz: 60 $\mu$ mol/m <sup>2</sup> s TRH: 7 días	YES	<i>C. reinhardtii</i> BPA (98.57), TCS (58.27) <i>S. obliquus</i> BPA (98.88), TCS (31.41) <i>C. pyrenoidosa</i> BPA (99.14), TCS (42.44) <i>C. vulgaris</i> BPA (99.04), TCS (52.99)	<i>C. reinhardtii</i> : 46.15 <i>S. obliquus</i> : 81.19 <i>C. pyrenoidosa</i> : 64.1 <i>C. vulgaris</i> : 56.41	Zhou <i>et al.</i> , 2018
EE2 E2	3 mg/L	BG-11	<i>S. capricornutum</i> , <i>S. quadricauda</i> , <i>C. vulgaris</i> 3x10 <sup>7</sup> cel/mL 12:12 horas luz/oscuridad Intensidad de luz: 201.5 $\mu$ mol/m <sup>2</sup> s	YES	<i>S. capricornutum</i> , E2 (91), EE2 (83) <i>S. quadricauda</i> E2 (73), EE2 (57) <i>C. vulgaris</i> E2 (92), EE2 (55)	<i>S. capricornutum</i> : 80 <i>S. quadricauda</i> : 64 <i>C. vulgaris</i> : 68	Wu <i>et al.</i> , 2021
BPA TCS	BPA: 17 mg/L		Consorcio <i>S. obliquus</i> y <i>Desmodesmus</i> sp.	BLYES	BPA: 95.1 TCS: 61.1	BPA: 7.016 veces aumento	Este estudio

Contaminante emergente (CE)	Concentración CE	Matriz	Condiciones experimentales	Actividad estrogénica (AE) método	Porcentaje remoción CE	Porcentaje remoción AE	Referencia
	TCS≈ 325 µg/L	Agua residual sintética	12:12 horas luz/oscuridad Intensidad de luz: ≈100 µmol/m <sup>2</sup> s TRH: 15 días SST≈ 300 mg/L			TCS: 4.37 veces aumento	
			Consortio <i>S. obliquus</i> y <i>Desmodesmus</i> sp. 12:12 horas luz/oscuridad Intensidad de luz: ≈100 µmol/m <sup>2</sup> s TRH: 15 días SST≈ 500 mg/L		BPA: 95.68 TCS: 86.25	BPA: 1.13 veces aumento TCS: 33.35%	
<b>Tratamiento: Fotodegradación + oxidación</b>							
BPA	520 µmol/L	Agua ultra pura y agua residual	$I_0 = 4.25 \times 10^{-6} \text{ E}^{-1}$ 750 mL volumen total 500 µM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	YES	Sin H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : AUP: 7.3; AR: 8.8 Con H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : AUP: 35; AR: 28	50% @ 120 min	Neamtu <i>et al.</i> , 2006
BPA	100 µM	Agua Milli Q	Radiación UVB 0 – 100 J/cm <sup>2</sup>	Y2H	NR	ND	Mutou <i>et al.</i> , 2006
E2 EE2	3 µg/L	Agua desionizada, agua tipo I, agua tipo II	UV 0 – 12 000 mJ/cm <sup>2</sup> 500 µg/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	YES	EE2: 95% @ 5000 mJ/cm <sup>2</sup> E2: 99% @ 4000 mJ/cm <sup>2</sup>	95%	Rosenfeldt <i>et al.</i> , 2007
BPA	100 ng/L	Agua Milli Q Agua residual	Irradiación: 0.7 W TiO <sub>2</sub> 0.8 g/L	Y2H	NR	≈100% @ TiO <sub>2</sub> + 50 min+ 0.2 mM (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , Cl <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) ≈48.2% @ TiO <sub>2</sub> + 50 min+ NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ≈39.5% @ TiO <sub>2</sub> + 50 min+ HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Zhang <i>et al.</i> , 2012

Contaminante emergente (CE)	Concentración CE	Matriz	Condiciones experimentales	Actividad estrogénica (AE) método	Porcentaje remoción CE	Porcentaje remoción AE	Referencia
						≈78.3% @ TiO <sub>2</sub> + 50 min+ HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	
E2	500 µg/L	Agua desionizada Agua residual	Irradiación 2.1 mW/cm <sup>2</sup> Cloración 10 mg/L	YES	NR	Agua desionizada 97.2 @ 5 min + UV + Cl 96.2 @ 5 min + Cl Agua residual 78.3 @ 5 min + UV+ Cl 49.1 @ 5 min + Cl	Li <i>et al.</i> , 2016
BPA	100 µg/L	Agua Milli Q Agua residual	Cloración 0.2 – 2 mg/L Irradiación 6W	YES	AMQ: 18 y 70 para UVA y UVC respectivamente, @ 120 min AR: 66 @ 0.2 mg/L Cl, 3 min 99 @ 2 mg/L, 3 min	<LC (26 µg/L)	Saggiaro <i>et al.</i> , 2019
BPA	100 µg/L	AUP	Irradiación 6W 3 – 30 mg/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> TRH: 5 min	YES	70 @ UVA 18 @ UVC	93.35 @ pH= 5 99.19 @ pH= 7 <LD @ pH= 9	Chaves <i>et al.</i> , 2020
E1, E2, EE2, E3	250 µg/L	Agua de la llave	UV + TiO <sub>2</sub> TRH: 4 h	Células adherentes MCF-7	90% @ 3 h	≈85 @ 3 h	Padovan <i>et al.</i> , 2021
4-OP, 4-NP, BPA, estrona, E2, EE2, E3	100 µg/L	Agua residual	12 W/m <sup>2</sup> Fe <sup>2+</sup> = 20, 40, 60 mg/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> = 100, 200, 300 mg/L	YES	80 @ 20 mg/L Fe <sup>2+</sup> y 100 mg/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0 – 62 @ UV + Fe <sup>2+</sup> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Silva <i>et al.</i> , 2021
BPA TCS	BPA: 17 mg/L	AMQ	12:12 horas luz/oscuridad	BLYES	BPA: 3.8 TCS: 14.43	BPA: incremento de 1.79 veces	Este estudio

Contaminante emergente (CE)	Concentración CE	Matriz	Condiciones experimentales	Actividad estrogénica (AE) método	Porcentaje remoción CE	Porcentaje remoción AE	Referencia
	TCS≈ 325 µg/L		Intensidad de luz: ≈100 µmol/m <sup>2</sup> s TRH: 15 días			TCS: 1.23 veces de aumento	
		ARS	12:12 horas luz/oscuridad Intensidad de luz: ≈100 µmol/m <sup>2</sup> s TRH: 15 días		BPA: 26.23 TCS: 14.07	BPA: 2.4 veces aumento TCS: 17.99%	
<b>Tratamiento: oxidación</b>							
BPA	500 µg/L	Agua cruda sintética	Cloración 1.46 mg/L	Y2H	80 @ 10 min	25.77, 9.42 y 4.08 a 10, 30 y 60 min, respectivamente	Hu <i>et al.</i> , 2002
4-NP	500 µg/L	Agua cruda sintética	Cloración 1.3 mg/L	Y2H	84 @ 10 min	30 @ 10 min A los 60 y 120 min no hay AE	Hu <i>et al.</i> , 2002b
EE2	10 µM	Agua Milli Q	Ozono dosis 5 – 24 µM Tiempo: 2 min	YES	99.72	98.5 @ 19 µM O <sub>3</sub>	Huber <i>et al.</i> , 2004
EE2	10 µM	Buffer fosfatos	0 – 28 µM Cl <sup>-</sup> y Br <sup>-</sup>	YES	NR	> 87	Lee <i>et al.</i> , 2008
4-NP	4 mg/L	Agua Milli Q	Ozonación 1.5 mg/L	YES	NR	≈100 @ 10 min	Sun <i>et al.</i> , 2008
BPA 4-NP TCS	1000 ng/L	Agua de pozo	Ozono fase gas 1, 2 y 3 mg/L Tiempo: 1, 5, 10 min Cloración 0.2, 1 y 1.5 mg/L Tiempo 10 minutos	BLYES	BPA: 98.7 4-NP: 79.3 TCS: 97 BPA: 86.2 4-NP: 94.3 TCS: 97.8	BPA: 77 – 96 4-NP: 93 – 99 TCS: 94 – 96 BPA: 81 – 94 4-NP: 95 – 97 TCS: 92 – 99	Orta <i>et al.</i> , 2019

\*Contaminantes emergentes encontrados y cuantificados en las muestras de agua residual utilizadas. Y2H: Yeast two-hybrid; AUP: agua ultra pura; NR: no reportado; ND: no detectado; LC: límite de cuantificación; AMQ: agua Milli Q; LD: límite de detección; E1: estrona; E2: 17β-estradiol; EE2: 17β-estriol; E3: estriol; ARS: agua residual sintética; 4-OP: 4-octilfenol; 4-NP: 4-nonilfenol

## 7 CONCLUSIONES

1. Las  $EC_{50}$  determinadas fueron de 17 mg/L para BPA y 325  $\mu\text{g/L}$  para TCS, con una concentración inicial promedio de microalgas aproximada de  $10^4$  células/mL, de un consorcio de microalgas con predominancia de *Scenedesmus obliquus* y *Desmodemus* sp. Las  $EC_{50}$  determinadas están en orden de magnitud a lo reportado por otros investigadores para otras especies individuales de microalgas. La diferencia entre la magnitud de concentraciones entre BPA y TCS, se determina que TCS es aproximadamente 52 veces más tóxico que BPA.
2. Se cuantificó la actividad estrogénica y la concentración de BPA y TCS, por medio de la técnica de BLYES-GC/MS. La relación entre la concentración del contaminante emergente y el área bajo la curva es directamente proporcional (cuantificación), sin embargo, esta tendencia no se observa en la actividad estrogénica, debido a que los contaminantes emergentes exhiben comportamientos fuera de la linealidad entre concentración y EEQ de ng/L  $17\beta$ -estradiol. Ante ello, es necesario realizar la determinación de la actividad estrogénica de los contaminantes emergentes en los tratamientos, sin importar el porcentaje de remoción de los contaminantes emergentes que se alcance.
3. Se determinó que la presencia de BPA y TCS estimula (favorece) el crecimiento y producción de biomoléculas. A pesar de que el BPA y TCS son contaminantes disruptores endocrinos, el consorcio aumentó la producción de compuestos de interés comercial como carbohidratos, lípidos, proteínas y clorofila, así como la producción de biomasa microalgal. La mejor combinación de concentraciones iniciales fue a una cantidad de SST  $\approx 300$  mg/L y a concentraciones de BPA (17 mg/L) y TCS (325  $\mu\text{g/L}$ ).
4. La remoción de los nutrientes no se vio afectada por la presencia de BPA y TCS, la disminución de algunos parámetros se vio favorecida, por lo que el uso de consorcio microalgal en estudio puede ser usado para la remoción de nutrientes en presencia de contaminantes emergentes. El efecto que tienen los contaminantes emergentes en la capacidad que tienen las microalgas de tomar nutrientes presentes en agua residual, no ha sido ampliamente estudiado por otros autores. Una posible explicación, podría ser que la producción de clorofila no se vio afectada por la presencia de BPA y TCS; lo que permitió al consorcio microalgal continuar con las funciones metabólicas necesarias para seguir consumiendo los nutrientes del agua residual sintética.
5. Se determinó la contribución de las vías de remoción en la degradación de BPA y TCS, la biodegradación es la vía más importante para remover BPA, la cual contribuye con un porcentaje mayor al 40%. Para el TCS se observó que la fotodegradación (suma de directa e indirecta) contribuye a la remoción del 28.5% del TCS. Debido a la vía de remoción que más favorece la degradación de los contaminantes emergentes, se observó que el BPA es un contaminante emergente biodegradable, mientras el TCS presenta una mayor toxicidad debido a su baja biodegradabilidad. Esto se observó anteriormente cuando se determinó la  $EC_{50}$  correspondiente.

## 8 RECOMENDACIONES

Al cuantificar los contaminantes emergentes en las muestras de sorción, se observó que las microalgas tienen la capacidad de sorber tanto en el interior como en el exterior de la célula. Derivado de esto, se recomienda analizar el reúso seguro de la biomasa cultivada. La presencia de los contaminantes emergentes podría afectar el desempeño para su posterior uso como fertilizante. En el caso de las biomoléculas cuantificadas, se debe analizar si hay un efecto negativo en la estructura y cantidad de las biomoléculas. También se deben analizar los tratamientos necesarios para remover el contaminante emergente sorbido, para el mejor aprovechamiento de la biomasa.

En cuanto a la actividad estrogénica, es necesario determinarla para asegurar que el efluente tratado es seguro para su vertido al ambiente, sin importar si la remoción de los contaminantes emergentes sea cercana a 100%.

## 9 REFERENCIAS

1. Adeel, M., Song, X., Francis, D., y Yang, Y., (2017). *Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: a critical review*. Environmental international, p. 1 – 15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2016.12.010>
2. Agüera, A., Martínez Bueno, M.J. & Fernández-Alba, A.R., (2012) *New trends in the analytical determination of emerging contaminants and their transformation products in environmental waters*, Environ Sci Pollut Res. 20: 3496. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1586-0>
3. Ahmed M.B., Zhou J.L., Ngo H.H., Guo W., (2015). Adsorptive removal of antibiotics from water and wastewater: progress and challenges, Sci. Total Environ. 532, 112–126, <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.130>.
4. Ahmed, M.B., Zhou, J.L., Ngo, H.H., Guo, W., Thomaidis, N.S., y Xu, J. (2017) *Progress in the biological and chemical treatment technologies foremerging contaminant removal from wastewater: A critical review*. Journal of hazardous materials, vol. 323, p. 274 – 298
5. Allmyr, M., Adolfsson-Erici, M., McLachlan, M. S., y Sandborgh-Englund, G. (2006). Triclosan in plasma and milk from Swedish nursing mothers and their exposure via personal care products. The Science of the total environment, 372(1), 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.08.007>
6. Anumol T, Snyder SA (2015) Rapid analysis of trace organic compounds in water by automated online solid-phase extraction coupled to liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Talanta 132:77–86
7. APHA-AWWA-WPCF (1992). Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. 17a edición. Ed. Díaz Santos, España
8. Aryal N, Reinhold DM(2011) Phytoaccumulation of antimicrobials from biosolids: impacts on environmental fate and relevance to human exposure. Water Res 45:5545–5552
9. Aryal N, Reinhold D (2013) Phytoaccumulation of antimicrobials by hydroponic Cucurbita pepo. Int J Phytorem 15:330–342
10. Avila R., Peris A., Eljarrat E., Vicent T., Blánquez P., (2021). *Biodegradation of hydrophobic pesticides by microalgae: Transformation products and impact on algae biochemical methane potential*, Science of The Total Environment, Volume 754, 142114, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142114>
11. Azizullah, A., Khan, S., Gao, G., & Gao, K. (2022). The interplay between bisphenol A and algae—a review. *Journal of King Saud University-Science*, 102050. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102050>
12. Azzouz A, Rascón AJ, Ballesteros E (2016) Simultaneous determination of parabens, alkylphenols, phenylphenols, bisphenol A and triclosan in human urine, blood and breast milk by continuous solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. J Pharm Biomed Anal 119:16–26. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.11.024>
13. Baccar R., Sarr M., Bouzid J., Feki M., Blanquez P., (2012). Removal of pharmaceutical compounds by activated carbon prepared from agricultural by-product, Chem. Eng. J Volumes 211–212, 310–317
14. Barceló, Damiá y López, María J. (2007) *Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes*. En: Panel Científico- Técnico de seguimiento de la política de aguas. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC. Barcelona
15. Becerril J. (2009) *Contaminantes emergentes en el agua*. [en línea] Revista digital universitaria, 10 (8), 1 – 7 [abril 2019].
16. Becker, E.W., (1994). Measurement of algal growth. in: microalgae biotechnology and microbiology. Cambridge Studies in Biotechnology. Cambridge Press, New York, pp. 56–62.
17. Ben Ouada, S., Ben Ali, R., Leboulanger, C., Ben Ouada, H., & Sayadi, S. (2018). Effect of Bisphenol A on the extremophilic microalgal strain Picocystis sp. (Chlorophyta) and its high BPA removal ability. *Ecotoxicology and environmental safety*, 158, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.008>
18. Bi, R., Zeng, X., Mu, L., Hou, L., Liu, W., Li, P., Chen, H., Li, D., Bouchez, A., Tang, J., y Xie, L. (2018). *Sensitivities of seven algal species to triclosan, fluoxetine and their mixtures*. Scientific reports, 8(1), 15361. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33785-1>
19. Bilal, M., Rasheed, T., Sosa-Hernandez, J.E., Raza, Ali, Nabeel, F., y Iqbal, H.M.N. (2018) *Biosorption: An Interplay between Marine Algae and Potentially Toxic Elements—A Review*. Marine frugs, vol. 16, p. 1 – 16
20. Bittner, George & Denison, Michael & Yang, Chun & Stoner, Matthew & He, Guochun. (2014). Chemicals having estrogenic activity can be released from some bisphenol A-free, hard and clear, thermoplastic resins. Environmental health: a global access science source. 13. 103. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-13-103>
21. Bolong, N., Ismail, A.F., Salim, M.R., y Matsuura T. (2009) *A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal*. Desalination, vol. 239, p. 229 – 246
22. Calderón, A., Meraz, M. & Tomasini, A., (2019) *Pharmaceuticals Present in Urban and Hospital Wastewaters in Mexico City*. J. Water Chem. Technol. 41:105–112. <https://doi.org/10.3103/S1063455X19020073>
23. Cantonwine, D., Meeker, J. D., Hu, H., Sánchez, B. N., Lamadrid-Figueroa, H., Mercado-García, A., Fortenberry, G. Z., Calafat, A. M., & Téllez-Rojo, M. M. (2010). Bisphenol A exposure in Mexico City and risk of prematurity: a pilot nested case control study. Environmental health: a global access science source, 9, 62. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-9-62>

24. Cardoso da Silva, J. C., Reis Teodoro, J. A., Afonso, R. J., Aquino, S. F., y Augusti, R. (2014). *Photodegradation of bisphenol A in aqueous medium: monitoring and identification of by-products by liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry*. *Rapid communications in mass spectrometry*: RCM, 28(9), p. 987 – 994. <https://doi.org/10.1002/rcm.6863>
25. Careghini, A., Mastorgio, A. F., Saponaro, S., & Sezenna, E. (2015). Bisphenol A, nonylphenols, benzophenones, and benzotriazoles in soils, groundwater, surface water, sediments, and food: a review. *Environmental science and pollution research international*, 22(8), 5711–5741. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3974-5>
26. Carvalho, J.C.M., Matsudo, M.C., Bezerra, R.P., Ferreira-Camargo, L.S., y Sato S. (2014) *Microalgae bioreactors*. En: *Algal biorefineries Volume 1: Cultivation of cells and products*. Estados Unidos: Rakesh Bajpai, Ales Prokop, y Mark Zappi, p. 83 – 95
27. Caviedes, D. I., Delgado, D. R., y Olaya, A., (2017) *Normatividad ambiental dirigida a regular la presencia de los productos farmacéuticos residuales en ambientes acuáticos*. *Revista Jurídica Piélagus*, Vol. 16, 121 – 130
28. Céspedes, R., Petrovic, M., Raldúa, D., Saura, U., Piña, B., Lacorte, S., Viana, P., y Barceló, D. (2004). *Integrated Procedure for Determination of Endocrine-disrupting Activity in Surface Waters and Sediments by Use of The Biological Technique Recombinant Yeast Assay and Chemical Analysis by Lc-esi-ms*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 378 (3), p. 697 – 708.
29. Chang, H. S., Choo, K. H., Lee, B., & Choi, S. J. (2009). The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) in water. *Journal of hazardous materials*, 172(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.06.135>
30. Chaves, F. P., Gomes, G., Della-Flora, A., Dallegrove, A., Sirtori, C., Saggiaro, E. M., & Bila, D. M. (2020). Comparative endocrine disrupting compound removal from real wastewater by UV/Cl and UV/H2O2: Effect of pH, estrogenic activity, transformation products and toxicity. *The Science of the total environment*, 746, 141041. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141041>
31. Chávez A., Maya C., Gibson R., y Jiménez B., (2011) *The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during infiltration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, Mexico*, *Env. Pollut.*, 159, 1354 – 1362
32. Chávez-Mejía, A.C.; Navarro-González, I.; Magaña-López, R.; Uscanga-Roldán, D.; Zaragoza-Sánchez, P.I.; Jiménez-Cisneros, B.E., (2019). Presence and Natural Treatment of Organic Micropollutants and their Risks after 100 Years of Incidental Water Reuse in Agricultural Irrigation. *Water*, 11, 2148. <https://doi.org/10.3390/w11102148>
33. Chen, J. L., Ravindran, S., Swift, S., & Singhal, N. (2018). Changes in estrogenicity and micropollutant concentrations across unit processes in a biological wastewater treatment system. *Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research*, 77(5-6), 1673–1682. <https://doi.org/10.2166/wst.2018.047>
34. Chi GT, Churchley J, Huddersman KD (2013) Pilot-scale removal of trace steroid hormones and pharmaceuticals and personal care products from municipal wastewater using a heterogeneous fenton's catalytic process. *Int J Chem Eng Article ID 760915*. <https://doi.org/10.1155/2013/760915>
35. Cho, CW., Pham, T.P.T., Kim, S. *et al.* (2009) Toxicity assessment of common organic solvents using a biosensor based on algal photosynthetic activity measurement. *J Appl Phycol* 21, 683. <https://doi.org/10.1007/s10811-009-9401-5>
36. Ciniglia C, Cascone C, Giudice RL, Pinto G, Pollio A. Application of methods for assessing the geno- and cytotoxicity of Triclosan to *C. ehrenbergii*. *Journal of Hazardous Materials*. 2005 Jul;122(3):227-232. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.03.002>
37. Coimbra, R.N., Escapa, C., Vázquez, N.C., Noriega-Hevia, G., y Otero, M. (2018) *Utilization of Non-Living Microalgae Biomass from Two Different Strains for the Adsorptive Removal of Diclofenac from Water*. *Water*, vol. 10, p. 1 – 11
38. Corrales, J., Kristofco, L.A., Steele, W.B., Yates, B.S., Breed, C.S., Williams, E.S., Brooks, B.W., (2015). Global assessment of bisphenol A in the environment. *Dose-Response* 13,155932581559830. <https://doi.org/10.1177/1559325815598308>
39. Cortés Muñoz, J. y Calderón Mólgora, C. (2011). Potable Water Use from Aquifers Connected to Irrigation of Residual Water. En: *Water Resources in Mexico Scarcity, degradation, stress, conflicts, management, and policy*. México: Úrsula Oswald Spring, p.190.
40. Covaci A., Geens, T., Roosens, L., Ali, N., Van den Eede, N., Ionas, A.C., Malarvannan, G., y Dirtu A.C. (2012) Human exposure and health risks to emerging organic contaminants. En: *Emerging organic contaminants and human health*. España: Damia Barceló, p. 243 – 306
41. Cuellar-Bermudez, S.P., Aleman-Nava, G.S., Chandra, R., Garcia-Perez, J.S., Contreras-Angulo, J.R., Markou, G., Muylaert, K., Rittman, B.E., y Parra-Saldivar, R. (2017) *Nutrients utilization and contaminants removal. A review of two approaches of algae and cyanobacteria in wastewater*. *Algal research*, vol. 24, p. 438 – 449
42. Zhineng Dai, Z. Dai, Xing Luo, X. Luo, Aili Yang, A. Yang, Jinsong Wang, J. Wang, Haiyan Fu, H. Fu, & Yicheng Wu, Y. Wu. (0000). The Effects of Triclosan on Physiological and Photosynthetic Characteristics of *Chlorella vulgaris*. *Water*, 13, -. doi:<https://doi.org/10.3390/w13101355>
43. Dang, N.M., y Lee, K. (2018) *Recent trends of using alternative nutrient sources for microalgae cultivation as a feedstock of biodiesel production*. *Appl. Chem. Eng.*, vol. 29, p. 1 – 9
44. Dann, A. B., y Hontela, A., (2010). *Triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanisms of action*. *Journal of applied toxicology*, vol. 31, p. 285 – 311
45. De Boever P, Demare W, Vanderperren E, Cooreman K, Bossier P, y Verstraete W. (2001) *Optimization of a yeast*

- estrogen screen and its applicability to study the release of estrogenic isoflavones from a soygerm powder. *Environ Health Perspect*, vol. 109, p. 691 – 697
46. Dhillon, GS., Kaur, S., Pulicharla, R., Brar, SK., Cledón, M., Verma, M. y Surampalli, RY., (2015). *Triclosan: current status, occurrence, environmental risks and bioaccumulation potential*. *International journal environmental research public health*, vol. 12, p. 5657 – 5684
  47. Díaz, A., y Peña-Alvarez, A. (2017). A Simple Method for the Simultaneous Determination of Pharmaceuticals and Personal Care Products in River Sediment by Ultrasound-Assisted Extraction Followed by Solid-Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of chromatographic science*, 55(9), 946–953. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmx058>
  48. Díaz-Torres, E., Gibson, R., González-Farías, F., Zarco-Arista, A. E., Mazari-Hiriart, M., (2013). Endocrine Disruptors in the Xochimilco Wetland, Mexico City. *Water Air Soil Pollut* 224, 1586. <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1586-1>
  49. Ding, T., Lin, K., Yang, B., Yang, M., Li, J., Li, W., & Gan, J. (2017). Biodegradation of naproxen by freshwater algae *Cymbella* sp. and *Scenedesmus quadricauda* and the comparative toxicity. *Bioresource technology*, 238, 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.018>
  50. Ding, T., Lin, K., Yang, M., Bao, L., Li, J., Yang, B., Gan, J., 2018. Biodegradation of triclosan in diatom *Navicula* sp.: Kinetics, transformation products, toxicity evaluation and the effects of pH and potassium permanganate. *J Hazard Mater*, 344, 200-209. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.09.033>
  51. Dix-Cooper, L., y Kosatsky, T. (2019). Use of antibacterial toothpaste is associated with higher urinary triclosan concentrations in Asian immigrant women living in Vancouver, Canada. *The Science of the total environment*, 671, 897–904. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.379>
  52. Dodgen, L. K., Li, J., Parker, D., y Gan JJ., (2013). *Uptake and accumulation of four PPCP/EDCs in two leafy vegetables*. *Environmental pollution*, vol. 182, p. 150 – 156
  53. Durán-Álvarez, J. C., Prado, B., González, D., Sánchez, Y., & Jiménez-Cisneros, B. (2015). Environmental fate of naproxen, carbamazepine and triclosan in wastewater, surface water and wastewater irrigated soil - Results of laboratory scale experiments. *The Science of the total environment*, 538, 350–362. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.028>
  54. Eio, E.J., Kawai, M., Niwa, C., Ito, M., Yamamoto, S. y Toda, T. (2015) *Biodegradation of bisphenol A by an algal-bacterial system*. *Environ Sci Pollut Res*, vol. 22, p. 15145 – 15153
  55. EPA, (1997) <https://www.epa.gov/endocrine-disruption/what-endocrine-disruption> [consulta: abril 2019]
  56. EPA (2010) Emerging contaminants -Nanomaterials, [https://archive.epa.gov/region9/mediacenter/web/pdf/emergin\\_g\\_contaminant\\_nanomaterials.pdf](https://archive.epa.gov/region9/mediacenter/web/pdf/emergin_g_contaminant_nanomaterials.pdf) [consulta septiembre 2019]
  57. Erkurt, H. (2015). Biodegradation and Detoxification of BPA: Involving Laccase and a Mediator. *Clean-soil Air Water*, 43, 932-939.
  58. Esperanza, M., Seoane, M., Servia, M. J., & Cid, Á. (2020). Effects of Bisphenol A on the microalga *Chlamydomonas reinhardtii* and the clam *Corbicula fluminea*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 197, 110609. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110609>
  59. Esteban S, Gorga M, Petrovic M, González-Alonso S, Barceló D, Valcárcel Y (2014) Analysis and occurrence of endocrinedisrupting compounds and estrogenic activity in the surface waters of Central Spain. *Sci Total Environ* 466–467:939–951
  60. Estrada-Arriaga, E. B., Mijaylova-Nacheva, P., Moeller-Chavez, G., Mantilla-Morales, G., Ramírez-Salinas, N., & Sánchez-Zarza, M. (2013). Presencia y tratamiento de compuestos disruptores endócrinos en aguas residuales de la Ciudad de México empleando un biorreactor con membranas sumergidas. *Ingeniería, Investigación y Tecnología*, 14(2), 275–284. doi: [https://doi.org/10.1016/S1405-7743\(13\)72242-X](https://doi.org/10.1016/S1405-7743(13)72242-X)
  61. Estrada-Arriaga, E. B., Cortés-Muñoz, J. E., González-Herrera, A., Calderón-Mólgora, C. G., de Lourdes Rivera-Huerta, M., Ramírez-Camperos, E., Montellano-Palacios, L., Gelover-Santiago, S. L., Pérez-Castrejón, S., Cardoso-Vigueros, L., Martín-Domínguez, A., & García-Sánchez, L. (2016). Assessment of full-scale biological nutrient removal systems upgraded with physico-chemical processes for the removal of emerging pollutants present in wastewaters from Mexico. *The Science of the total environment*, 571, 1172–1182. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.118>
  62. Felix-Cañedo T., Durán-Álvarez J., y Jiménez-Cisneros B., (2013) *The occurrence and distribution of a group of organic micropollutants in Mexico city's water sources*. *Science of the Total Environment*, Vol. 454 – 455, 109 – 118
  63. Fent, K.; Weston, A. and Caminada, D. (2006) *Ecotoxicology of human pharmaceuticals*. *Aquat Toxicol*. Vol. 76. p.122-159
  64. Fu, W., Li, X., Yang, Y., & Song, D. (2023). Enhanced degradation of bisphenol A: Influence of optimization of removal, kinetic model studies, application of machine learning and microalgae-bacteria consortia. *The Science of the total environment*, 858(Pt 2), 159876. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159876>
  65. Gadd G. M. (2009) *Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment*. *J Chem Technol Biotechnol* 84(1):13–28
  66. Gao, Q.T., Wong, Y.S., y Tam, N.F.Y. (2011) *Removal and biodegradation of nonylphenol by different Chlorella species*. *Merine pollution bulletin*, vol. 63, p. 445 – 451
  67. Garcia-Rodríguez, A., Matamoros, V., Fontàs, C., y Salvadó, V. (2014) *The ability of biologically based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants— a review*. *Environ Scie Pollut Res*, vol. 21, p. 11708 – 11728
  68. Gattullo, C.E., Bährs, H., Steinberg, C.E.W., y Loffredo, E. (2012) *Removal of bisphenol A by the freshwater green alga Monoraphidium braunii and the role of natural organic matter*. *Science of the total environment*, vol. 416, p. 501 – 506

69. Geens T, Neels H, and Covaci A. 2012b. Distribution of bisphenol-A, triclosan and n-nonylphenol in human adipose tissue, liver and brain. *Chemosphere* 87:796-802
70. Genç N. and Dogan E.C., (2015) Adsorption kinetics of the antibiotic ciprofloxacin on bentonite, activated carbon, zeolite, and pumice, *Desalin. Water Treat.* 53, 785–793
71. Gibson, R., Becerril-Bravo E., Silva-Castro V. y Jiménez-Cisneros B., (2007) *Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and springs Waters by selective elution and análisis by gas chromatography-mass spectrometry.* *J. Chromatography A.*, 1169, 31 – 39
72. Gibson R, Durán-Álvarez J, León Estrada K, Chávez A, Jiménez Cisneros B (2010) Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico. *Chemosphere* 81:1437–1445
73. De Godos, I., Muñoz, R., y Guieysse. (2012) *Tetracycline removal during wastewater treatment in high-rate algal ponds.* *Journal of hazardous materials*, vol. 229 – 230, p. 446 – 449
74. Gondí, R., Kavitha, S., Kannah, R. Y., Karthikeyan, O. P., Kumar, G., Tyagi, V. K., & Banu, J. R. (2022). Algal-based system for removal of emerging pollutants from wastewater: A review. *Bioresource technology*, 344, 126245.
75. González-Balderas RM., Velásquez-Orta SB, Orta Ledesma MT. (2020a) *Biorefinery process intensification by ultrasound and ozone for phosphorus and biocompounds recovery from microalgae.* *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* (IF 3.731) Pub Date: 2020-05-24, <https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.107951>
76. González-Balderas RM.; Velásquez-Orta SB; Valdez-Vazquez I.; Orta Ledesma MT. (2020b). *Sequential pretreatment to recover carbohydrates and phosphorus from Desmodesmus sp. cultivated in municipal Wastewater.* *Water Science and Technology* 82 (6): p. 1237 – 1246. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.404>
77. González-Balderas, R.M., Felix, M., Bengoecha, C., Guerrero, A., Orta Ledesma, M.T., (2020c). Influence of mold temperature on the properties of wastewater-grown microalgae-based plastics processed by injection molding. *Algal research*, 51, 102055. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102055>
78. González, S., López-Roldán, R., y Cortiña J.L. (2012) *Presence and biological effects of emerging contaminants in Llobregat river basin: a review.* *Environ Pollut*, vol. 161, p. 83 – 92
79. Gorga M, Insa S, Petrovic M, Barceló D (2014) Analysis of endocrine disrupters and related compounds in sediment sand sewage sludge using on-line turbulent flow chromatography–liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1352:29–37
80. Gorga M, Insa S, Petrovic M, Barceló D (2015) Occurrence and spatial distribution of EDCs and related compounds in waters and sediments of Iberian rivers. *Sci Total Environ* 503–504: 69–86
81. Gross, M., Petrovic, M., y Barceló, D. (2008) Analysis of emerging contaminants of municipal and industrial origin. En: *Emerging contaminants from industrial and municipal waste, occurrence, análisis and effects.* Alemania: D. Barceló y M. Petrovic, p. 37 – 46
82. Guenther K, Heinke V, Thiele B, Kleist E, Prast H, Raecker T (2002) Endocrine disrupting nonylphenols are ubiquitous in food. *Environ Sci Technol* 36:1676–1680
83. Gupta A, Thakur IS. (2015) Biodegradation of wastewater organic contaminants using *Serratia* sp. ISTVKR1 isolated from sewage sludge. *Biochem Eng J*; 102:115-124.
84. Gupta, S., Shriwastav, A., Kumari, S., Ansari, F., Malik, A. y Bux, F. (2015). Phycoremediation of Emerging Contaminants. En: *Algae and Environmental Sustainability.* [en línea] Nueva Delhi, India: Bhaskar Singh, Kuldeep Bauddh, Faizal Bux, pp.129 - 132. Disponible en: <https://www.springer.com/gp/book/9788132226390> [Acceso 12 Sep. 2019].
85. Gyllenhammar I, Glynn A, Darnerud PO, Lignell S, van Delft R, Aune M (2012) 4-Nonylphenol and bisphenol A in Swedish food and exposure in Swedish nursing women. *Environ Int* 43:21–28
86. Habibi, A., Nematzadeh, G.A., Shariati, F.P., Amrei, H.D., Teymouri, A., 2019. Effect of light/dark cycle on nitrate and phosphate removal from synthetic wastewater based on BG11 medium by *Scenedesmus* sp. *3 Biotech*, 9, 150. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1679-7>
87. He, N., Sun, X., Zhong, Y., Sun, K., Liu, W., y Duan, S. (2016) *Removal and Biodegradation of Nonylphenol by Four Freshwater Microalgae.* *Int. J. Environ Res and Public health*, vol. 13, p. 1 – 14
88. Hebert A., Forestier D., Lenes D., Benanou D., Jacob S., Arfi C., Lambomez L., Levi Y. (2010). *Innovative method for prioritizing emerging disinfection byproducts (DBPs) in drinking water on the basis of their potential impact on public health.* *Water Research*. 2010. Vol. 44 p. 3147-3165.
89. Henríquez Villa, D., (2012) *Presencia de contaminantes emergentes en aguas y su impacto en el ecosistema. Estudio de caso: Productos farmacéuticos en la cuenca del río Biobío, Región del Biobío, Chile.* Tesis de maestría, Universidad de Chile, Chile
90. Hernández-García, A., Velásquez-Orta, S.B., Novelo, E., Yáñez-Noguez, I., Monje-Ramírez, I., Orta Ledesma, M.T., (2019). Wastewater-leachate treatment by microalgae: biomass, carbohydrate and lipid production. *Ecotox Environ. Safe* 174, 435–444. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.052>
91. Hernando M. D., Rodríguez A., Vaquero J. J., Fernández-Alba A. R., García E., (2011). *Environmental risk assessment of emerging pollutants in water: Approaches under horizontal and vertical EU legislation,* *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 41, 699-731.
92. Herrero, O., Pérez Martín J. M., Fernández Freire P., Carvajal López L., Peropadre A., Hazen M. J., (2012) *Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the Allium cepa test.* *Mutation Research*. Vol. 743. p. 20–24.

93. Hirooka, T., Nagase, H., Uchida, K., Hiroshige, Y., Ehara, Y., Nishikawa, J., Nishihara, T., Miyamoto, K., & Hirata, Z. (2005). Biodegradation of bisphenol A and disappearance of its estrogenic activity by the green alga *Chlorella fusca* var. *vacuolata*. *Environmental toxicology and chemistry*, 24(8), 1896–1901. <https://doi.org/10.1897/04-259r.1>
94. Hom-Díaz, A., Llorca, M., Rodríguez-Mozaz, S., Vicent, T., Barceló, D., y Blánquez, P. (2015) *Microalgae cultivation on wastewater digestate:  $\beta$ -estradiol and 17 $\alpha$ -ethynylestradiol degradation and transformation products identification*. *Journal of environmental management*, vol. 155, p. 106 – 113
95. Hou J., Pan B., Niu X., Chen J., Xing B., (2010) Sulfamethoxazole sorption by sediment fractions in comparison to pyrene and bisphenol A, *Environ. Pollut.* 158, 2826–2832
96. Hovander, L., Malmberg, T., Athanasiadou, M., Athanassiadis, I., Rahm, S., Bergman, A., & Wehler, E. K. (2002). Identification of hydroxylated PCB metabolites and other phenolic halogenated pollutants in human blood plasma. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 42(1), 105–117. <https://doi.org/10.1007/s002440010298>
97. Hu, J. Y., Aizawa, T., & Ookubo, S. (2002). Products of aqueous chlorination of bisphenol A and their estrogenic activity. *Environmental science & technology*, 36(9), 1980–1987. <https://doi.org/10.1021/es011177b>
98. Hu, J. Y., Xie, G. H., & Aizawa, T. (2002b). Products of aqueous chlorination of 4-nonylphenol and their estrogenic activity. *Environmental toxicology and chemistry*, 21(10), 2034–2039. <https://doi.org/10.1002/etc.5620211005>
99. Hu, T. F., Chen, S., Zhang, Q., & Hong, J. M. (2022). Efficiency and mechanism analysis of bisphenol A degradation by sulfur-doped graphene-catalyzed peroxydisulfate. *Applied Surface Science*, 572, 151429.
100. Huber, M. M., Ternes, T. A., & von Gunten, U. (2004). Removal of estrogenic activity and formation of oxidation products during ozonation of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol. *Environmental science & technology*, 38(19), 5177–5186. <https://doi.org/10.1021/es035205x>
101. Huo, W., Xia, W., Wu, C., Zhu, Y., Zhang, B., Wan, Y., Zhou, A., Qian, Z., Chen, Z., Jiang, Y., Liu, H., Hu, J., Xu, B., Xu, S., & Li, Y. (2018). Urinary level of triclosan in a population of Chinese pregnant women and its association with birth outcomes. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 233, 872–879. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.073>
102. Im, J., y Löffler, F. E. (2016). *Fate of Bisphenol A in Terrestrial and Aquatic Environments*. *Environmental science & technology*, 50(16), p. 8403 – 8416. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00877>
103. Ismail, B. P., y Nielsen, S.S. (2017) Basic principles of chromatography. En: *Food analysis*, 5<sup>a</sup> ed. Estados Unidos: s. Suzanne Nielsen, p. 185 – 211
104. Ji L., Wan Y., Zheng S., Zhu D., (2011) Adsorption of tetracycline and sulfamethoxazole on crop residue-derived ashes: Implication for the relative importance of black carbon to soil sorption, *Environ. Sci. Technol.* 45, 5580–5586.
105. Ji, M.K., Kabra, A.N., Choi, J., Hwang, J.H., Kim, J.R., Abou-Shanab, R.A.I., Oh, Y.K., y Jeon, B.H. (2014) *Biodegradation of bisphenol A by the freshwater microalgae Chlamydomonas mexicana and Chlorella vulgaris*. *Ecological engineering*, vol. 73, 260 – 269
106. Karnjanapiboonwong A, Suski JG, Shah AA, Cai Q, Morse AN, Anderson TA (2011) Occurrence of PPCPs at a wastewater treatment plant and in soil and groundwater at a land application site. *Water Air Soil Pollut* 216:257–273
107. Katsumata, H., Kawabe, S., Kaneco, S., Suzuki, T., & Ohta, K. (2004). Degradation of bisphenol A in water by the photo-Fenton reaction. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 162(2-3), 297-305.
108. Kitajima, M., Hatanaka, S. I., & Hayashi, S. (2006). Mechanism of O<sub>2</sub>-accelerated sonolysis of bisphenol A. *Ultrasonics*, 44, e371-e373.
109. Kokotou, M.G., Asimakopoulos A.G., y Thomaidis, N.S. (2012). *Artificial sweeteners as emerging pollutants in the environment: analytical methodologies and environmental impact*. *Analytical Methods*, vol. 2, p. 3057 – 3070
110. Kolpin, D. W., Furlong E. T., Meyer M. T., Thurman E. M., Zaugg S. D., Barber L. B., Buxton H.T. (2002) *Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: a national reconnaissance*. *Environmental Science and Technology*. Vol. 36. p.1202-1211
111. Konieczna, A., Rutkowska, A., & Rachoń, D. (2015). *Health risk of exposure to Bisphenol A (BPA)*. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 66 1, 5-11.
112. Koumaki, E., Mamais, D., Noutsopoulos, C., Nika, M-C., Betsou, A. A., Thomaidis, N. S., Eftaxias, A., Stratogianni, G. (2015) Degradation of emerging contaminants from water under natural sunlight: The effect of season, pH, humics acids and nitrate and identification of photodegradation by-products. *Chemosphere* 138, p. 675 – 681
113. Kümmerer, K. (2001) *Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources da review*. *Chemosphere*. Vol. 45. p. 957-969.
114. Kurade, M.B., Kim, J.R., Govindwar, S.P., y Jeon, B.H. (2016) *Insights into microalgae mediated biodegradation of diazinon by Chlorella vulgaris: Microalgal tolerance to xenobiotic pollutants and metabolism*. *Algal research*, vol. 20, p. 126 – 134
115. Larsen, C.W. T. (2018) *Mechanisms of Pharmaceutical and Personal Care Product Removal in Algae-Based Wastewater Treatment*. Tesis de maestría, Universidad de Toronto, p. 2 – 10
116. Lee, B.C., Jung, J.Y., y Kim, H.K. (2006) *Evaluation of estrogenic activity and measurement of EDCs in wastewater treatment plants*. *Journal of ocean university of China*, vol. 5, p. 351 – 356
117. Lee, Y., Escher, B. I., & Von Gunten, U. (2008). Efficient removal of estrogenic activity during oxidative treatment of waters containing steroid estrogens. *Environmental science & technology*, 42(17), 6333–6339. <https://doi.org/10.1021/es7023302>

118. Lee JD., Lee, JY., Kwack, SJ., Shin, CY., Jang, HJ., Kim, HY., Kim, MK., Seo, DW., Lee, BM., y Kim, KB., (2019). *Risk assessment of triclosán, a cosmetic preservative*. Toxicologic research, vol. 35, p. 137 – 154
119. Lei, M., Zhang, L., Lei, J., Zong, L., Li, J., Wu, Z., y Wang, Z., (2015) *Overview of emerging contaminants and associated human health effects*. BioMed Research International. Vol 2015, p. 1 – 12
120. Lesser, L.E., Mora, A., Moreau, C., Mahlkechek J., Hernández-Antonio, A., Ramírez A.I., y Barrios-Piña, h. (2018) *Survey of 218 organic contaminants in groundwater derived from the world's largest untreated wastewater irrigation system: Mezquital Valley, Mexico*. Chemosphere, vol. 198, p. 510 – 521
121. Li, C., Li, X. Z., Graham, N., & Gao, N. Y. (2008). The aqueous degradation of bisphenol A and steroid estrogens by ferrate. *Water Research*, 42(1-2), 109-120.
122. Li, X., Ying, G. G., Su, H. C., Yang, X. B., & Wang, L. (2010). Simultaneous determination and assessment of 4-nonylphenol, bisphenol A and triclosan in tap water, bottled water and baby bottles. *Environment international*, 36(6), 557–562. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.04.009>
123. Li Y, Zhang S, Song C, You J (2013c) Determination of Bisphenol A and Alkylphenols in Soft Drinks by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Food Anal Methods* 6:1284–1290
124. Li, L., Wang, Q., Zhang, Y., Niu, Y., Yao, X., y Liu, H., (2015). The molecular mechanism of bisphenol A (BPA) as an endocrine disruptor by interacting with nuclear receptors: insights from molecular dynamics (MD) simulations. *PLOS one*, 10(3):e0120330. doi:10.1371/journal.pone.0120330
125. Li, Man & Xu, Bi & Liungai, Zhiqi & Hu, Hong-Ying & Chen, Chao & Qiao, Juan & Lu, Yun. (2016). The removal of estrogenic activity with UV/chlorine technology and identification of novel estrogenic disinfection by-products. *Journal of Hazardous Materials*. 307. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.01.003>
126. Li, J., Wang, Y., Li, N., He, Y., Xiao, H., Fang, D., & Chen, C. (2022). Toxic Effects of Bisphenol A and Bisphenol S on *Chlorella Pyrenoidosa* under Single and Combined Action. *International journal of environmental research and public health*, 19(7), 4245. <https://doi.org/10.3390/ijerph19074245>
127. Lim S. (2020). The associations between personal care products use and urinary concentrations of phthalates, parabens, and triclosan in various age groups: The Korean National Environmental Health Survey Cycle 3 2015-2017. *The Science of the total environment*, 742, 140640. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140640>
128. Liu Z. H., Kanjo Y., Mizutani S., (2009) *Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewater treatment physical means, biodegradation and chemical advance oxidation: a review*. The science of the Total Environment, 407 (2), 731 – 748
129. Liu, A., Goonetilleke, A., Egodawatta, P., (2015). *Role of Rainfall and Catchment Characteristics on Urban Stormwater Quality*, Springer Singapore, Singapore <http://dx.doi.org/10.1007/978-981-287-459-7>.
130. Loos R, Locoro G, Comero S, Contini S, Schwesig D, Werres F, Balsaa P, Gans O, Weiss S, Blaha L, Bolchi M, Gawlik B (2010) Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water. *Water Res* 44:4115–4126
131. López-Rocha, C.J., Álvarez-Castillo, E., Yáñez, M.R., Bengoechea, C., Guerrero, A., y Ledesma, M.T. (2020). *Development of bioplastics from a microalgae consortium from wastewater*. *Journal of Environmental Management*. 263, 1-11 (IF 5.647) <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110353>
132. López-Serna, R., Posadas, E., García-Encina, P. A., & Muñoz, R. (2019). Removal of contaminants of emerging concern from urban wastewater in novel algal-bacterial photobioreactors. *The Science of the total environment*, 662: 32 – 40. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.206>
133. Lu J, Wu J, Stoffella PJ, Wilson PC (2013) Analysis of bisphenol A, nonylphenol, and natural estrogens in vegetables and fruits using gas chromatography–tandem mass spectrometry. *J Agr Food Chem* 61: 84–89
134. Luo Y, Guo W, Ngo HH, Nghiem LD, Hai FI, Zhang J, Liang S, Wang XC (2014) A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Sci Total Environ* 473–474:619–641
135. Luo, J., Zhang, Q., Cao, M., Wu, L., Cao, J., Fang, F., Li, C., Xue, Z., y Feng, Q. (2019). *Ecotoxicity and environmental fates of newly recognized contaminants-artificial sweeteners: a review*. *Scien of the Total Environment*, vol. 653, p. 1149 – 1160
136. Lyons, G. (2006). *Viewpoint: Policy requirements for protecting wildlife from endocrine disruptors*. *Environmental Health Perspectives*, vol. 114, p. 142 – 146
137. Ma, J.Z., Zhu C.Z., Lu J., Lei Y, Wang J.Z., Chen T.H, (2017). Photochemical reaction between triclosan and nitrous acid in the atmospheric aqueous environment, *Atmos. Environ.* 157 (2017) 38–48, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.03.011>
138. Ma, W., Wang, N., Fan, Y., Tong, T., Han, X., & Du, Y. (2018). Non-radical-dominated catalytic degradation of bisphenol A by ZIF-67 derived nitrogen-doped carbon nanotubes frameworks in the presence of peroxymonosulfate. *Chemical Engineering Journal*, 336, 721-731.
139. Machado, M. D., y Soares, E. V. (2021). Toxicological effects induced by the biocide triclosan on *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 230, 105706. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105706>
140. Macko, J. A., & Ishida, H. (2000). Behavior of a bisphenol-A-based polybenzoxazine exposed to ultraviolet radiation. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 38(20), 2687-2701.
141. Maclsaac JK, Gerona RR, Blanc PD, Apatira L, Friesen MW, Cop-polino M, Janssen S (2014) Health care worker exposures to the antibacterial agent triclosan. *J Occup Environ Med* 56:834–839

142. Maggioni S, Balaguer P, Chiozzotto C, Benfenati E (2013) Screening of endocrine-disrupting phenols, herbicides, steroid estrogens, and estrogenicity in drinking water from the waterworks of 35 Italian cities and from PET-bottled mineral water. *Environ Sci Pollut Res* 20:1649–1660
143. Martínez de Paz, P. J., (2014) *Evaluación de la actividad citotóxica y genotóxica del nonilfenol, triclosán y bisfenol-A en Chironomus riparius: identificación y caracterización de biomarcadores moleculares de ecotoxicidad*. Tesis de doctorado. Universidad Nacional de Educación a distancia (UNED)
144. Martínez-Zapata, M., Aristizabal, C., Penuela, G., 2013. Photodegradation of the endocrine-disrupting chemicals 4-nonylphenol and triclosan by simulated solar UV irradiation in aqueous solutions with Fe(III) and in the absence/presence of humic acids. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 251, 41–49.
145. Maryjoseph, S., y Ketheesan, B. (2020). Microalgae based wastewater treatment for the removal of emerging contaminants: A review of challenges and opportunities. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2020.100046>
146. Matamoros, V., Duhec, A., Albaigés, J., Bayona, J. M. (2008) *Photodegradation of carbamazepine, ibuprofen, ketoprofen and 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in fresh and seawater*. *Water Air Soil Pollut* 196:161 – 168
147. Matamoros V., Gutierrez R., Ferrer I., Garcia J., Bayona J. M. (2015) *Capability of microalgae-based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants: a pilotscale study*. *J Hazard Mater* 288:34–42
148. Matamoros, V. y Rodríguez, Y. (2016) *Batch vs continuous-feeding operational mode for the removal of pesticides from agricultural run-off by microalgae systems: A laboratory scale study*. *Journal of hazardous materials*, vol. 309, p. 126 – 132
149. Matamoros V., Uggetti E., García J, Bayona J. M., (2016) *Assessment of the mechanisms involved in the removal of emerging contaminants by microalgae from wastewater: a laboratory scale study*. *J Hazard Mater* 301:197–205
150. Mathews, S., Henderson, S., y Reinhold, D. (2014). Uptake and accumulation of antimicrobials, triclocarban and triclosan, by food crops in a hydroponic system. *Environmental science and pollution research international*, 21(9), 6025–6033. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2474-3>
151. McNair, H. y Miller, J. (2009). *Basic gas chromatography*. 2nd ed. Nueva Jersey, pp.104 – 120 y 157-169.
152. Melo-Guimarães, A., Torner-Morales, F.J., Durán-álvarez, J.C., y Jiménez-Cisneros B.E. (2013) *Removal and fate of emerging contaminants combining biological, flocculation and membrane treatments*. *Water science and technology*, vol. 67, p. 877 – 885
153. Melo SM, Brito MN (2014) Analysis and occurrence of endocrine disruptors in Brazilian water by HPLC-fluorescence detection. *Water Air Soil Pollut* 225:1783
154. Metcalf y Eddy, Inc. (1991) *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, and Reuse*. 3ra edición, McGraw-Hill, Inc., Singapore.
155. Miazek, K., & Brozek-Pluska, B. (2019). Effect of PHRs and PCPs on Microalgal Growth, Metabolism and Microalgae-Based Bioremediation Processes: A Review. *International journal of molecular sciences*, 20(10), 2492. <https://doi.org/10.3390/ijms20102492>
156. Míguez, L., Esperanza, M., Seoane, M., y Cid, Á. (2021). Assessment of cytotoxicity biomarkers on the microalga *Chlamydomonas reinhardtii* exposed to emerging and priority pollutants. *Ecotoxicology and environmental safety*, 208, 111646. <https://doi.org/10.1016>
157. Mohsenpour, S. F., Hennige, S., Willoughby, N., Adeloje, A., & Gutierrez, T. (2021). Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. *The Science of the total environment*, 752, 142168. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142168>
158. Montagner, C. C., Vidal, C., y Acabaya R. D., (2017) *Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios*. *Quim. Nova*, Vol. 40 (9), 1094 – 1110
159. Muhamad, M. S., Salim, M. R., Lau, W. L., Yusop, Z., (2016). A review on bisphenol A occurrences, health effects and treatment process via membrane technology for drinking water. *Environ Sci Pollut Res*, 23:11549–11567. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6357-2>
160. Munguía-López EM, Soto-Valdez H. (2001) Effect of heat processing and storage time on migration of Bisphenol A (BPA) and Bisphenol A-Diglycidyl Ether (BADGE) to aqueous food simulant from Mexican can coatings. *J Agric Food Chem*. 49:3666-71. <https://doi.org/10.1021/jf0009044>
161. Munguia-Lopez, E. M., Peralta, E., Gonzalez-Leon, A., Vargas-Requena, C., & Soto-Valdez, H. (2002). Migration of bisphenol A (BPA) from epoxy can coatings to jalapeño peppers and an acid food simulant. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(25), 7299–7302. <https://doi.org/10.1021/jf0257502>
162. Muñoz, C. J. E. (2012). Contaminantes emergentes: aspectos químicos microbiológicos y de salud. En: *Contaminantes emergentes: su importancia, retos y perspectivas sobre la medición, el tratamiento y la reglamentación*. Jiutepec, México: G. Moeller y G. Buelna. p. 19 – 27.
163. Mutou, Y., Ibuki, Y., Terao, Y., Kojima, S., & Goto, R. (2006). Change of estrogenic activity and release of chloride ion in chlorinated bisphenol A after exposure to ultraviolet B. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 29(10), 2116–2119. <https://doi.org/10.1248/bpb.29.2116>
164. Neamțu, M., & Frimmel, F. H. (2006). Degradation of endocrine disrupting bisphenol A by 254 nm irradiation in different water matrices and effect on yeast cells. *Water research*, 40(20), 3745–3750. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.08.019>
165. Nguyen H.T., Yoon Y., Ngo H.H., Jang A. (2020). The application of microalgae in removing organic micropollutants in wastewater. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1753633>
166. Nikolaou A., (2013) *Pharmaceuticals and related compounds as emerging pollutants in water: analytical aspects*, Glob. Nest

- J. 15, 1–12, [http://journal.gnest.org/sites/default/files/JournalPapers/1-12\\_969\\_Nikolaou\\_15-1.pdf](http://journal.gnest.org/sites/default/files/JournalPapers/1-12_969_Nikolaou_15-1.pdf)
167. NOM-001-SEMARNAT-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales [en línea], abril 2019, de Gobierno de la República, Sitio web: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/105139/Normas\\_Oficiales\\_Mexicanas.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/105139/Normas_Oficiales_Mexicanas.pdf)
168. NOM-002-SEMARNAT-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. [en línea], abril 2019, de Gobierno de la República, Sitio web: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/105139/Normas\\_Oficiales\\_Mexicanas.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/105139/Normas_Oficiales_Mexicanas.pdf)
169. NOM-003-SEMARNAT-1997, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público. [en línea], abril 2019, de gobierno de la república, sitio web: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/105139/Normas\\_Oficiales\\_Mexicanas.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/105139/Normas_Oficiales_Mexicanas.pdf)
170. NOM-014-CONAGUA-2003, Requisitos para la recarga artificial de acuíferos con agua residual tratada. [en línea], abril 2019, de Comisión Nacional del Agua, Sitio web: <http://www.conagua.gob.mx/conagua07/contenido/documentos/NOM-014-CONAGUA-2003.pdf>
171. NOM-127-SSA1-1994 (2000) *Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización*, abril 2019, de Secretaría de Salud, Sitio web: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/m127ssa14.html>
172. Noonan GO, Ackerman LK, Begley TH (2011) Concentration of bisphenol A in highly consumed canned foods on the U.S. market. *J Agr Food Chem* 59:7178–7185
173. Norvill, Z.N., Shilton, A., y Guieysse, B. (2016) *Emerging contaminant degradation and removal in algal wastewater treatment ponds: Identifying the research gaps*. *Journal of hazardous materials*, vol. 313, p. 291 – 309
174. Olaniyan, L. W., Mkwetshana, N., y Okoh, A. I. (2016). Triclosan in water, implications for human and environmental health. *SpringerPlus*, 5(1), 1639. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3287-x>
175. Omoruyi, I.M., Ahamioje, D., Pohjanvirta, R., 2014. Dietary exposure of Nigerians to mutagens and estrogen-like chemicals. *Int. J. Res. Public Health* 11 (8), 8347e8367.
176. Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD). (2006). *Freshwater algae and cyanobacteria, growth inhibition test. Guideline 201*. Paris, France.
177. Orata, F. (2012). *Derivatization Reactions and Reagents for Gas Chromatography Analysis*, *Advanced Gas Chromatography - Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications*, Mustafa Ali Mohd, IntechOpen, <https://doi.org/10.5772/33098>. Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/advanced-gas-chromatography-progress-in-agricultural-biomedical-and-industrial-applications/derivatization-reactions-and-reagents-for-gas-chromatography-analysis>
178. Orta Ledesma de Velasquez, M.T., Aguirre-Londoño J., y Yáñez-Noguez, I. (2019) *Assessing the Estrogenic Activity of EDCs and Human Risks of Groundwater after Ozonation and Chlorination*. *Ozone: science and technology*, doi: <https://doi.org/10.1080/01919512.2019.1653753>
179. Orvos DR, Versteeg DJ, Inauen J, Capdevielle M, Rothenstein A, Cunningham V. (2002). *Aquatic toxicity of triclosan*. *Environ Toxicol Chem* 21:1338–1349.
180. Padhye LP, Yao H, Francis T, Kung'u FT, Huang CH (2014) Year-long evaluation on the occurrence and fate of pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disrupting chemicals in an urban drinking water treatment plant. *Water Res* 51(15):266–276
181. Padovan, R. N., Xavier, C., Azevedo, E. B., Carvalho, L. S. de, Santos Neto, A. J. dos, Lanças, F. M., *et al.* (2021). Degradation of hormones in tap water by heterogeneous solar TiO<sub>2</sub>-photocatalysis: Optimization, degradation products identification, and estrogenic activity removal. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 106442. doi:10.1016/j.jece.2021.106442
182. Pal, A., Yew-HoongGin K., Yu-ChenLinb A., Reinhard M. (2010) *Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: review of recent occurrences, sources, fate and effects*. *Sci Total Environ*. Vol. 408. p. 6062–6069.
183. Palardé, E., Hom-Díaz, A., Blánquez, P., Martínez-Alonso, M., Vicent, T., y Gaju, N. (2018) *Effect of cultivation conditions on b-estradiol removal in laboratory and pilot-plant photobioreactors by an algal-bacterial consortium treating urban wastewater*. *Water research*, vol. 137, p. 86 – 96
184. Pannu, M.W., Toor, G.S., O'Connor, G.A., Wilson, P.C., 2012. Toxicity and bioaccumulation of biosolids-borne triclosan in food crops. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 2130–2137. <https://doi.org/10.1002/etc.1930>
185. Parkinson D.R. (2014) *Analytical Derivatization Techniques*. In: Reedijk, J. (Ed.) Elsevier Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Waltham, MA: Elsevier. 18-Dec-14, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.11454-4>
186. Peña-Álvarez, A., y castillo-Alanís, A. (2017) *Identificación y cuantificación de contaminantes emergentes en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM)*. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 18, p. 29 – 42
187. Pereira. L.C., Oliveira de Souza, A., Franco Bernardes, M.F., Pazin, M., Tasso, M.J., Pereira, P.H., y Junqueira Dorta, D. (2015) *A perspective on the potential risks of emerging contaminants to human and environmental health*. *Environ Sci Pollut Res*, Vol. 22, p. 13800 – 13823
188. Pérez, F., Llorca, M., Farré, M., y Barceló, D. (2012) Perfluorinated compounds in drinking water, Food and human

- samples. En: Emerging organic contaminants and human health. España: Damia Barceló, p. 364 – 368
189. Petrovic, M., Eljarrat, E., Lopez de Alda, M.J., y Barceló, D. (2004) *Endocrine disrupting compounds and other emerging contaminants in the environment: A survey on new monitoring strategies and occurrence data*. Anal Bioanal Chem, vol. 378, p. 549 – 562
190. Pintado-Herrera MG, González-Mazo E, Lara-Martín PA (2014) Atmospheric pressure gas chromatography–time-of-flight–mass spectrometry (APGC–ToF–MS) for the determination of regulated and emerging contaminants in aqueous samples after stir bar sorptive extraction (SBSE). Anal Chim Acta 851:1–13
191. Pirard, C., Sagot, C., Deville, M., Dubois, N., & Charlier, C. (2012). Urinary levels of bisphenol A, triclosan and 4-nonylphenol in a general Belgian population. Environment international, 48: 78–83. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.07.003>
192. Qian, M.C., Peterson, D.G., y Reineccius, G.A. (2017). Gas chromatography. En: Food analysis, 5ª ed. Estados Unidos: S. Suzanne Nielsen, p. 227 – 233
193. Ramírez-Sánchez, I.M., Martínez-Austria, P., Quiroz-Alfaro, M.A., y Bandala, E.R. (2015) *Efectos de los estrógenos como contaminantes emergentes en la salud y el ambiente*. Tecnología y Ciencias del Agua. Vol. VI, p. 31 – 42
194. Rawat, I., Gupta, S.K., Shriwastav, A., Singh, P., Kumari, S., y Bux, F. (2016). Microalgae applications in wastewater treatment. En: Algae biotechnology, products and processes. Suiza: Faizal Bux y Yusuf Chisti, p. 256 – 257
195. Reed, E., (2016). *The impact of endocrine-disrupting chemicals on wildlife conservation*. Tesis de licenciatura, p. 12 – 21
196. Reinoso Carrasco, J.C., Serrano Delgado, C.Y., Orellana Cobos, D.F. (2017) *Contaminantes emergentes y su impacto en la salud*. Revista de la facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Cuenca. Vol. 35, p. 55 – 59
197. Rempel, A.W., Nadal Biolchi, G., Farezin Antunes, A.C., Gutkoski, J.P., Treichel, H., Colla, L.M., 2021. Cultivation of microalgae in media added of emergent pollutants and effect on growth, chemical composition, and use of biomass to enzymatic hydrolysis. Bioenerg Res, 14, 265-277. <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10177-w>
198. Richardson S. D., y Postigo, C. (2012) Drinking water disinfection by-products. En: Emerging organic contaminants and human health. España: Damia Barceló, p. 93 – 127
199. Richardson S.D., (2012). *Environmental Mass Spectrometry: Emerging Contaminants and Current Issues*, Anal. Chem., vol. 84, p747 – 778
200. Richardson S. D., and Ternes T. A., (2017) *Water analysis: emerging contaminants and current issues*, Anal. Chem. Vol. 86, p. 2813 – 2848
201. Rivera-Utrilla, J., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M.A., Prados-Joya, G., y Ocampo-Pérez, R. (2013) *Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review*. Chemosphere, vol. 93, p. 1268 – 1287
202. Rocha Díaz de León, G.R. (2017) *Remoción de nonilfenol y bisfenol-A mediante ozonización en el efluente de ultrafiltración por membrana de la planta de tratamiento de agua residual Cerro del Agua, Ciudad de México, México*. Tesis de licenciatura, UNAM, México, 114 páginas.
203. Roda, A., Mirasoli, M., Michelini, E., Magliulo, M., Simoni, P., Guardigli, M., Curini, R., Sergi, M., y Marino, A., (2006). *Analytical approach for monitoring endocrinedisrupting compounds in urban waste water treatment plants*. Anal. Bioanal. Chem. Vol. 385, p742 – 752
204. Rodríguez-Mozaz, S., Marco, M.P., Lopez de Alda, M.J. y Barceló D. (2004) *Biosensors for environmental monitoring of endocrine disruptors: a review article*. Anal Bioanal Chem, vol. 378, p. 588 – 598
205. Rodríguez-Narvaez, O.M., Peralta-Hernández, J.M., Goonetilleke, A., y Bandala, E.R. (2017) *Treatment technologies for emerging contaminants in water: A review*. Chemical engineering journal, vol. 323, p. 361 – 380
206. Romano Mozo D. (2012). Disruptores endocrinos, nuevas respuestas para nuevos retos. España: Instituto Sindical de Trabajo, Ambiente y Salud (ISTAS), p. 3 – 18. Disponible en línea: [http://www.istas.ccoo.es/descargas/disruptores\\_endocrinos\\_final.pdf](http://www.istas.ccoo.es/descargas/disruptores_endocrinos_final.pdf) [consulta septiembre 2019]
207. Ronderos-Lara, J.G.; Saldarriaga-Noreña, H.; Murillo-Tovar, M.A.; Vergara-Sánchez, J., (2018) Optimization and Application of a GC-MS Method for the Determination of Endocrine Disruptor Compounds in Natural Water. Separations, 5, 33. <https://doi.org/10.3390/separations5020033>
208. Rosenfeldt, E. J., Chen, P. J., Kullman, S., & Linden, K. G. (2007). Destruction of estrogenic activity in water using UV advanced oxidation. The Science of the total environment, 377(1), 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.096>
209. Routledge E.J., y Sumpter J.P. (1996) *Estrogenic Activity of Surfactants and Some of Their Degradation Products Assessed Using a Recombinant Yeast Screen*. Environ Toxicol Chem vol. 15, p. 241 – 248.
210. Rovani, S., Santos, J. J., Guilhen, S. N., Corio, P., & Fungaro, D. A. (2020). Fast, efficient and clean adsorption of bisphenol-A using renewable mesoporous silica nanoparticles from sugarcane waste ash. RSC advances, 10(46), 27706-27712.
211. Rüdél H, Böhmer W, Müller M, Fliedner A, Ricking M, Teubner D, Schröter- Kermani C (2013) Retrospective study of triclosan and methyl-triclosan residues in fish and suspended particulate matter: results from the German Environmental Specimen Bank. Chemosphere 91(11):1517–1524
212. Saggiaro, Enrico & Chaves, Fernanda & Felix, Louise & Gomes, Giselle & Bila, Daniele. (2019). Endocrine Disruptor Degradation by UV/Chlorine and the Impact of Their Removal on Estrogenic Activity and Toxicity. International Journal of Photoenergy. 2019. 1-9. <https://doi.org/10.1155/2019/7408763>
213. Sander, R., (2015). *Compilation of Henry's law constants (versión 4.0) for water as solvent*. Atmospheric Chemistry and Physics, vol. 15, p. 4399 – 4981

214. Sanseverino J., Gupta R.K., Layton A.C., Patterson S.S., Ripp S.A., Saidak L., Simpson, M.L., Schultz, T.W., y Sayler G.S. (2005) *Use of Saccharomyces cerevisiae BLYES Expressing Bacterial Bioluminescence for Rapid, Sensitive Detection of Estrogenic Compounds*. Appl Environ Microbiol, vol. 71, p. 4455 – 4460
215. Sanseverino J., Eldridge M.L., Layton A.C., Easter J.P., Yarbrough J., Schultz T.W., y Sayler, G.S. (2009). *Screening of potentially hormonally active chemicals using bioluminescent yeast bioreporters*. Toxicol Sci, vol. 107, p. 122 – 134.
216. Santaefemia, S., Torres, E., y Abalde, J. (2018) *Biosorption of ibuprofen from aqueous solution using living and dead biomass of the microalga Phaeodactylum tricornutum*. J Appl Phycol, vol. 30, p. 471 – 482
217. Schug, T.T., Janesick, A., Blumberg B., y Heindel J.J. (2011). *Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility*. Journal of steroid biochemistry and molecular biology, vol. 127, p. 204 – 215
218. Shammas, N.K. (2007). Endocrine disruptors. Properties, effects, and removal process. En: Advanced physicochemical treatment technologies. Estados Unidos: Lawrence K. Wang, Yung-Tse Hung y Nazih K. Shammas, p. 496 – 498
219. Shareef, A., Angove, M. J., Wells, J. D., y Johnson B. B., (2006). *Aqueous solubility of estrone, 17 $\beta$ -estradiol, 17 $\alpha$ -ethynylestradiol, and bisphenol A*. Journal of chemical engineering, vol. 51, p. 879 – 881
220. Shen JY, Chang MS, Yang SH, Wu GJ (2012) Simultaneous and rapid determination of triclosan, triclocarban and their four related transformation products in water samples using SPME–HPLC–DAD. J Liq Chromatogr Relat Technol 35(16):2280–2293
221. Shimoda K, Yamamoto R, Hamada H (2011) *Bioremediation of bisphenol A by glycosylation with immobilized marine microalga Amphidinium crassum—bioremediation of bisphenol A by immobilized cells*. Adv Chem Eng Sci 1: p. 90 – 95, <https://doi.org/10.4137/ehi.s2758>
222. da Silva, J. C., Reis Teodoro, J. A., Afonso, R. J., Aquino, S. F., & Augusti, R. (2014). Photodegradation of bisphenol A in aqueous medium: monitoring and identification of by-products by liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. Rapid communications in mass spectrometry : RCM, 28(9), 987–994. <https://doi.org/10.1002/rcm.6863>
223. Silva, L.G.R., Costa, E.P., Starling, M.C.V.M. et al., (2021). LED irradiated photo-Fenton for the removal of estrogenic activity and endocrine disruptors from wastewater treatment plant effluent. Environ Sci Pollut Res 28, 24067–24078 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12359-1>
224. Smith, J.S. y Thakur, R.A. (2017). Mass spectrometry. En: Food analysis, 5<sup>a</sup> ed. Estados Unidos: S. Suzanne Nielsen, p.165 – 168
225. Solá-Gutiérrez C, Schröder S, San-Román MF, Ortiz I. (2020) *Critical review on the mechanistic photolytic and photocatalytic degradation of triclosan*. Journal of Environmental Management. Apr; 260:110101. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110101>
226. Sorensen JPR, Lapworth DJ, Nkhuwa DCW, Stuart ME, Goody DC, Bell RA, Chirwa M, Kabika J, Liemisa M, Chibesa M, Pedley S (2015) Emerging contaminants in urban groundwater sources in Africa. Water Res 72:51–63
227. Staples C, Friederich U, Hall T, Klecka G, Mihaich E, Ortego L, Caspers N, Hentges S (2010) Estimating potential risks to terrestrial invertebrates and plants exposed to bisphenol A in soil amended with activated sludge biosolids. Environ Toxicol Chem 29(2):467–475
228. Stewart M, Olsena G, Hickey WC, Ferreira B, Jelić A, Petrović M, Barcelo D (2014) A survey of emerging contaminants in the estuarine receiving environment around Auckland, New Zealand. Sci Total Environ 468–469:202–210
229. Stuart, M., Lapworth D., Crane E., Hart A., (2012) *Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater*. Science of the Total Environment. Vol. 416. p. 1 – 21
230. Sun C, Leong LP, Barlow PJ, Chan SH, Bloodworth BC (2006) Single laboratory validation of a method for the determination of bisphenol a, bisphenol A diglycidyl ether and its derivatives in canned foods by reversed-phase liquid chromatography. J Chromatogr A 1129: 145–148
231. Sun, Q., Deng, S., Huang, J., & Yu, G. (2008) Relationship between Oxidation Products and Estrogenic Activity during Ozonation of 4-Nonylphenol, Ozone: Science & Engineering, 30:2, 120-126, <https://doi.org/10.1080/01919510701861276>
232. Suyamud, B., Inthorn, D., Panyapinyopol, B., & Thiravetyan, P. (2018). Biodegradation of bisphenol A by a newly isolated Bacillus megaterium strain ISO-2 from a polycarbonate industrial wastewater. Water, Air, & Soil Pollution, 229, 1-12.
233. Tecuapa Flores, E.D. (2018) *Evaluación de la actividad estrogénica de disruptores endocrinos presentes en agua y su remoción mediante ozono, utilizando la metodología de BLYES*. Tesis de maestría, UNAM, México, 102 páginas.
234. Tejada C., Quiñonez E., y Peña M. (2014) *Contaminantes emergentes en aguas: Metabolitos de fármacos. Una revision*. Facultad de Ciencias Básicas. Vol 10. P. 80 – 101
235. Teoh, M., Sanusi, N.S., Wong, C., & Beardall, J. (2020). Effects of the sunscreen ultraviolet filter, oxybenzone, on green microalgae.
236. Tišler T, Krel A, Gerželj U, Dolenc MS, Pintar A., (2016). *Hazard identification and risk characterization of bisphenols A, F and AF to aquatic organisms*. Environmental. 212, p. 472 – 479. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.02.045>
237. Tolboom, S.N., Carrillo-Nieves, D., Rostro-Alanis, M. de J., de la Cruz Quiroz, R., Barceló, D., Iqbal, H.M.N., y Parra-Saldivar, R. (2019) *Algal-based removal strategies for hazardous contaminants from the environment – A review*. Science of the total environment, vol. 665, p. 358 – 366
238. Toledo-Cervantes, A., Morales, M., Novelo, E., y Revah, S. (2013). Carbon dioxide fixation and lipid storage by Scenedesmus obtusiusculus. Bioresource technology, 130, 652–658. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.081>

239. Troisi J, Mikelson C, Richards S, Symes S, Adair D, Zullo F, and Guida M. 2014. Placental concentrations of bisphenol A and birth weight from births in the Southeastern US. *Placenta* 35:947-952
240. Uzun, H., Ibanoglu, E., Catal, H., Ibanoglu, S., (2012). Effects of ozone on functional properties of proteins. *Food Chem.* 134, 647–654. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.146>
241. Vulliet, E. and Cren-Olivé, C. (2011) *Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption.* *Environmental Pollution.* Vol. 159. p. 2929-2934
242. Wagner M., y Oehlmann J. (2009) *Endocrine disruptors in bottled mineral water: total estrogenic burden and migration from plastic bottles.* *Environ Sci Pollut Res Int*, vol. 16, p. 278 – 286.
243. Wang, Y., y Zhou, J., (2013). *Endocrine disrupting chemicals in aquatic environments: A potential reason for organism extinction?* *Aquatic Ecosystem Health & Management*, vol 16, p. 88 – 93
244. Wang, S., Wang, X., Poon, K., Wang, Y., Li, S., Liu, H., Lin, S., y Cai, Z. (2013). *Removal and reductive dechlorination of triclosan by Chlorella pyrenoidosa.* *Chemosphere*, 92(11), p. 1498 – 1505. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.03.067>
245. Wang, R., Diao, P., Chen, Q., Wu, H., Xu, N., y Duan, S. (2017). *Identification of novel pathways for biodegradation of bisphenol A by the green alga Desmodesmus sp. WRI, combined with mechanistic analysis at the transcriptome level.* *Chemical Engineering Journal*, 321, p. 424 – 431.
246. Wang, Y., Liu, J., Kang, D., Wu, C., y Wu, Y. (2017) *Removal of pharmaceuticals and personal care products from wastewater using algae-based technologies: a review.* *Rev Environ Sci Biotechnol*, vol. 16, p. 717 – 735
247. Wang, Y., Roddick, F. A., Fan, L. (2017) Direct and indirect photolysis of seven micropollutants in secondary effluent from a wastewater lagoon. *Chemosphere* vol. 185, p. 297 – 308
248. Wang, S., Poon, K., y Cai, Z. (2018). *Removal and metabolism of triclosan by three different microalgal species in aquatic environment.* *Journal of hazardous materials*, 342, p. 643 – 650. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.09.004>
249. Wang, L., Xiao, H., He, N., Sun, D., y Duan, S. (2019) *Biosorption and Biodegradation of the Environmental Hormone Nonylphenol By Four Marine Microalgae.* *Scientific reports*, vol. 9, p. 1 – 11
250. Wang, X. D., Lu, Y. C., Xiong, X. H., Yuan, Y., Lu, L. X., Liu, Y. J., Mao, J. H., & Xiao, W. W. (2020). Toxicological responses, bioaccumulation, and metabolic fate of triclosan in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental science and pollution research international*, 27(10), 11246–11259. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07704-9>
251. Watanabe, N.; Bergamaschi B. A., Loftin K. A., Meyer M. T., Harter, T., (2010) *Use and environmental occurrence of antibiotics in freestall dairy farms with manure forage fields.* *Environmental Science and Technology.* Vol. 44. p. 6591-6600.
252. Weatherly, L. M., & Gosse, J. A. (2017). *Triclosan exposure, transformation, and human health effects.* *Journal of toxicology and environmental health. Part B, Critical reviews*, 20(8), p. 447 – 469. <https://doi.org/10.1080/10937404.2017.1399306>
253. Wirasnita, R., Hadibarata, T., Yusoff, A. R. M., y Yusop, Z., (2014) Removal of bisphenol A from aqueous solution by activated carbón derived from oil palm empty fruit bunch. *Water air soli pollution*, 225:2148. DOI 10.1007/s11270-014-2148-x
254. Wright-Walters, M., Volz, C., Talbott, E., y Davis, D. (2011). *An updated weight of evidence approach to the aquatic hazard assessment of Bisphenol A and the derivation a new predicted no effect concentration (Pnec) using a non-parametric methodology.* *The Science of the total environment*, 409(4), p. 676 – 685. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.07.092>
255. Wu M, Wang L, Xu G, Liu N, Tang L, Zheng J, Bu T, Lei B (2013) Seasonal and spatial distribution of 4-tert-octylphenol, 4-nonylphenol and bisphenol A in the Huangpu River and its tributaries, Shanghai, China. *Environ Monit Assess* 185:3149–3161
256. Wu, X.; Dodgen, L. K.; Conkle, J. L.; Gan, J., (2015) Plant uptake of pharmaceutical and personal care products from recycled water and biosolids: a review. *Science of Total Environment*, 536: 655 – 666. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.129>
257. Wu, P. H., Yeh, H. Y., Chou, P. H., Hsiao, W. W., & Yu, C. P. (2021). Algal extracellular organic matter mediated photocatalytic degradation of estrogens. *Ecotoxicology and environmental safety*, 209, 111818. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111818>
258. Xiang, R., Shi, J., Yu, Y., Zhang, H., Dong, C., Yang, Y., y Wu, Z. (2018). *The Effect of Bisphenol A on Growth, Morphology, Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzyme Activity, and PS II in Cylindrospermopsis raciborskii and Scenedesmus quadricauda.* *Archives of environmental contamination and toxicology*, 74(4), p. 515 – 526. <https://doi.org/10.1007/s00244-017-0454-1>
259. Xie, L., Thrippleton, K., Irwing, M.A., Siemering, S., Mekebri, A., Crane, D., Berry, K., y Schlenk, D. (2005) *Evaluation of estrogenic activities of aquatic herbicides and surfactants using an rainbow trout Vitellogenin assay.* *Toxicological Sciences*, vol. 87, p. 91 – 398
260. Xie, P., Ho, S. H., Peng, J., Xu, X. J., Chen, C., Zhang, Z. F., Lee, D. J., y Ren, N. Q. (2019). *Dual purpose microalgae-based biorefinery for treating pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) residues and biodiesel production.* *The Science of the total environment*, 688, p. 253 – 261. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.062>
261. Xiong J. Q., Kurade M. B., Abou-Shanab R. A. I., Ji M.-K., Choi J., Kim J. O., Jeon B. H., (2016) *Biodegradation of carbamazepine using freshwater microalgae Chlamydomonas mexicana and Scenedesmus obliquus and the determination of its metabolic fate.* *Bioresour Technol* 205:183–190

262. Xiong J. Q., Kurade M. B., Kim, J.R., Roh, H.S., y Jeon, B.H. (2017) *Ciprofloxacin toxicity and its co-metabolic removal by a freshwater microalga Chlamydomonas mexicana*. Journal of hazardous materials, vol. 323, p. 212 – 219
263. Xiong J. Q., Kurade M. B., Patil, D.V., Jang, M., y Paeng, K.J. (2017) *Biodegradation and metabolic fate of levofloxacin via a freshwater green alga, Scenedesmus obliquus in synthetic saline wastewater*. Algal research, vol. 25, p. 54 – 61
264. Xiong J. Q., Kurade M. B., y Jeon, B.H. (2018) Can Microalgae Remove Pharmaceutical Contaminants from Water? Trends in biotechnology, vol. 36, p. 30 – 44
265. Xiong, J. Q., Govindwar, S., Kurade, M. B., Paeng, K. J., Roh, H. S., Khan, M. A., & Jeon, B. H. (2019). Toxicity of sulfamethazine and sulfamethoxazole and their removal by a green microalga, Scenedesmus obliquus. Chemosphere, 218, 551–558. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.146>
266. Xu EGB, Liu S, Ying GG, Zheng GJS, Lee JHW, Leung MYK (2014) The occurrence and ecological risks of endocrine disrupting chemicals in sewage effluents from three different sewage treatment plants, and in natural seawater from a marine reserve of Hong Kong. Mar Pollut Bull 85:352–362
267. Xue J, Wu Q, Sakthivel S, Pavithran PV, Vasukutty JR, Kannan K (2015) Urinary levels of endocrine-disrupting chemicals, including bisphenols, bisphenol A diglycidyl ethers, benzophenones, parabens, and triclosan in obese and non-obese Indian children. Environ Res 137:120–128. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.12.007>
268. Yang GCC, Yena CH, Wang CL (2014) Monitoring and removal of residual phthalate esters and pharmaceuticals in the drinking water of Kaohsiung City, Taiwan. J Hazard Mater 277:53–61
269. Ye, C., Hu, K., Niu, Z., Lu, Y., Zhang, L., & Yan, K. (2019). Controllable synthesis of rhombohedral  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> efficient for photocatalytic degradation of bisphenol A. Journal of water process engineering, 27, 205-210
270. Yoo HS, Ahn KH, Lee HJ, Lee KH, Kwak YJ, (1999). Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. Water Research, 33:1, p. 145 – 154
271. Yoon Y, Ryu J, Oh J, Choi BG, Snyder SA (2010) Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seoul, South Korea). Sci Total Environ 408:636–643
272. Zdzarta, Jakub & Nguyen, Luong & Jankowska, Katarzyna & Jesionowski, Teofil & Nghiem, Long. (2021). A contemporary review of enzymatic applications in the remediation of emerging estrogenic compounds. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 52. 1-30. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1889283>
273. Zheng H., Wang Z., Zhao J., Herbert S., Xing B., (2013) Sorption of antibiotic sulfamethoxazole varies with biochars produced at different temperatures, Environ. Pollut. 181:60–67
274. Zhang, W., Li, Y., Su, Y., Mao, K., & Wang, Q. (2012). Effect of water composition on TiO<sub>2</sub> photocatalytic removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) and estrogenic activity from secondary effluent. Journal of hazardous materials, 215-216, 252–258. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.02.060>
275. Zhang Y, Habteselassie MY, Resurreccion EP, Mantripragada V, Peng S, Bauer S, Colosi LM (2014) Evaluating removal of steroid estrogens by a model alga as a possible sustainability benefit of hypothetical integrated algae cultivation and wastewater treatment systems. ACS Sustain Chem Eng 2:2544–2553. <https://doi.org/10.1021/sc5004538>
276. Zhang Y, Meng W, Zhang Y (2014) Occurrence and partitioning of phenolic endocrine-disrupting chemicals (EDCs) between Surface water and suspended particulate matter in the North Tai Lake Basin, Eastern China. Bull Environ Contam Toxicol 92:148–153
277. Zhang, Z., Ruan, Z., Liu, J., Liu, C., Zhang, F., Linhardt, R. J., & Li, L. (2019). Complete degradation of bisphenol A and nonylphenol by a composite of biogenic manganese oxides and Escherichia coli cells with surface-displayed multicopper oxidase CotA. Chemical Engineering Journal, 362, 897-908.
278. Zhou, G.J., Peng, F.Q., Yang, B.Y., y Ying, G.G. (2013) *Cellular responses and bioremoval of nonylphenol and octylphenol in the fresh water green microalga Scenedesmus obliquus*. Ecotoxicology and environmental safety, vol. 87, p. 10 – 16
279. Zhou, G.J., Ying, G.G., Liu, S., Zhou, L.J., Chen, Z.F., y Peng, F.Q. (2014) *Simultaneous removal of inorganic and organic compounds in wastewater by freshwater green microalgae*. Environmental science process and impacts, vol. 16, p. 2018 – 2027
280. Zhou, J. L., Yang, L., Huang, K. X., Chen, D. Z., & Gao, F. (2022). Mechanisms and application of microalgae on removing emerging contaminants from wastewater: A review. Bioresource technology, 364, 128049. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128049>
281. Zúñiga-Carrasco, I. R., y Lozano, J. C., (2017). Controversia por el uso de triclosán en los productos antibacteriales de uso común. Revista Latinoamericana de Infectología Pediátrica, Volumen 30, Número 3, pp. 93 – 96

## 10 PRODUCTOS DERIVADOS DEL PROYECTO

Ecotoxicology and Environmental Safety 262 (2023) 115117



Contents lists available at ScienceDirect

Ecotoxicology and Environmental Safety

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ecoenv](http://www.elsevier.com/locate/ecoenv)

## Microalgal consortium tolerance to bisphenol A and triclosan in wastewater and their effects on growth, biomolecule content and nutrient removal

Karina Atengueño-Reyes<sup>a</sup>, Sharon B. Velasquez-Orta<sup>b</sup>, Isaura Yáñez-Noguez<sup>a</sup>,  
Ignacio Monje-Ramirez<sup>a</sup>, Petia Mijaylova-Nacheva<sup>c</sup>, Alma Chávez-Mejía<sup>a</sup>,  
MaríaTeresa Orta Ledesma<sup>a,\*</sup><sup>a</sup> Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Alcaldía Coyoacán, CP 04510 Ciudad de México, Mexico<sup>b</sup> School of Chemical Engineering and Advanced Materials, Merz Court, Newcastle University, Newcastle upon Tyne NE1 7RU, UK<sup>c</sup> Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Paseo Cuauhnahuac 8532, Progreso, Jiutepec, Morelos 62550, Mexico

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Bisphenol A  
Triclosan (TCS)  
Microalgae  
Biomolecules  
Wastewater  
EC<sub>50</sub>-96 h

## ABSTRACT

Amongst the many treatments available for the removal of emerging contaminants in wastewater, microalgal cultures have been shown to be effective. However, the effectiveness of exposure of a native microalgal consortium to emerging contaminants such as bisphenol-A (BPA) and triclosan (TCS) to determine the half-maximum effective concentrations (EC<sub>50</sub>) has not yet been determined. The effect on growth and nutrient removal of such a treatment as well as on the production of biomolecules such as carbohydrates, lipids, and proteins are, at present, unknown. In this study, the EC<sub>50</sub> of BPA and TCS (96-hour experiments) was determined using a consortium of native microalgae (*Scenedesmus obliquus* and *Desmodesmus* sp.) to define the maximum tolerance to these contaminants. The effect of BPA and TCS in synthetic wastewater (SWW) was investigated in terms of microalgal growth, chlorophyll a (*Chl-a*), carbohydrate, lipid, and protein content, as well as nutrient removal. Assays were performed in heterotrophic conditions (12/12 light/dark cycles). EC<sub>50</sub>-96 h values of 17 mg/L and 325 µg/L for BPA and TCS, respectively, were found at 72 h. For an initial microalgal inoculum of ≈ 300 mg TSS/L (total suspended solids per litre), growth increased by 16.1% when exposed to BPA and 17.78% for TCS. At ≈ 500 mg TSS/L, growth increased by 8.25% with BPA and 9.92% with TCS, respectively. At the EC<sub>50</sub>-96 h concentrations determined in the study, BPA and TCS did not limit the growth of microalgae in wastewater. Moreover, they were found to stimulate the content of *Chl-a*, carbohydrates, lipids, proteins, and enhance nutrient removal.

*Availability of data and material:* Data sharing not applicable to this article as no datasets were generated or analysed during the present study.

## 1. Introduction

Emerging contaminants can be persistent and difficult to remove in wastewater using conventional treatments. Wastewater treatment using photosynthetic microorganisms, such as microalgae, has grown in use due to the production of high-quality effluents and the potential recovery of microalgae biomass for use as biofuels, fertilisers and protein-rich raw materials (Matamoros et al., 2015). The major advantage of microalgae-based treatment systems is that they reduce treatment costs through biomass valorisation, while providing effective wastewater remediation. However, their real-world application in the presence of emerging contaminants has been discussed very little (Maryjoseph and

Ketheesan, 2020). For effective treatment and biomass valorisation, the tolerance (or toxic effect) of microalgae to emerging contaminants such as bisphenol A (BPA) and triclosan (TCS) must be estimated. The maximum effective average concentration (EC<sub>50</sub>) parameter is a statistical estimate of the concentration (or dose) of an environmental toxicant that produces a specific effect in 50% of the population under certain conditions (Rozman et al., 2010). EC<sub>50</sub> values for single cultures of different microalgae species have been found to range from 0.039 to more than 75 mg/L BPA and from 2.8 to 1637 µg/L TCS (Orvos et al., 2002; Li et al., 2009; Ji et al., 2014; Ebenezer and Ki, 2016; Tisler et al., 2016; Li et al., 2017; Bi et al., 2018; Ding et al., 2018; Xiang et al., 2018; Esperanza et al., 2020; Wang et al., 2020; Machado and Soares et al.,

\* Corresponding author.

E-mail address: [MOrtaL@ingen.unam.mx](mailto:MOrtaL@ingen.unam.mx) (M. Orta Ledesma).<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115117>

Received 9 March 2023; Received in revised form 2 June 2023; Accepted 5 June 2023

Available online 12 June 2023

0147-6513/© 2023 The Authors. Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

2021). An EC<sub>50</sub> value of 19.6 mg/L has been reported for *Desmodesmus subspicatus* exposed to BPA (Tisler et al., 2016), but no EC<sub>50</sub> data were found for TCS. For *Scenedesmus quadricauda* and *Scenedesmus obliquus*, EC<sub>50</sub> values of 13.233 mg/L and 33.9 mg/L BPA were found (Li et al., 2017; Xiang et al., 2018). For the same species (*S. quadricauda* and *S. obliquus*) exposed to TCS, EC<sub>50</sub> values of 325 µg/L and 187.5 µg/L were determined (Bi et al., 2018). But, specifically, for a consortium of indigenous microalgae (*Scenedesmus obliquus* and *Desmodesmus* sp.), which are the predominant species in wastewater, no information was found. The presence of BPA and TCS in microalgae-based treatment systems has therefore demonstrated contrasting results. Under certain culture conditions, BPA and TCS can limit or increase biomass, biomolecule or chlorophyll production and nutrient uptake from wastewater (Xin et al., 2018; Dai et al., 2021; Míguez et al., 2021; Azizullah et al., 2022; Li et al., 2022). Inhibition of growth caused by different emerging contaminants has been observed; both BPA and TCS affect growth by up to 80% in synthetic media of microalgae such as *Desmodesmus* sp., *S. quadricauda*, *S. obliquus*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella vulgaris* (Li et al., 2017; Wang et al., 2017; Wang et al., 2018; Xiang et al., 2018; Wang et al., 2020; Machado and Soares, 2021; Dai et al., 2021). Chlorophyll is a primary indicator of photosynthetic activity in microalgae, and is a sensitive biomarker when microalgae are exposed to a toxic compound (Kurade et al., 2016). Both BPA and TCS have been reported to cause increased but also decreased chlorophyll content in microalgae including the following species: *C. reinhardtii*, *Picocystis*, *Chlamydomonas mexicana*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Desmodesmus* sp. and *C. vulgaris* (Wang et al., 2017; Ben Ouada et al., 2018; Wang et al., 2020; Dai et al., 2021; Míguez et al., 2021; Machado and Soares, 2021; Azizullah et al., 2022). Experiments using emerging contaminants other than BPA and TCS have shown that *S. obliquus* chlorophyll content may be reduced (Wan et al., 2022). Chlorophyll behaviour studies are needed for consortia of microalgae exposed to BPA and TCS. However, it has also been reported that different species of microalgae growing in wastewater contaminated with emerging contaminants develop mechanisms to maintain their normal metabolism. These mechanisms include changes in the concentration of biomolecules: carbohydrates, lipids and proteins. This could affect their ability to capture sunlight (Xiang et al., 2018; Teoh et al., 2020; Dai et al., 2021; Rempel et al., 2021; Azizullah et al., 2022; Ricky et al., 2022). However, the effect of BPA and TCS on the concentration of precursor biomolecules of beneficial products has not been described for consortia of microalgae. This study provides information on the tolerance of a consortium of indigenous microalgae (*S. obliquus* and *Desmodesmus* sp.) that are predominant in wastewater to BPA and TCS. The effect of both emerging contaminants on growth, chlorophyll a (*Chl-a*), biomolecule content (carbohydrates, lipids and proteins) and nutrient removal in synthetic wastewater (SWW) was investigated, with the aim of applying this knowledge to wastewater treatment and the utilisation of biomass.

## 2. Materials and methods

This research employed a microalgal consortium with a predominance of *Desmodesmus* sp. and *S. obliquus*. To determine the tolerance of this microalgal consortium to BPA and TCS, the median effective concentration (EC<sub>50-96 h</sub>) was determined. Microalgae were grown in synthetic wastewater with the estimated dose of BPA and TCS that produced a negative effect on 50% of the population. Under these conditions, the effect on microalgal growth, *Chl-a* content, biomolecule content and nutrient removal was evaluated.

### 2.1. Reagents

The reagents used for the assays were analytical grade BPA ≥ 99% (Sigma Aldrich 239658-50 G), TCS analytical grade (Sigma Aldrich PHR-1338-1 G) and HPLC grade methanol ≥ 99.9% (Sigma Aldrich

34860-1 L). The reagents used for the preparation of synthetic wastewater and determination of *Chl-a*, carbohydrate, lipid, proteins and nutrient removal were analytical grade.

### 2.2. Microalgal consortium and culture conditions

The microalgal consortium was composed of *S. obliquus* and *Desmodesmus* sp. as the predominant species, and included other microalgae such as: *Desmodesmus intermedius*, *Desmodesmus magnus*, *Desmodesmus communis* and *Desmodesmus opoliensis*. This consortium was previously identified and reported by Hernández-García et al. (2019). Experiments were carried out at laboratory scale, and microalgae were acclimatized to SWW. The composition of SWW was based on a modified BG-11 medium recipe used by Habibi et al. (2019), for dairy wastewater with the following composition (mg/L): NaNO<sub>3</sub>, 42; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 48; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 75; CaCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, 36; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 20; citric acid, 6; EDTA, 1. Trace metals: H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 2.86; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 1.81; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.222; NaMoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.39; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0.079; Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.049; glucose, 0.09, with the addition of 40 mg/L NH<sub>4</sub>Cl, for ammoniacal nitrogen content.

### 2.3. EC<sub>50-96 h</sub> tolerance tests

To investigate the mean effective concentration of BPA and TCS in the microalgal consortium, EC<sub>50-96 h</sub> assays were performed following method 201 of the Organisation for Economic Co-operation and Development guidelines (OECD, 2006). Initially, the consortium of microalgae was acclimatized for three days in OECD 201 medium. Once the cultures were acclimatized, they were exposed to BPA concentrations of 0, 5, 10, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25 mg/L, and to concentrations of 0, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450 µg/L of TCS. Control experiments (without the presence of BPA or TCS) were also carried out. Both BPA and TCS were prepared using methanol as the carrier solvent at a concentration of 0.01% (v/v) as recommended by the OECD 201 guideline. To verify the no observed effect concentration (NOEC) of methanol on the growth of the microalgal consortium, assays and analysis of variance were performed. In both NOEC and blank-EC<sub>50-96 h</sub> experiments, it was observed that there was no significant inhibition of cell growth ( $P < 0.05$ , ANOVA). A volume of 150 mL of OECD 201 culture medium was inoculated with an initial microalgal cell density of  $\approx 10^4$  cells/mL. Cultures were subjected to a constant light intensity of 100 µmol/m<sup>2</sup>s (cool white light), with constant shaking at 150 rpm at room temperature. The assay time was 96 h. Biomass growth measurements were performed daily by cell counting using a Neubauer chamber (Blaubrand, Germany, 0.0025 mm<sup>2</sup>, 0.001 mm depth) under a Carl Zeiss Microscopy Axio Lab.A1 optical microscope (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Germany) with 40x objective.

### 2.4. Effect of bisphenol-A (BPA) and triclosan (TCS) on biomolecules content and nutrient removal

The EC<sub>50-96 h</sub> values (effective concentration that caused 50% growth inhibition) for *Desmodesmus* sp. and *S. obliquus* microalgae were 17 mg/L and 325 µg/L for BPA and TCS, respectively. These values were used to evaluate the effect of both emerging compounds on growth, *Chl-a*, biomolecule content and nutrient removal. For this purpose, experiments were established at two different initial concentrations of inoculum. The tests used  $\approx 300$  or  $\approx 500$  mgTSS/L of initial inoculum to determine whether the concentration of the cultures had an influence on the effect of BPA and TCS. For each, a control experiment free of BPA or TCS was also carried out. The microalgal consortium was grown in 600 mL of SWW, under a light/dark cycle 12/12 h with light intensity of 100 µmol/m<sup>2</sup>s (cool white light), constant agitation of 150 rpm, at room temperature with an experimental duration of 15 days (hydraulic retention time, HRT). Control experiments were performed under the same conditions as described above, without the presence of BPA and TCS. Each experiment was performed in triplicate.

### 2.5. Sampling for analysis

Aliquots of 100 mL were taken from each experiment on days 0, 3, 7, 10, 13 and 15, and stored at 4 °C in the dark prior to analysis. Biomass was analysed for microalgal growth, *Chl-a* and biomolecule content, using unfiltered samples. To evaluate nutrient removal in the cultures, samples were filtered using a 1.6 µm pore size GF/A glass microfiber filter (Whatman, cat. 1820-055).

#### 2.5.1. Biomass analysis

Microalgal growth (biomass concentration) was determined in terms of the TSS parameter, which is expressed as mgTSS/L. In addition, the content of *Chl-a*, carbohydrates, lipids and proteins in the recovered biomass as well as cell density were evaluated. TSS was determined by method 2540 D (standard method) from biomass that was oven-dried at 103 °C. Cell density was calculated indirectly from TSS content and a standard curve was created by plotting TSS versus cell density (Eq. 1):

$$\text{cells/mL} = 11667\text{TSS} - 237452; R^2 = 0.984 \quad (1)$$

*Chl-a* content was quantified by methanol 90% extraction in accordance with methodology described by Toledo-Cervantes et al. (2013). Absorbance was measured at 650, 665 and 750 nm. A turbidity correction was made for the absorbances at 650 and 665 nm by subtracting the absorbances at 750 nm. Eq. 2 was used to calculate *Chl-a* content (Eq. 2) (Becker, 1994), where the units of concentration of chlorophyll are µg/mL:

$$\text{Chlorophyll } a = \text{Chl} - a = 16.5A_{665} - 8.3A_{650} \quad (2)$$

Where,  $A_{665}$ : absorbance measure at 665 nm;  $A_{650}$ : absorbance measure at 650 nm.

Lipid content was quantified by the colorimetric sulfo-phosphovanillin method, carbohydrates by the colorimetric phenol-sulphuric acid method (Hernández-García et al., 2019) and proteins by the Biuret method (Uzun et al., 2012). To quantify carbohydrates, lipids and proteins, calibration curves were constructed according to the linear equation (Eqs. 3–5):

$$\text{Carbohydrates} \left( \text{mg/L} = \frac{\text{Abs} - 0.2322}{0.0095}; R^2 = 0.9927 \right) \quad (3)$$

$$\text{Lipids} \left( \text{mg/L} = \frac{\text{Abs} + 0.0569}{0.0047}; R^2 = 0.9974 \right) \quad (4)$$

$$\text{Proteins} \left( \text{mg/L} = \frac{\text{Abs} - 0.0692}{0.00005}; R^2 = 0.9719 \right) \quad (5)$$

Where, Abs= Absorbance.

#### 2.5.2. Nutrient removal

To evaluate nutrient removal, physicochemical parameters determined in the SWW were:  $\text{NO}_3^-$  (method 325.1 EPA, 1971), soluble COD (method 5220 D),  $\text{PO}_4^{3-}$  (method 4500 P-D),  $\text{N-NH}_3$  (method 4500-NH<sub>3</sub> C) and alkalinity (method 2320B) (American Public Health Association, 2023). Calibration curves were constructed according to the linear equation to measure the physicochemical parameters:

$$\text{Orthophosphates} (\text{mg } \text{PO}_4^{3-} / \text{L} = 0.9163\text{Abs} - 0.2824; R^2 = 0.9889) \quad (6)$$

$$\text{Nitrates} (\text{mg } \text{NO}_3^- / \text{L} = 1.6929\text{Abs} + 0.8892; R^2 = 0.9943) \quad (7)$$

$$\text{COD} (\text{mg } \text{COD} / \text{L} = 2464.8\text{Abs} - 3.0686; R^2 = 0.9985) \quad (8)$$

Where, Abs= Absorbance.

### 2.6. Statistical analysis

Graphs were produced using Microsoft Excel Professional Plus 2016, and analysis of variance (ANOVA) and Tukey tests were carried out using R Studio 4.1.2 software. ANOVA test analyses were made for  $\text{EC}_{50-96}$  h determination, nutrient removal and biomolecule content.

## 3. Results and discussion

### 3.1. $\text{EC}_{50-96}$ h test

A wide range of  $\text{EC}_{50}$  values (0.039 mg/L to >75 mg/L) for BPA and different genera of microalgae grown on synthetic media and individually have been published (Table 1). The  $\text{EC}_{50-96}$  h values obtained in the present study, for the microalgal consortium grown in synthetic wastewater, are within the range previously reported. The indigenous microalgal consortium with a predominance of *S. obliquus* and *Desmodesmus* sp. showed an  $\text{EC}_{50}$  value of 17 mg/L of BPA at 72 h of exposure (Table 1, Fig. 1). These results agree with those published for the same genera of microalgae in single cultures. For example,  $\text{EC}_{50-96}$  h values of 33.9 mg/L BPA have been reported for *S. obliquus*; 13.23 mg/L for *S. quadricauda*; and 19.6 mg/L for *D. subspicatus* (Li et al., 2017; Xiang et al., 2018; Tisler et al., 2016).

$\text{EC}_{50-96}$  h values found for TCS are shown in Fig. 2. The growth inhibitory effect on the microalgal consortium for TCS was reached after 72 h at a concentration of 325 µg/L. Bi et al. (2018) report a lower  $\text{EC}_{50-96}$  h (187.5 µg/L) for *S. obliquus* with a higher cell density and longer exposition time ( $5 \times 10^4$  cells/mL at 96 h). A possible explanation for the difference of exposure time with respect to the present study, and therefore purity of culture, could be due to the cell density in each experiment (in the present study microalgal cell density was  $1.08 \times 10^4$  cells/mL). Perhaps at higher cell density the microalgae show more resistance to TCS stress, and therefore longer exposure time is required. Another type of microalgae, such as *C. reinhardtii* a unicellular alga, is reported to have a high tolerance to TCS, 1637 µg/L, 72 h (Wang et al., 2020).

### 3.2. Effect BPA and TCS on biomass and biomolecules

The effect of BPA and TCS on performance of the microalgal consortium was evaluated. Table 2 shows results of microalgal biomass growth (as TSS), *Chl-a*, carbohydrate, lipid and protein content, respectively, at 15 days of culture with respect to the control experiment (without BPA and TCS, respectively). The variations of the measured parameters can be seen in Fig. 3.

#### 3.2.1. Microalgal growth

With regard to the growth of the consortium of microalgae in synthetic wastewater in the presence of BPA ( $\text{EC}_{50-72}$  h; 17 mg/L), the results show significant increases of 16.10% and 8.25% for inoculum of  $\approx 300$  mg TSS/L ( $3.33 \times 10^6$  cells/mL) and  $\approx 500$  mg TSS/L ( $6.21 \times 10^6$  cells/mL), respectively (Fig. 3). A similar effect was obtained in the case of TCS ( $\text{EC}_{50-72}$  h; 325 µg/L), with increases of 17.78% and 9.92%, compared to the control. The results obtained with the consortium of microalgae formed by *S. obliquus* and *Desmodesmus* sp. contrast with those reported for microalgae of similar genera studied individually. Xiang et al. (2018) reported inhibition of the growth of the microalga *S. quadricauda* ( $2.13 \times 10^6$  cells/mL) at high BPA concentrations between 1 and 10 mg/L. Wang et al. (2018), reported that *Desmodesmus* sp. ( $1.0 \times 10^7$  cells/mL) showed 47.7% growth inhibition with 400 µg/L TCS after the first day of exposure. Differences in culture conditions (light intensity and agitation) could be the reason for the contrast in the results obtained and reported.

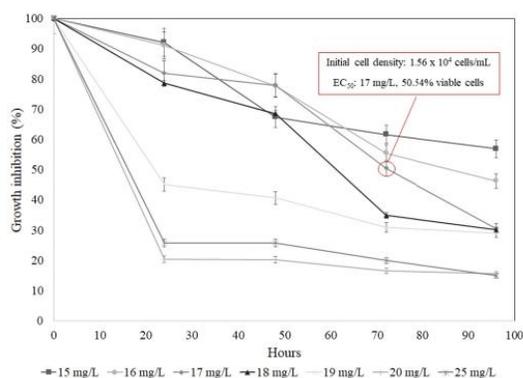
#### 3.2.2. Chlorophyll a content

Chlorophyll is a primary indicator of photosynthetic activity in

**Table 1**  
EC<sub>50</sub>-96 h reported for BPA and TCS with different microalgae species.

Concentration	Microalgae species	Microalgae concentration	Media culture	EC <sub>50</sub> value	Ref.
<b>Bisphenol-A</b>					
0.01 – 9 mg/L	<i>S. hantzschii</i>	1.3 × 10 <sup>4</sup> cells/mL	Artificial sea water	8.65 mg/L, 96 h	Li et al. (2009)
10 – 50 mg/L	<i>C. reinhardtii</i>	2.5 × 10 <sup>5</sup> cells/mL	Minimum tris phosphate	30 mg/L, 96 h	Esperanza et al. (2020)
7 – 42 mg/L	<i>D. subspicatus</i>	10 <sup>4</sup> cells/mL	NS	19.6 mg/L, 72 h	Tisler et al. (2016)
0.1 – 20 mg/L	<i>S. quadricauda</i>	2.13 × 10 <sup>6</sup> cells/mL	MA medium	13.233 mg/L, 96 h	Xiang et al. (2018)
0.05 – 20 mg/L	<i>Ditylum brightwellii</i>	3.25 × 10 <sup>5</sup> cells/mL	f/2 medium	0.039 mg/L, 72 h	Ebenezer and Ki (2016)
0.5 – 100 mg/L	<i>Tetraselmis suecica</i>	5.50 × 10 <sup>5</sup> cells/mL		15.55 mg/L, 72 h	
1 – 50 mg/L	<i>C. mexicana</i>	OD <sub>600</sub> = 1.0	Bold basal	44.8 mg/L, 120 h	Ji et al. (2014)
	<i>C. vulgaris</i>			39.8 mg/L, 120 h	
1 – 50 mg/L	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	NS	Sterile OECD 201	44.9 mg/L, 96 h	Li et al. (2017)
	<i>S. obliquus</i>			33.9 mg/L, 96 h	
0.1 – 500 mg/L	<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	2.25 × 10 <sup>4</sup> cells/mL	f/2 medium	68.15 mg/L, 72 h	Ebenezer and Ki (2012)
1 – 75 mg/L	<i>Gracielata sp.</i>	OD <sub>600</sub> = 0.07	Bold basal	19.5 mg/L, 96 h	Ben Ouda et al., 2018
	<i>Picocystis sp.</i>		Zarrouk	> 75 mg/L, 96 h	
5 – 25 mg/L	<i>Desmodesmus</i> spp and <i>S. obliquus</i> consortium	1.54 × 10 <sup>4</sup> cells/mL	OECD 201	17 mg/L, 72 h	This study
<b>Triclosan</b>					
0–2000 µg/L	<i>S. quadricauda</i>	5 × 10 <sup>4</sup> cells/mL	OECD 201	325 µg/L, 96 h	Bi et al. (2018)
	<i>S. obliquus</i>			187.5 µg/L, 96 h	
0.6 – 10 µg/L	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	10 <sup>4</sup> cells/mL	OECD 201	2.8 µg/L, 96 h;	Orvos et al. (2002)
27, 37 µg/L	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	10 <sup>4</sup> cells/mL	OECD 201	27 µg/L, 72 h	Machado and Soares (2021)
				37 µg/L, 72 h	
0.5 – 4 mg/L	<i>C. reinhardtii</i>	OD <sub>750</sub> ≈ 0.6	Tris-acetate-phosphate (TAP)	1637 µg/L, 72 h	Wang et al. (2020)
0 – 800 µg/L	<i>Navicula sp.</i>	1 mg/L	D1 medium	145.6 µg/L, 72 h	Ding et al. (2018)
300–450 µg/L	<i>Desmodesmus</i> spp and <i>S. obliquus</i> consortium	1.08 × 10 <sup>4</sup> cells/mL	OECD 201	325 µg/L, 72 h	This study

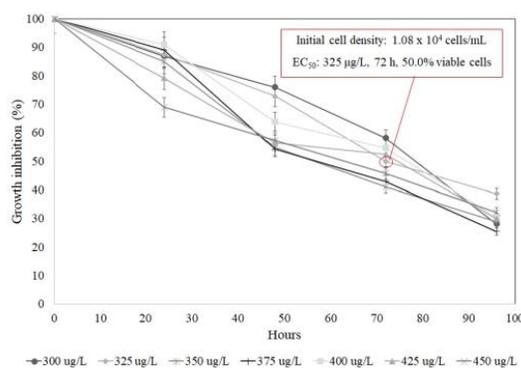
NS: not specified



**Fig. 1.** Growth inhibition of the *Desmodesmus* spp. and *S. obliquus* microalgal consortium in the presence of BPA, to allow determination of EC<sub>50</sub>-96 h for BPA.

microalgae, and is a sensitive biomarker when microalgae are exposed to a toxic compound (Kurade et al., 2016). For experiments with initial consortium biomass of ≈ 300 mgTSS/L, the *Chl-a* content had an increase of 40.19% and 73.84%, in the presence of BPA and TCS, respectively, compared to the control (Fig. 3). At the highest inoculum concentration (≈500 mg/L), the increase was lower for TCS (0.14%) and a decrease was recorded for BPA (5.33%). In this regard, there are reports that BPA, at concentrations of 1–5 mg/L, increase the *Chl-a* content of *Desmodesmus* sp. WR1 (Wang et al., 2017). There are reports indicating that BPA, at concentrations of 1–5 mg/L, increases the *Chl-a* content of *Desmodesmus* sp. WR1 (Wang et al., 2017). Likewise, the same effect of BPA has been reported for other genera of microalgae that were not evaluated in the present study, such as *C. reinhardtii*, (Míguez et al., 2021).

The effect of TCS on *Chl-a* content has been reported for green



**Fig. 2.** Growth inhibition of *Desmodesmus* spp. and *S. obliquus* microalgal consortium in the presence of TCS, to allow the determination of EC<sub>50</sub>-96 h for TCS.

microalgae species other than the genera *Desmodesmus* sp. and *S. obliquus*. Studies found on *C. vulgaris*, showed a 20.18 ± 0.64 mg/L increase in *Chl-a* when exposed to 750 µg/L TCS (Dai et al., 2021). Molecular analysis has clarified that emerging contaminants have an effect on *Chl-a* metabolism in microalgae, which is reflected in the efficiency of photosynthetic activity, as described by Ma et al. (2022).

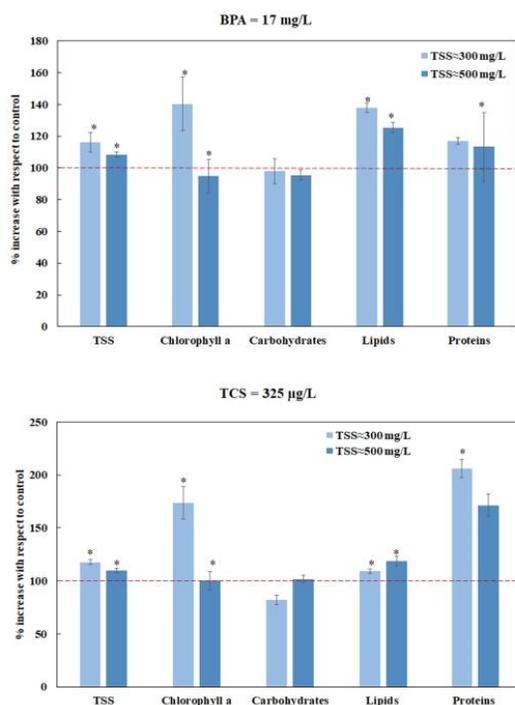
### 3.2.3. Biomolecule content

**3.2.3.1. Carbohydrates.** Carbohydrates are structural components in cell walls, provide energy sources and play important roles in metabolic processes (Azizullah et al., 2022). Compared to the control, the microalgal consortium (≈300 and ≈500 mgTSS/L) grown in the presence of BPA showed a non-significant decrease in carbohydrate content, 2.12% and 4.58%, respectively (Fig. 3). In the presence of TCS, and with the

**Table 2**  
TSS and biomolecule content in the microalgal consortium with predominance of *S. obliquus* and *Desmodesmus* spp. exposed to BPA and TCS.

Experiment	TSS		Chlorophyll "a"	Carbohydrates	Lipids	Proteins
	mgTSS/L		µg/mL	mg/mgTSS		
	Day 0	Day 15				
<b>Bisphenol-A</b>						
BPA	307.50 ± 10.92	447 ± 26.83	0.88 ± 0.15	0.23 ± 0.018	0.10 ± 0.003	0.32 ± 0.007
17 mg/L						
Control		385 ± 14.72	0.63 ± 0.10	0.23 ± 0.01	0.07 ± 0.004	0.27 ± 0.04
BPA	547.78 ± 14.60	617 ± 11.51	0.83 ± 0.09	0.22 ± 0.007	0.09 ± 0.003	0.23 ± 0.05
17 mg/L						
Control		570 ± 5.77	0.88 ± 0.22	0.24 ± 0.01	0.07 ± 0.002	0.20 ± 0.03
<b>Triclosan</b>						
TCS	301.12 ± 12.36	371 ± 8.94	1.09 ± 0.17	0.16 ± 0.007	0.09 ± 0.002	0.30 ± 0.026
325 µg/L						
Control		315 ± 7.0	0.62 ± 0.053	0.20 ± 0.007	0.08 ± 0.002	0.146 ± 0.026
TCS	457.12 ± 12.19	518 ± 10.95	0.71 ± 0.06	0.23 ± 0.008	0.09 ± 0.004	0.20 ± 0.022
325 µg/L						
Control		471.2 ± 4.8	0.71 ± 0.092	0.22 ± 0.008	0.08 ± 0.004	0.119 ± 0.022

Initial characterization of microalgal consortium; Chl-a: 0.617 ± 0.178 µg/mL; carbohydrates: 0.180 ± 0.022 mg/mgTSS; lipids: 0.089 ± 0.0074 mg/mgTSS; proteins: 0.155 ± 0.029 mg/mgTSS.



**Fig. 3.** Percentage increase with respect to control of TSS, Chl-a, carbohydrate, lipid and protein content in experiments in the presence of BPA and TCS on the 15th day of exposure. Parameters with significant differences with respect to the control are indicated by an asterisk (\*P < 0.05).

lowest initial biomass concentration (≈300 mgTSS/L) the carbohydrate content had a significant decrease of 17.91%. In contrast, an increase of 1.77% was observed with the highest initial biomass content (≈500 mgTSS/L). To date, no information was found in the literature on the effect of BPA and TCS on carbohydrate content for the genera of microalgae evaluated at present study. Only one study was found referencing the effect of BPA on *C. vulgaris* and *C. mexicana*, where

carbohydrate content showed slight increases of 9.6% (25 mg/L) and 6.5% (50 mg/L), respectively (Azizullah et al., 2022).

**3.2.3.2. Lipids.** Lipids are considered an indicator of stress due to the presence of toxic substances (Azizullah et al., 2022). The results of the lipid content in the biomass of the microalgal consortium cultured in the presence of BPA and TCS showed an increase with respect to the control experiments (Table 2, Fig. 3). In the case of BPA, the highest increase (37.84%) was obtained with an initial biomass concentration of ≈ 300 mg SST/L, going from a lipid content of 7–10% (w/w) by dry biomass. In contrast, experiments in the presence of TCS showed a moderate increase (18.75%), with the highest initial biomass concentration (≈500 mg TSS/L). In the latter case, the lipid content of the microalgal consortium increased from 8% to 9% (w/w) by dry biomass. Exposure of microalgae to emerging contaminants leads to an increase in lipids, this could be due to cell membrane damage caused by oxidative stress when microalgae are in contact with contaminants. The increase in unsaturated fatty acids may be due to cell membrane damage caused by this oxidative stress (Azizullah et al., 2022).

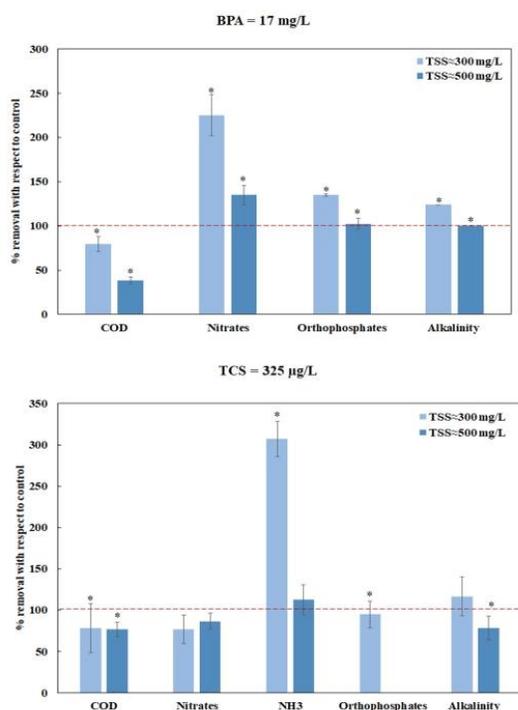
**3.2.3.3. Proteins.** Proteins are present in different parts of the microalgal cell such as the cytoplasm, organelles, plastids, cell wall and nucleus (Amorim et al., 2021). In this study, both emerging compounds showed a positive effect on the protein content of microalgae biomass, highlighting the culture condition of lower initial biomass concentration (≈300 mg TSS/L) (Fig. 3). The presence of TCS doubled the protein content of the microalgae consortium with respect to the control; that is, it went from 15% (w/w) to 30% (w/w) by dry biomass (Table 2). In the case of BPA, the increase in protein content was less significant, as can be seen in Fig. 3. Little information is available on the effect of BPA and TCS on the protein content of the genera of microalgae evaluated in the present study. However, other types of emerging compounds are known to have the ability to increase the protein content of different microalgae. For example, it has been reported that acetylsalicylic acid and caffeine influenced the protein content of the biomass, reaching values higher than 66% protein for *S. obliquus* (Rempel et al., 2021).

### 3.3. Effect of bisphenol-A (BPA) and triclosan (TCS) on nutrient removal

BPA and TCS were observed to affect nutrient removal by the microalgal consortium. Related data in terms of physicochemical parameters are shown in Table 3. Fig. 4 compares the nutrient removal for each emerging contaminant for each initial biomass concentration with respect to the controls.

**Table 3**  
Nutrient removal in SWW with *S. obliquus* and *Desmodesmus* spp. consortium exposed to BPA and TCS.

Experiment	COD		N-NO <sub>3</sub>	N-NH <sub>3</sub>	Orthophosphates	Total alkalinity
	mg/L					
	Day 0	Day 15				
BPA 17 mg/L	239.7 ± 34.7	31.0 ± 2.7	3.8 ± 0.9	≈ 0.0 ± 0	9.2 ± 0.1	10.0 ± 0
Control BPA-free	24.5 ± 13.3	24.7 ± 4.6	8.6 ± 0.2	4.9 ± 1.6	7.5 ± 0.3	12.4 ± 4.9
BPA 17 mg/L	239.7 ± 34.7	46.2 ± 1.7	7.2 ± 0.8	≈ 0.0 ± 0	12.7 ± 0.7	10.0 ± 0
Control BPA-free	24.5 ± 13.3	17.9 ± 4.2	9.7 ± 0.4	5.6 ± 0	13.0 ± 0.5	10.0 ± 0
Triclosan TCS 325 µg/L	139.9 ± 36.3	30.0 ± 8.9	13.3 ± 2.3	1.4 ± 0.3	14.5 ± 2.4	6.0 ± 1.4
Control TCS-free	24.5 ± 13.3	23.4 ± 1.2	10.2 ± 2.6	4.3 ± 0.8	13.8 ± 0.7	7.0 ± 1.2
TCS 325 µg/L	139.9 ± 36.3	25.0 ± 2.2	11.7 ± 1.1	2.2 ± 0.4	14.6 ± 0.5	6.4 ± 0.9
Control TCS-free	24.5 ± 13.3	19.1 ± 4.0	10.1 ± 5.5	2.5 ± 0.9	≈ 0.0 ± 0	5.0 ± 1.2



**Fig. 4.** Variations with respect to control for soluble COD, nitrates, ammoniacal nitrogen, orthophosphates and alkalinity in experiments in the presence of BPA and TCS at the 15th day of exposure. Parameters with significant differences with respect to control are indicated by an asterisk (\* $P < 0.05$ ).

Initial characterization of SWW (mg/L): Nitrates:  $5.375 \pm 1.11$ ; ammoniacal nitrogen:  $6.65 \pm 3.24$ ; orthophosphates:  $12.37 \pm 3.67$ ; total alkalinity:  $38.14 \pm 8.64$ .

In Fig. 4 it may be observed that the BPA at  $\approx 300$  mgTSS/L showed greatest nutrient removal, in terms of soluble COD, nitrates, ammoniacal

nitrogen and orthophosphates. The five parameters measured showed significant removal with respect to controls. For BPA and  $\approx 300$  mgTSS/L in combination, the physicochemical parameters that exhibited major and significant removal were nitrates (2.51-fold greater removal with respect to control), ammoniacal nitrogen ( $\approx 0$  mg/L), orthophosphates (34.78% greater than control), and alkalinity (24% greater than control). For BPA and  $\approx 500$  mgTSS/L in combination, removals of nitrates (34.72% removal higher than control), ammoniacal nitrogen ( $\approx 0$  mg/L), alkalinity and orthophosphates (same as control) were observed.

TCS and  $\approx 300$  mgTSS/L inoculum showed greater removal than control for ammoniacal nitrogen (3.07-fold higher) and alkalinity (16.67% higher). While TCS and  $\approx 500$  mgTSS/L in combination showed a greater removal than control for ammoniacal nitrogen (12.61%) and orthophosphates ( $\approx 0$  mg/L). The results of the present study show the presence of BPA has a positive effect on nutrient removal in the lowest inoculum concentration tested. The presence of TCS exhibited a positive effect on ammoniacal nitrogen and orthophosphates in both inoculum concentrations tested. There are no available studies which extensively investigate the effect of BPA on nutrient intake. The presence of TCS results in significant effects on the intake of phosphorus at high temperatures, and nitrogen uptake may be affected by TCS (Xin et al., 2018). Matamoros et al. (2015), evaluated COD and N-NH<sub>3</sub> removal in the presence of 26 emerging contaminants (which were found and quantified in wastewater), but this study does not include a control experiment to verify the effect on nutrient removal in the presence of emerging contaminants.

#### 4. Conclusions

The EC<sub>50</sub>-96 h values obtained for the microalgal consortium (*S. obliquus* and *Desmodesmus* sp.) indicate a medium tolerance to BPA (17 mg/L) and a low tolerance to TCS (325 µg/L) compared to other genera and species of microalgae. In this study, it was found that under EC<sub>50</sub>-96 h conditions for BPA and TCS, both emerging contaminants increase microalgal consortium growth, *Chl-a* content, biomolecule content (lipids and proteins) as well as nutrient removal in synthetic wastewater. However, in terms of carbohydrate content, both emerging contaminants showed a negative effect. BPA had the greatest positive effect on lipid content at  $\approx 300$  mgTSS/L. In the presence of TCS, *Chl-a* and protein content showed the greatest increase at  $\approx 300$  mgTSS/L. For the removal of nutrients from wastewater, BPA showed the greatest removal efficiency for both inoculum concentrations tested. Finally, wastewater bioremediation and biomolecule production by the

K. Atenguño-Reyes et al.

Ecotoxicology and Environmental Safety 262 (2023) 115117

microalgal consortium studied proved to be a highly efficient alternative, even under conditions of stress, in the presence of emerging contaminants such as BPA and TCS.

#### Funding

We would like to acknowledge Dirección General de Asuntos del Personal Académico, DGAPA (UNAM) for their support during this research, through the scholarship program PASPA.

#### CRedit authorship contribution statement

Karina Atenguño Reyes carried out the conception, methodology development; model creation and design analysis, data interpretation, curation of sources and contributed to the writing of the manuscript. María Teresa Orta Ledesma performed research conceptualization, supervision, validation, research and funding acquisition, formal analysis, contributed to the writing of the article and critical review. Sharon B. Velasquez-Orta was responsible for the supervision and leadership for the planning and execution of the research activity, including external mentoring to the core team, critical review, writing of the original draft, including substantive translation. Isaura Yáñez-Noguez contributed in providing study materials (reagents and materials), critical review, writing, revising and editing the paper at different stages, as well as attending to reviewers' comments. Ignacio Monje-Ramírez contributed to the critical review and supervision of the research. Petia Mijaylova-Nacheva contributed the critical review and methodological expertise, Alma Chávez-Mejía contributed the critical review and methodological expertise.

#### Declaration of Competing Interest

The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests: María Teresa Orta Ledesma reports financial support was provided by National Autonomous University of Mexico Directorate General of Academic Staff Affairs. Karina Atenguño Reyes reports financial support was provided by National Council on Science and Technology.

#### Data availability

Data will be made available on request.

#### Acknowledgements

We are grateful to the Dirección General de Asuntos del Personal Académico, de Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA, UNAM), for the support granted to María Teresa Orta Ledesma during this research, through the Programa de Apoyos para la Superación del Personal Académico (PASPA) scholarship program. Karina Atenguño-Reyes was supported by the Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería, UNAM, and Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, Grant No. 779848).

#### References

American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2023. Standard methods for examination of water and wastewater. <https://www.standardmethods.org/>.

Amorim, M.L., Soares, J., Coimbra, J.S.D.R., Leite, M.O., Albino, L.F.T., Martins, M.A., 2021. Microalgae proteins: production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed. *Crit. Rev. Food Sci.* 61, 1976–2002 <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1768046>.

Azizullah, A., Khan, S., Gao, G., Gao, K., 2022. The interplay between bisphenol A and algae—a review. *J. King Saud Univ. Sci.*, 102050 <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102050>.

Becker, E.W., 1994. Measurement of algal growth. in: microalgae biotechnology and microbiology. Cambridge Studies in Biotechnology. Cambridge Press, New York, pp. 56–62.

Ben Ouada, S., Ben Ali, R., Leboulanger, C., Ben Ouada, H., Sayadi, S., 2018. Effect of Bisphenol A on the extremophilic microalgal strain *Picoocystis* sp. (Chlorophyta) and its high BPA removal ability. *Ecotox Environ. Safe* 158, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.008>.

Bi, R., Zeng, X., Mu, L., Hou, L., Liu, W., Li, P., Chen, H., Li, D., Bouchez, A., Tang, J., Xie, L., 2018. Sensitivities of seven algal species to triclosan, fluoxetine and their mixtures. *Sci. Rep.* 8, 15361 <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33785-1>.

Dai, Z., Dai, X.L., Luo, X., Yang, Aili, Yang, A., Wang, Jinsong, Wang, J., Fu, Haiyan, Fu, H., Wu, Yicheng, Wu, Y., 2021. The Effects of triclosan on physiological and photosynthetic characteristics of *Chlorella vulgaris*. *Water* 13, 1355. <https://doi.org/10.3390/w13101355>.

Ding, T., Lin, K., Yang, M., Bao, L., Li, J., Yang, B., Gan, J., 2018. Biodegradation of triclosan in diatom *Navicula* sp.: kinetics, transformation products, toxicity evaluation and the effects of pH and potassium permanganate. *J. Hazard Mater.* 344, 200–209. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.09.033>.

Ebenezer, V., Ki, J.S., 2012. Evaluation of the sub-lethal toxicity of Cu, Pb, bisphenol A and polychlorinated biphenyl to the marine dinoflagellate *Cochlodinium polykrioides*. *Algae* 27, 63–70. <https://doi.org/10.4490/algae.2012.27.1.063>.

Ebenezer, V., Ki, J.S., 2016. Toxic effects of Aroclor 1016 and bisphenol A on marine green algae *Tetraselmis suecica*, diatom *Ditylum brightwellii* and dinoflagellate *Prorocentrum minimum*. *Korean J. Microbiol* 52, 306–312. <https://doi.org/10.7845/kjm.2016.6050>.

EPA, 1971. Method 352.1: Nitrogen, nitrate (Colorimetric, brucine) by spectrophotometer.

Esperanza, M., Seoane, M., Servia, M.J., Cid, A., 2020. Effects of Bisphenol A on the microalga *Chlamydomonas reinhardtii* and the clam *Corbicula fluminea*. *Ecotox Environ. Safe* 197, 110609. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110609>.

Habibi, A., Nematzadeh, G.A., Shariati, F.P., Amrei, H.D., Teymouri, A., 2019. Effect of light/dark cycle on nitrate and phosphate removal from synthetic wastewater based on BG11 medium by *Scenedesmus* sp. 3 *Biotech* 9, 150. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1679-7>.

Hernández-García, A., Velasquez-Orta, S.B., Novelo, E., Yáñez-Noguez, I., Monje-Ramírez, I., Orta Ledesma, M.T., 2019. Wastewater-leachate treatment by microalgae: biomass, carbohydrate and lipid production. *Ecotox Environ. Safe* 174, 435–444. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.052>.

Ji, M.K., Kabra, A.N., Choi, J., Hwang, J.H., Kim, J.R., Abou-Shanab, R.A.L., Oh, Y.K., Jeon, B.H., 2014. Biodegradation of bisphenol A by the freshwater microalgae *Chlamydomonas mexicana* and *Chlorella vulgaris*. *Ecol. Eng.* 73, 260–269. <https://doi.org/10.1016/j.ecoeng.2014.09.070>.

Kurade, M.B., Kim, J.R., Govindwar, S.P., y Jeon, B.H., 2016. Insights into microalgae mediated biodegradation of diazinon by *Chlorella vulgaris*: microalgal tolerance to xenobiotic pollutants and metabolism. *Algal Res* 20, 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.10.003>.

Li, D., Bi, R., Chen, H., Mu, L., Zhang, L., Chen, Q., Xie, H., Luo, Y., Xie, L., 2017. The acute toxicity of bisphenol A and lignin-derived bisphenol in algae, daphnids, and Japanese medaka. *Environ. Sci. Pollut. R.* 24, 23872–23879. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0018-y>.

Li, J., Wang, Y., Li, N., He, Y., Xiao, H., Fang, D., Chen, C., 2022. Toxic effects of bisphenol A and bisphenol S on *Chlorella Pyrenoidosa* under single and combined action. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 19 (7), 4245. <https://doi.org/10.3390/ijerph19074245>.

Li, R., Chen, G.Z., Tam, N.F.Y., Luan, T.G., Shin, P.K.S., Cheung, S.G., Liu, Y., 2009. Toxicity of bisphenol A and its bioaccumulation and removal by a marine microalga *Stephanodiscus hantzschii*. *Ecotox Environ. Safe* 72, 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.05.012>.

Ma, Y., Shen, W., Tang, T., Li, Z., Dai, R., 2022. Environmental estrogens in surface water and their interaction with microalgae: a review. *Sci. Total Environ.* 807, 150637. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150637>.

Machado, M.D., Soares, E.V., 2021. Toxicological effects induced by the biocide triclosan on *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Aquat. Toxicol.* 230, 105706 <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105706>.

Maryoseph, S., Ketheesan, B., 2020. Microalgae based wastewater treatment for the removal of emerging contaminants: a review of challenges and opportunities. *Case Stud. Chem. Environ. Eng.* 2 <https://doi.org/10.1016/j.csee.2020.100046>.

Matamoros, V., Gutierrez, R., Ferrer, I., Garcia, J., Bayona, J.M., 2015. Capability of microalgae-based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants: a pilot scale study. *J. Hazard Mater.* 288, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.002>.

Míguez, L., Esperanza, M., Seoane, M., y Cid, A., 2021. Assessment of cytotoxicity biomarkers on the microalga *Chlamydomonas reinhardtii* exposed to emerging and priority pollutants. *Ecotox Environ. Safe* 208, 111646. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111646>.

OECD, 2006. Freshwater algae and cyanobacteria, growth inhibition test. Guideline 201. Paris, France.

Orvos, D.R., Versteeg, D.J., Inauen, J., Capdevielle, M., Rothenstein, A., Cunningham, V., 2002. Aquatic toxicity of triclosan. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 1338–1349. <https://doi.org/10.1002/etc.5620210703>.

Rempel, A.W., Nadal Biolchi, G., Farezin Antunes, A.C., Gutkoski, J.P., Treichel, H., Colla, L.M., 2021. Cultivation of microalgae in media added of emergent pollutants and effect on growth, chemical composition, and use of biomass to enzymatic hydrolysis. *Bioenginer. Res.* 14, 265–277. <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10177-w>.

Ricky, R., Chiampo, F., Shanthakumar, S., 2022. Efficacy of ciprofloxacin and amoxicillin removal and the effect on the biochemical composition of *Chlorella vulgaris*. *Bioengineering* 9, 134. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9040134>.

K. Atenguño-Reyes et al.

Ecotoxicology and Environmental Safety 262 (2023) 115117

- Rozman, K.K., Doull, J., Hayes, W.J.Jr, 2010. Dose and time determining, and other factors influencing, toxicity. In: Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology, Third Edition.
- Teoh, M.L., Sanusi, N.S., Wong, C.Y., Beardall, J., 2020. Effects of the sunscreen ultraviolet filter, oxybenzone, on green microalgae. *Advances in Polar. Science* 31, 112–123. <https://doi.org/10.13679/j.advps.2019.0041>.
- Tisler, T., Krel, A., Gerzelj, U., Dolenc, M.S., Pintar, A., 2016. Hazard identification and risk characterization of bisphenols A, F and AF to aquatic organisms. *Environ. Pollut.* 212, 472–479. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.02.045>.
- Toledo-Cervantes, A., Morales, M., Novelo, E., Revah, S., 2013. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresour. Technol.* 130, 652–658. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.081>.
- Uzun, H., Ibanoglu, E., Catal, H., Ibanoglu, S., 2012. Effects of ozone on functional properties of proteins. *Food Chem.* 134, 647–654. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.146>.
- Wan, L., Wu, Y., Zhang, Y., Zhang, W., 2022. Toxicity, biodegradation of moxifloxacin and gatifloxacin on *Chlamydomonas reinhardtii* and their metabolic fate. *Ecotox Environ. Safe* 240, 113711. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113711>.
- Wang, R., Diao, P., Chen, Q., Wu, H., Xu, N., y Duan, S., 2017. Identification of novel pathways for biodegradation of bisphenol A by the green alga *Desmodesmus spp.* *WRI*, combined with mechanistic analysis at the transcriptome level. *Chem. Eng. J.* 321, 424–431. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.03.121>.
- Wang, S., Poon, K., Cai, Z., 2018. Removal and metabolism of triclosan by three different microalgal species in aquatic environment. *J. Hazard Mater.* 342, 643–650. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.09.004>.
- Wang, X.D., Lu, Y.C., Xiong, X.H., Yuan, Y., Lu, L.X., Liu, Y.J., Mao, J.H., Xiao, W.W., 2020. Toxicological responses, bioaccumulation, and metabolic fate of triclosan in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ. Sci. Pollut. R.* 27, 11246–11259. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07704-9>.
- Xiang, R., Shi, J., Yu, Y., Zhang, H., Dong, C., Yang, Y., Wu, Z., 2018. The effect of bisphenol A on growth, morphology, lipid peroxidation, antioxidant enzyme activity, and PS II in *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Scenedesmus quadricauda*. *Arch. Environ. Con Tox* 74, 515–526. <https://doi.org/10.1007/s00244-017-0454-1>.
- Xin, X., Huang, G., An, C., Huang, C., Weger, H.G., Zhao, S., Zhou, Y., Rosendahl, S.M., 2018. Insights into the toxicity of triclosan to green microalga *Chlorococcum sp.* using synchrotron-based fourier transform infrared spectromicroscopy: biophysiological analyses and roles of environmental factors. *Environ. Sci. Technol.* 52, 2295–2306. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05533>.

## 11 ANEXOS

### A. Curva de calibración de DQO.

*Solución de digestión*, pesar 10.216 g de dicromato de potasio (secar a 103 °C por 2 horas) y disolver en 500 mL de agua destilada. Agregar 167 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y 33.3 g de sulfato de mercurio. Aforar a 1 L con agua destilada. Caducidad: 6 meses.

*Reactivo ácido*, pesar 10.12 g de sulfato de plata y adicionar a 1 L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Caducidad: 12 meses.

*Solución patrón de DQO*, pesar 0.425 g de hidrógenoftalato de potasio (secar a 120 °C por 1 hora), diluir en 1 L de agua destilada. Esta solución tiene una DQO teórica de 500 mg/L. Caducidad: 30 días.

Para realizar la curva de calibración de DQO, se realizan diluciones de la solución patrón (Tabla A1). En un tubo de vidrio se añaden 2.5 mL de la muestra (patrón), 1.5 mL de solución de digestión y 3.5 mL de reactivo ácido. Se lleva a digestión a 150 °C por 2 horas, posteriormente se mide la absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro Hach.

**Tabla A1.** Resultados de la curva de calibración de DQO

Puntos	mL de patrón, aforar a 50 mL	DQO teórica	Absorbancia			Promedio Absorbancia
			Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	
1	0	0	0	0	0	0
2	2.50	25	0.016	0.012	0.006	0.011
3	5.00	50	0.016	0.021	0.032	0.023
4	7.50	75	0.044	0.034	0.029	0.036
5	10.00	100	0.042	0.045	0.044	0.044
6	12.50	125	0.051	0.046	0.046	0.048
7	15.00	150	0.06	0.06	0.06	0.060
8	17.50	175	0.068	0.075	0.081	0.075
9	20.00	200	0.084	0.08	0.09	0.085
10	25.00	250	0.097	0.106	0.1	0.101
11	30.00	300	0.123	0.117	0.116	0.119
12	35.00	350	0.14	0.141	0.143	0.141
13	40.00	400	0.164	0.161	0.168	0.164
14	45.00	450	0.182	0.192	0.185	0.186
15	50	500	0.201	0.205	0.207	0.204

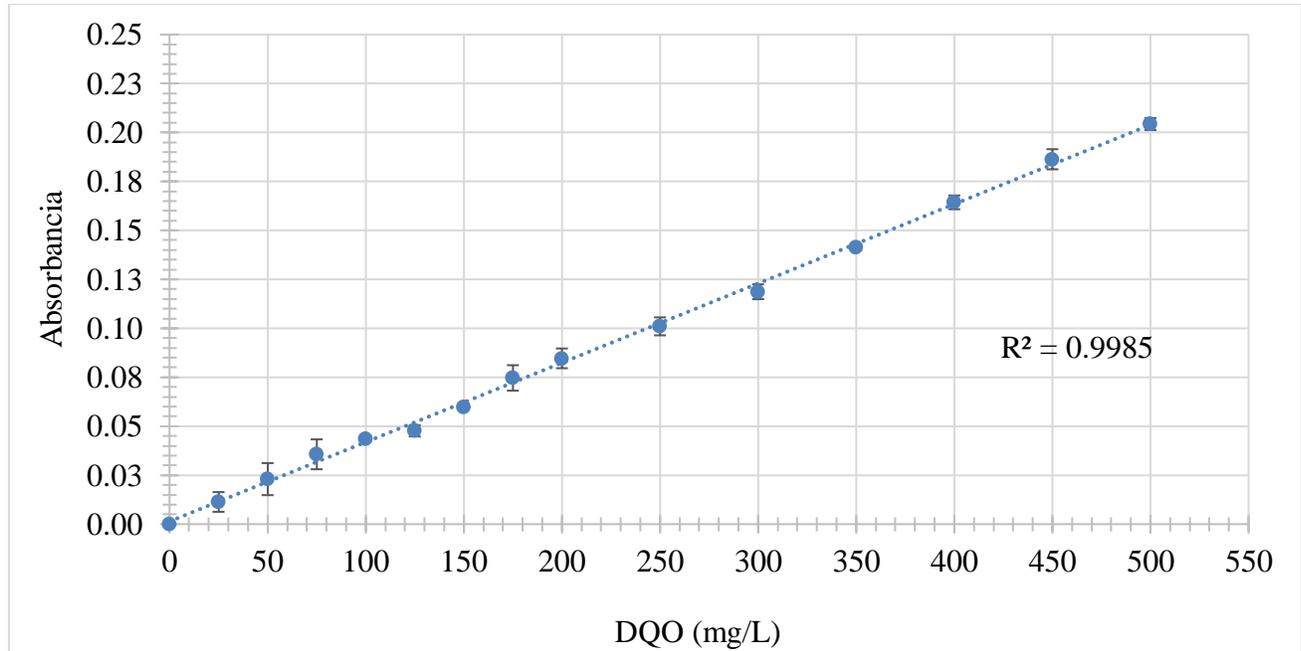


Gráfico A1. Curva de calibración de DQO

## B. Medios de cultivo

### B1 Medio de cultivo OECD

#### Solución 1. Macronutrientes

Compuesto	Cantidad (g/L)
NH <sub>4</sub> Cl	1.5
MgCl <sub>2</sub> 6(H <sub>2</sub> O)	1.2
CaCl <sub>2</sub> 2(H <sub>2</sub> O)	1.8
MgSO <sub>4</sub> 7(H <sub>2</sub> O)	1.5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.16

#### Solución 2. Hierro

10.5	Cantidad (mg/L)
FeCl <sub>3</sub> 6(H <sub>2</sub> O)	64
Na <sub>2</sub> EDTA 2(H <sub>2</sub> O)	100

#### Solución 3. Elementos traza

Compuesto	Cantidad (mg/L)
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	185
MnCl <sub>2</sub> ·4(H <sub>2</sub> O)	415
ZnCl <sub>2</sub>	3
CCl <sub>2</sub> ·6(H <sub>2</sub> O)	1.5

CuCl <sub>2</sub> ·2(H <sub>2</sub> O)	0.01
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2(H <sub>2</sub> O)	7

#### Solución 4. Bicarbonato

Compuesto	Cantidad (g/L)
NaHCO <sub>3</sub>	50

Mezclar 10 mL de la solución 1, 1 mL de la solución 2, 1 mL de la solución 3, 1 mL de la solución 4 y aforar a 1 L.

### B2. Yeast Minimal complementado (YMM leu-, ura- comp)

Reactivos para preparar 250 mL de medio base para cultivo de *S. cerevisiae*

No	Reactivo	Concentración	Cantidad
1	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	3.403 g
2	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	0.495 g
3	KOH Pellets	-	1.050 g
4	MgSO <sub>4</sub>	-	0.050 g
5	FeSO <sub>4</sub> solución	40 mg/50 ml	0.25 mL
6	L-histidina	1 g/100 mL	1.25 mL
7	Adenina	1 g/100 mL	1.25 mL
8	L-arginina-HCl	1 g/100 mL	0.50 mL
9	L-metionina	1 g/100 mL	0.50 mL
10	L-tirosina	1 g/100 mL	0.75 mL
11	L-lisina-HCl	1 g/100 mL	0.75 mL
12	L-fenilalanina	1 g/100 mL	0.63 mL
13	L-ácido glutámico	10 g/100 mL	0.50 mL
14	L-valina	3 g/100 mL	1.25 mL
15	L-serina	3.75 g/100 mL	2.5 mL
16	L-iso-leucina	1 g/100 mL	0.75 mL
17	Tiamina	-	20 mg
18	Piridoxina	-	20 mg
19	Ácido pantoténico	-	20 mg
20	Inositol	-	100 mg
21	Solución Biotina	2 mg/100ml	50 mL
22	Sol. D- (+)-Glucosa	20% m/v	10 mL
23	Sol. Ácido aspártico	4 mg/mL	6.25 mL
24	Solución de L-treonina	24 mg/mL	2 mL
25	Sol. de Sulfato de Cobre (II)	20 mM	0.625 mL

Para preparar placas, agregar agar noble 13 g por cada litro de medio a la base del medio (reactivos 1 al 16), disolviendo con agitación en una parrilla y calentando hasta ebullición. Esterilizar en autoclave por 15 minutos a 120 °C y 1.4 kg/cm<sup>2</sup> de presión. Dejar enfriar aproximadamente a 38 °C y agregar los reactivos 17 al 25 como se indica en la figura 15. Llenar las placas y someter a prueba de esterilidad a

30°C en una incubadora, comprobando que no hay contaminación se puede sembrar en las placas, el tiempo de incubación es de 3 días a 30 °C.

### B3. Preparación del stock de *S. cerevisiae*

A partir del cultivo con OD<sub>600</sub> de 1.0 (descrito en el punto 5.3.1) y se agrega glicerol estéril al 40 % en una proporción 1:1 v/v, se transfiere la mezcla a tubos de crio génesis y se almacena en ultracongelador a una temperatura de -70°C.

### B4. Medio BG-11

Compuesto	Cantidad (g/L)
NaNO <sub>3</sub>	1.5
NaHCO <sub>3</sub>	0.5
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.075
CaCl <sub>2</sub> anhidro	0.027
Ácido cítrico	0.006
EDTA disódico	0.001
Citrato de hierro y amonio	0.006
K <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	0.04
Solución de metales traza	1 mL

Solución de metales traza

Compuesto	Cantidad (g/L)
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.86
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.81
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.222
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.39
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.079
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.0494

## C. Preparación de soluciones

- **Fenol 5%**

Pesar 5 g de fenol y disolver en agua destilada aforando a 100 mL

- **Sulfosfosvainillina**

Pesar 0.075 g de vainillina y diluir en 1.25 mL de etanol absoluto. Añadir 1.125 mL de agua y agregar 50 mL de ácido fosfórico concentrado.

- **NaOH 2N**

Pesar 8 g de NaOH disolver en agua destilada y aforar a 100 mL.

- **Reactivo de Biuret**

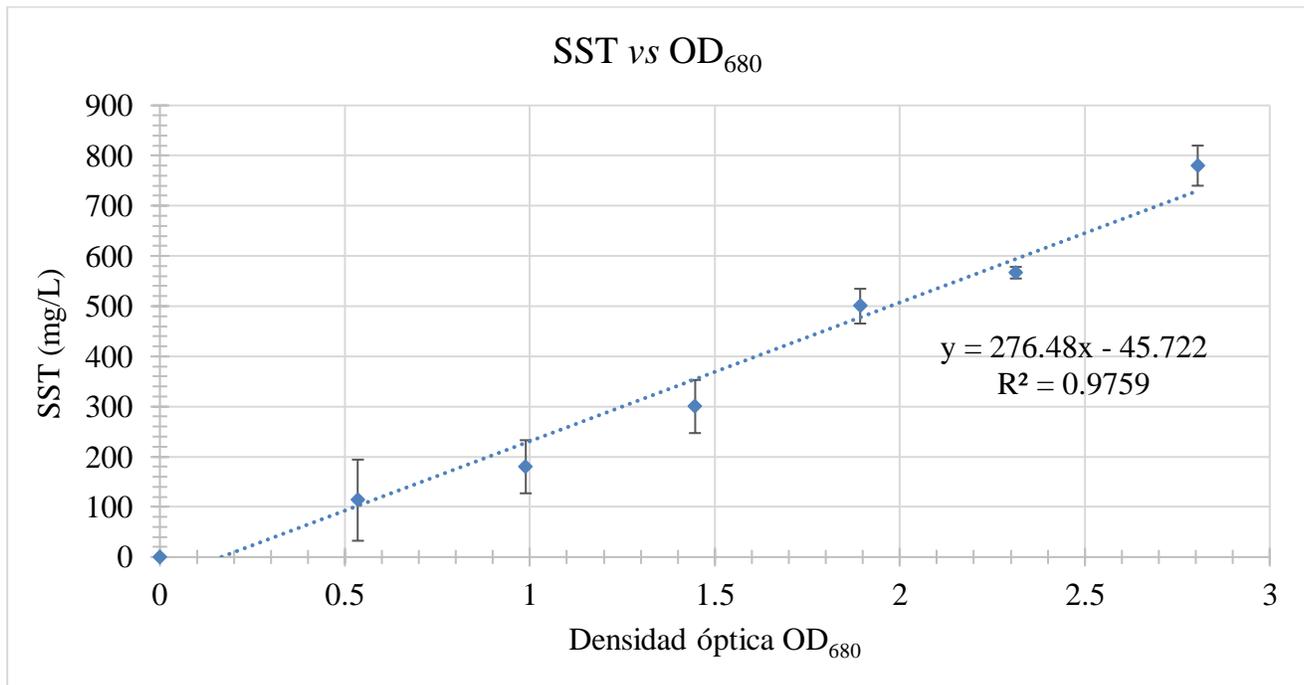
Agregar a 500 mL de una solución de NaOH 0.2 M, 9 gramos de tartrato de sodio y potasio y 3g de sulfato de cobre pentahidratado, una vez disueltos se agregan 5 g de yoduro de potasio. Aforar a 1L con la solución de NaOH 0.2M.

1L de NaOH 0.2 M (8.241 g de NaOH por litro de solución).

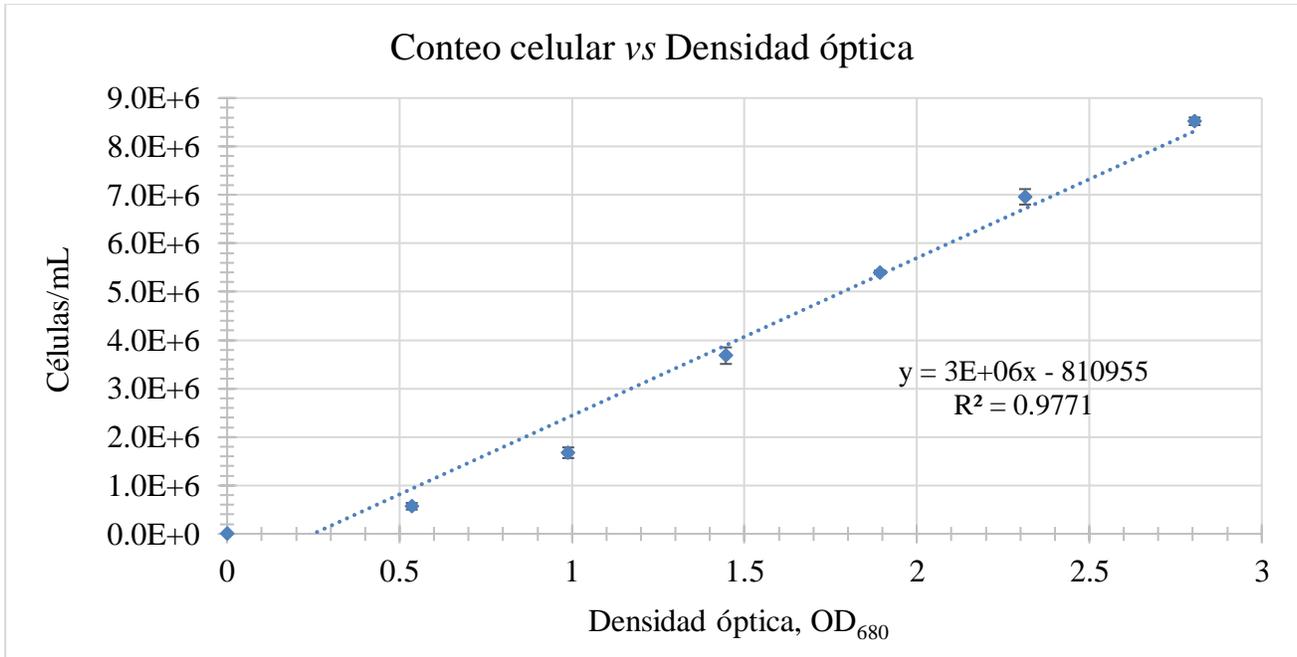
### D. Curvas de calibración para crecimiento de microalgas

Primero se realizaron curvas de calibración con tres parámetros que indican el crecimiento de las microalgas, sólidos suspendidos totales, densidad óptica a 680 nm y células/mL; para agua residual sintética.

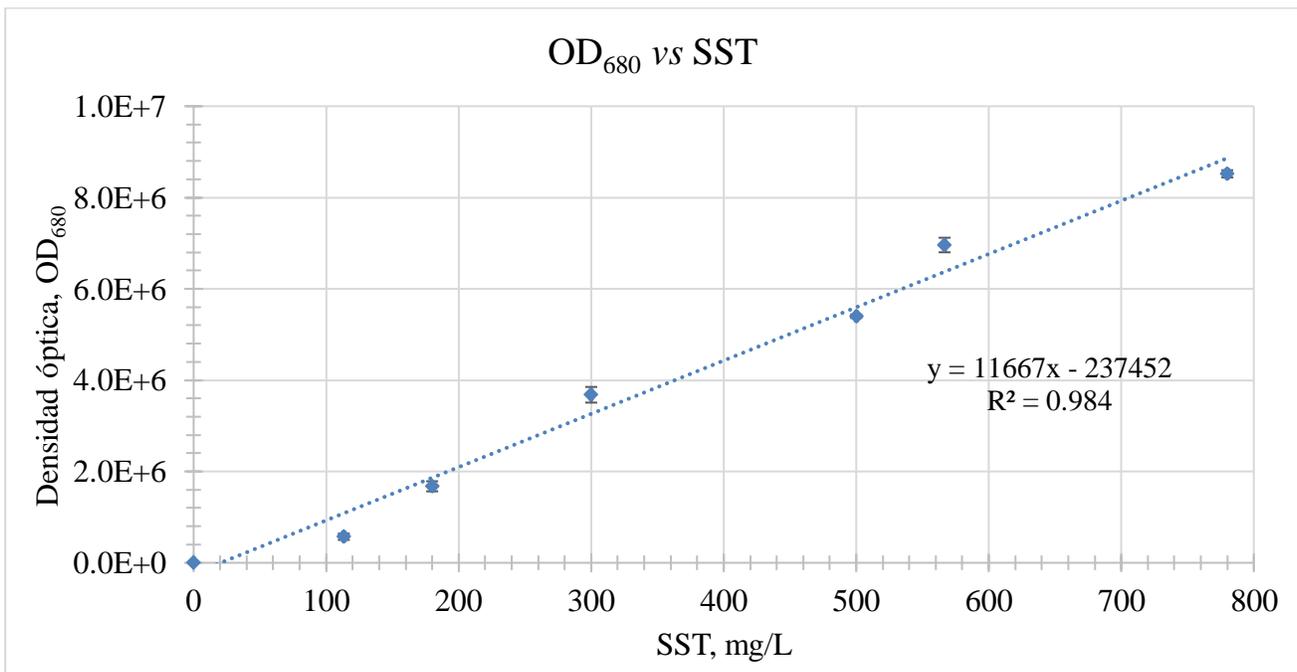
Los Gráficos D1, D2 y D3, muestran las curvas de calibración del crecimiento de microalgas relacionando la densidad óptica a 680 nm, los SST y el conteo celular en agua residual sintética.



**Gráfico D1.** Curva de calibración, SST vs OD<sub>680</sub>



**Gráfico D2.** Curva de calibración, conteo celular vs densidad óptica



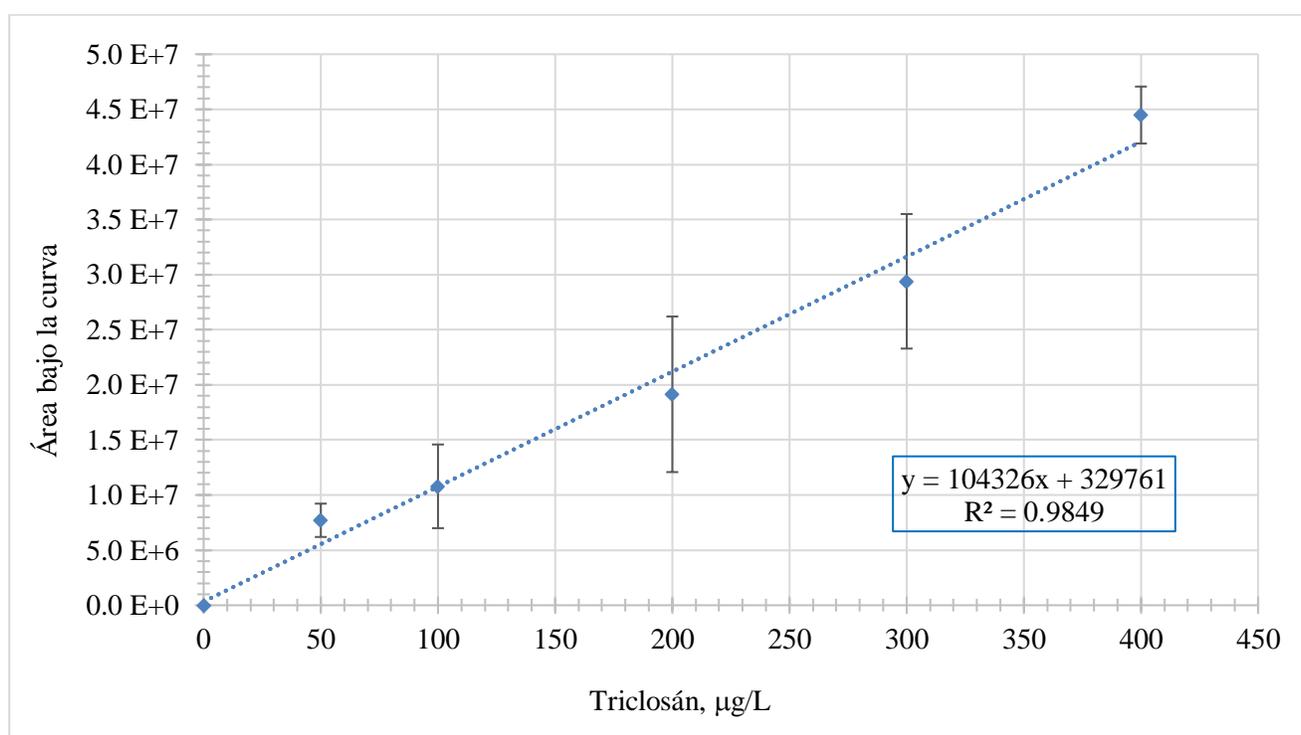
**Gráfico D3.** Curva de calibración, OD<sub>680</sub> vs SST

## E. Validación GC/MS-BLYES

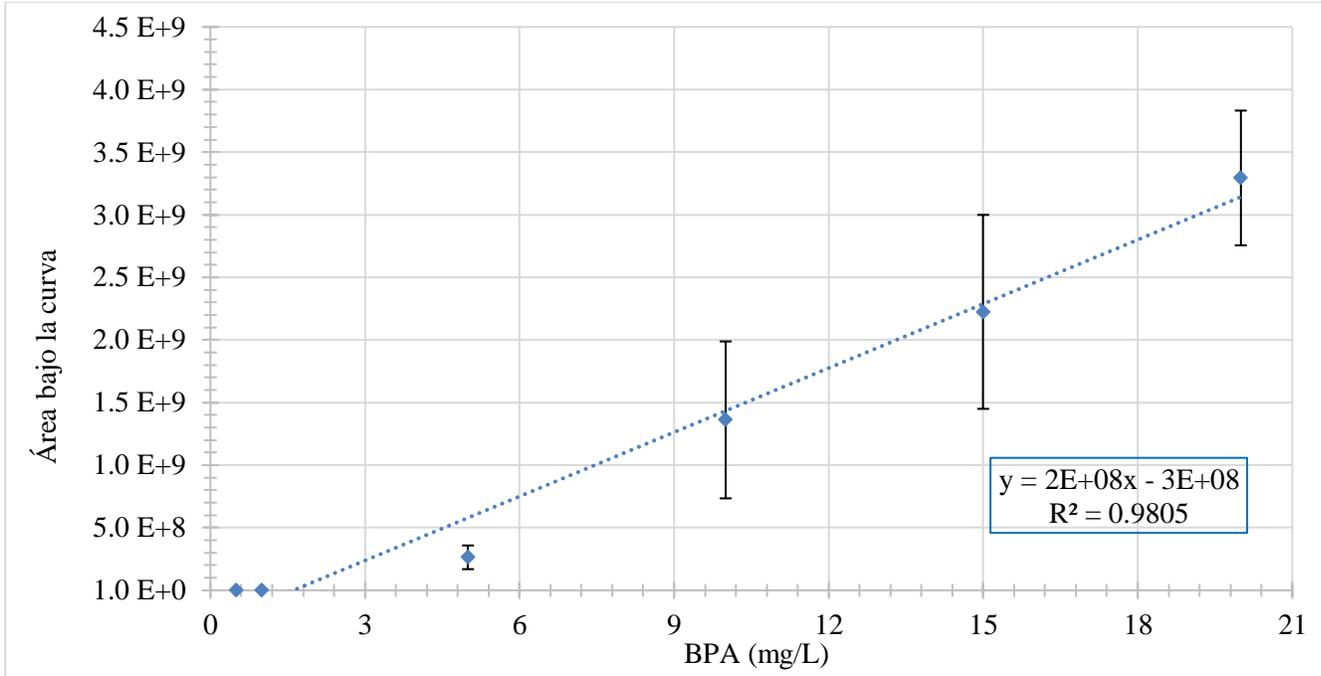
El objetivo de implementar conjuntamente la cuantificación de contaminantes emergentes y actividad estrogénica, es que a partir del mismo tratamiento de la muestra se pueda usar para ambas determinaciones.

### Cromatografía de gases

El Gráfico E1 muestra la curva de calibración de TCS cuantificada en cromatografía de gases, y en el Gráfico E2 se muestra la curva de calibración de BPA. Mientras en la Tabla E1, se muestran los parámetros de validación calculados para ambas curvas de calibración de TCS y BPA.



**Gráfico E1.** Curvas de calibración de triclosán, las barras de error representan la desviación estándar de 15 mediciones.



**Gráfico E2.** Curva de calibración de bisfenol-A, las barras de error representan la desviación estándar de 15 mediciones.

**Tabla E1.** Parámetros de la validación de cromatografía de gases

Contaminante emergente	Pendiente	Desviación estándar	r	R <sup>2</sup>	Ecuación de la línea recta
TCS	103481.98	1761996.62	0.989	0.9849	$y = 104326x + 329761$
BPA	170812279.9	64480236.6	0.99	0.9805	$y = 2x10^8x - 3x10^8$

Las ecuaciones de la línea recta se despejan en la variable x, para obtener la concentración a partir del área bajo la curva (y) obtenida por cromatografía.

$$x = \text{Conc. } (\mu\text{g/L}) = \frac{y - 329761}{104326} \text{ Ecuación para TCS}$$

$$x = \text{Conc. } (\text{mg/L}) = \frac{y + 3x10^8}{2x10^8} \text{ Ecuación para BPA}$$

A partir de los parámetros obtenidos de la validación de cromatografía de gases, se calcularon el límite de detección, límite de cuantificación, porcentaje de recuperación, con las siguientes ecuaciones:

$$LD = 3.3 \frac{\sigma}{S}$$

$$LC = 10 \frac{\sigma}{S}$$

$$\%R = \frac{X}{X_a} 100$$

Dónde:

LC: límite de cuantificación

LD: límite de detección

$\sigma$ : desviación estándar

S: pendiente de la curva de calibración

%R: Porcentaje de recuperación

X: Cantidad de analito hallada

$X_a$ : Cantidad de analito añadida

En la Tabla E2, se muestra el cálculo de los límites de detección, cuantificación y porcentaje de recuperación para BPA y TCS para las curvas de calibración con y sin SPE.

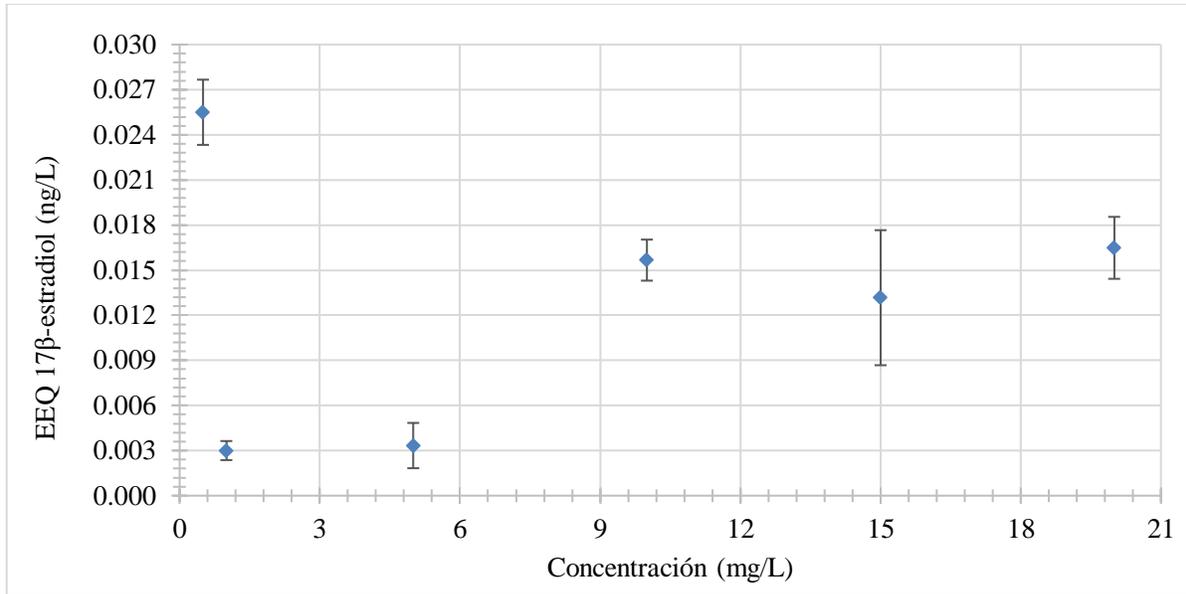
**Tabla E2.** Límites de detección y cuantificación para las curvas de calibración

Contaminante emergente	Con SPE		
	LD	LC	%R promedio
BPA	3.49 mg/L	10.57 mg/L	105.29
TCS	56.19 $\mu$ g/L	170.27 $\mu$ g/L	98.25

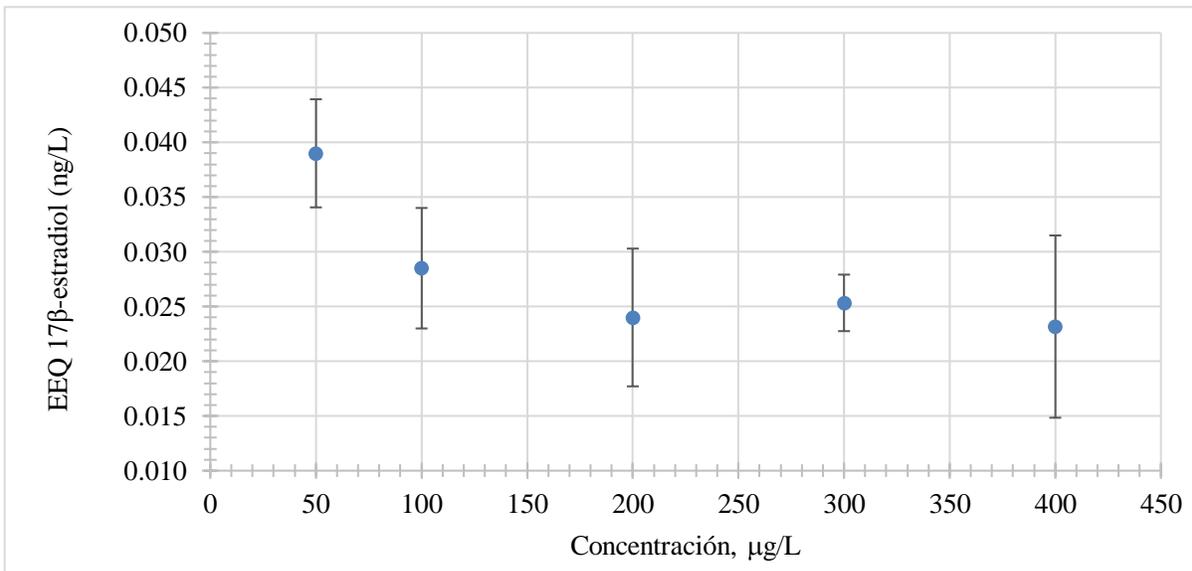
De las Tablas E1 y E2, se observa que las curvas de calibración para BPA y TCS, muestran una linealidad aceptable ( $\geq 0.98$ ), un porcentaje de recuperación  $\geq 98\%$ ; por lo que el método utilizado para la cuantificación de BPA y TCS por cromatografía de gases es adecuado para la identificación y cuantificación.

### Actividad estrogénica

En los Gráficos E3 y E4, se muestra el comportamiento de la actividad estrogénica para BPA (5.0 – 20.0 mg/L) y TCS (50 – 400  $\mu$ g/L).



**Gráfico E3.** Actividad estrogénica para BPA, las barras de error representan la desviación estándar de 6 mediciones.



**Gráfico E4.** Actividad estrogénica para TCS, las barras de error representan la desviación estándar de 6 mediciones.

Los efectos estrogénicos se pueden presentar a bajas dosis además de que los contaminantes emergentes no presentan un patrón lineal; algunas sustancias estrogénicas pueden presentar curvas dosis – respuesta en forma de “U”, “U” invertida, etc. (Romano, 2012). En los Gráficos E3 y E4, se observa que la mayor estrogénicidad la presenta la concentración más baja probada de cada contaminante emergente. Debido a la naturaleza que presentan los contaminantes emergentes con respecto a la estrogénicidad no se pueden determinar parámetros como linealidad,  $r$ ,  $R^2$  o pendiente como en la determinación por cromatografía de gases.