

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA
ESCUELA DE QUÍMICA
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL GRADO DE
LICENCIATURA EN INGENIERÍA AMBIENTAL

**REMOCIÓN DE FÁRMACOS EN AGUAS RESIDUALES A TRAVÉS
DE REACTORES CON MICROORGANISMOS INMOVILIZADOS**

ANTONY ANDREY TORRES SOLANO

CARTAGO, Mayo, 2023

TEC | Tecnológico
de Costa Rica

ingeniería
ambiental



Remoción de fármacos en aguas residuales a través de reactores con microorganismos inmovilizados

Informe presentado a la Escuela de Química del Instituto Tecnológico de Costa Rica como requisito parcial para optar por el título de Ingeniero Ambiental con el grado de licenciatura

Miembros del Tribunal

MSc. Diana Zambrano Piamba
Directora

Carlos E. Rodríguez Rodríguez, Ph.D.
Lector

Lic. Camila Charpentier Alfaro
Lectora

David Isasi Hernández Parra, Ph.D.
Coordinador de COTRAFIG

MGA. Ricardo Coy Herrera
Director Escuela de Química

MSc. Diana Zambrano Piamba
Coordinadora Carrera de Ingeniería Ambiental

A mi familia, quienes han sido un ejemplo de esfuerzo y persistencia

Agradecimientos

A mi familia

Por ser un ejemplo de esfuerzo y por su gran apoyo durante mi formación académica. Especialmente a mi mamá y papá, quienes me han guiado y acompañado y por motivarme a no dejar de aprender.

Centro de Investigación en Contaminación Ambiental (CICA), Universidad de Costa Rica

Por el financiamiento, asesoría y abrirme las puertas para realizar este proyecto. Un agradecimiento especial a **Carlos E. Rodríguez Rodríguez** por darme su confianza, apoyo y acompañamiento y compartir su experiencia y conocimiento durante todo el proceso. A **Didier Ramírez Morales** por su colaboración en el trabajo experimental en el CICA. A **Victor Arias Mora** por facilitar el análisis de DQO y la preservación de muestras y sus recomendaciones técnicas. A **Mario Masís Mora** por la colaboración en el análisis instrumental de fármacos. A todo el personal del CICA que aportó de forma directa e indirecta en este trabajo.

Centro Nacional de Alta Tecnología (CeNAT)

Por el financiamiento a través de la Beca CeNAT-CONARE, la asesoría y autorización de uso de instalaciones para la investigación asociada al encapsulamiento de microorganismos. Especialmente a **Camila Charpentier Alfaro** por su apoyo, recomendaciones y acompañamiento en cada una de las etapas de este proyecto e instrucción en el CENIBiot. A **Jorge Araya Matthey** por compartir su experiencia en el encapsulamiento de microorganismos y la colaboración durante mi estadía en el CENIBiot.

Programa de Ingeniería Ambiental, Tecnológico de Costa Rica

Por facilitar el uso de laboratorio, análisis DQO e ingreso a la Planta de Tratamiento de Agua Residual para la toma de agua residual y lodo. Un agradecimiento especial a **Diana Zambrano Piamba** por ser una mentora, compartir su conocimiento e impulsarme. Así también, a **Marco Méndez López** por su colaboración en análisis de DQO y uso de instalaciones del laboratorio del Programa de Ingeniería Ambiental. Además, gracias a docentes, administrativos y compañeros que han sido parte de mi formación en el TEC.

Escuela de Ingeniería Química, Universidad de Costa Rica

Por la asesoría y por la contribución de docentes, administrativos, compañeros y amigos durante mi formación en la UCR. Especialmente, gracias a **Esteban Durán Herrera** por sus importantes aportes técnicos y el seguimiento dado al proyecto. Asimismo, a **René Mora Casal** por las recomendaciones y apoyo en la documentación y presentación de resultados.

Laboratorio Técnico de Mecánica de Precisión, Escuela de Física, Universidad de Costa Rica

Por la colaboración en la construcción del prototipo desarrollado. Un gran agradecimiento a **Victor Rodríguez Araya** por compartir su experiencia en el maquinado de componentes mecánicos y recomendaciones técnicas, que facilitaron la construcción del prototipo.

Lista de siglas y acrónimos

ASME	American Society of Mechanical Engineers
CICA	Centro de Investigación en Contaminación Ambiental
DBO	Demanda Biológica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno
DFC	Despliegue de la Función de Calidad
EPDM	Etileno Propileno Dieno tipo M ASTM
FP	Filtros percoladores
LAC	Latinoamérica y el Caribe
LC	<i>Luffa cylindrica</i>
LD	Límite de Detección
dMRM	Monitoreo Dinámico de Reacción Múltiple
OD	Oxígeno disuelto
PTAR	Planta de Tratamiento de Agua Residual
PTFE	Politetrafluoroetileno
RBC	Reactor de biodiscos rotatorio
MBBR	Reactor de biopelícula de lecho móvil
SAF	Reactor de biopelícula de lecho sumergido
MBR	Reactor de biopelícula de membrana
TEC	Tecnológico de Costa Rica
TRH	Tiempo de Retención Hidráulica
UCR	Universidad de Costa Rica

Lista de símbolos

Mayúsculas

C	Concentración de oxígeno disuelto en un tiempo determinado
C_a	Concentración en alimentación
C_e	Concentración en descarga
C_{inf}^*	Concentración de oxígeno en el equilibrio a las condiciones de operación
D_L	Difusividad del gas en el líquido
H	Humedad de los soportes
HQ_e	Coefficiente de riesgo en efluentes
F_a	Frecuencia en influentes
F_e	Frecuencia en efluentes
M	Biomasa adherida
P	Puntuación del fármaco
R	Porcentaje de remoción

Minúsculas

d_b	diámetro de burbuja
g	Aceleración gravitacional
k_{La}	Coefficiente global de transferencia de masa del oxígeno en el medio líquido
m_a	masa de soportes húmedos, y antes de ser colonizados
m_d	masa de soportes colonizados secos
m_h	masa de recipiente con soporte no colonizado y húmedo
m_H	Masa promedio de un soporte sin colonizar húmedo
m_s	masa de recipiente con soporte no colonizado y seco
v_G	velocidad superficial del gas
φ_G	retención del gas
μ_L	viscosidad del líquido

Griegas

μ_L	viscosidad del líquido
φ_G	retención del gas

Tabla de Contenidos

Prefacio	I
Agradecimientos	V
Lista de siglas y acrónimos	VII
Lista de símbolos	VIII
Resumen	XV
Abstract	XVI
1. Introducción	1
1.1. Objetivos	2
1.1.1. Objetivo General	2
1.1.2. Objetivos Específicos	2
2. Marco teórico	3
2.1. Fármacos: Contaminantes emergentes en aguas residuales	3
2.1.1. Generalidades	3
2.1.2. Situación en Costa Rica	4
2.2. Diseño de reactores aerobios a escala de laboratorio	5
2.2.1. Despliegue de la Función de Calidad	5
2.2.2. Aireación	7
2.2.3. Otras especificaciones técnicas	8
2.3. Inmovilización de microorganismos	8
2.3.1. Reactores de biopelícula para el tratamiento de agua residual	9
2.3.2. Encapsulamiento de microorganismos en alginato de calcio	13
3. Metodología	15
3.1. Desarrollo de un reactor de biopelícula aerobio con soportes naturales	15
3.1.1. Diseño conceptual	15
3.1.2. Diseño detallado	15
3.1.3. Construcción	15
3.1.4. Puesta en marcha	15
3.2. Remoción de fármacos en agua residual a través de un reactor de biopelícula con soportes naturales	15
3.2.1. Selección de fármacos para estudio	15
3.2.2. Estudio de remoción de fármacos en modo secuencial por lotes	16
3.2.3. Estudio de remoción DQO en modo continuo	20
3.3. Remoción de fármacos en agua residual mediante la inmovilización de lodo aerobio en cápsulas de alginato de calcio	22
3.3.1. Preparación de cápsulas de alginato de calcio	22
3.3.2. Cuantificación de biomasa	22
3.3.3. Determinación de la efectividad de encapsulamiento	23
3.3.4. Evaluación en la remoción de DQO	23
3.3.5. Evaluación en la remoción de fármacos	24
3.3.6. Evaluación de degradación	26
4. Resultados y Discusión	28
4.1. Desarrollo de un reactor de biopelícula aerobio con soportes naturales	28
4.1.1. Diseño conceptual	28

4.1.2. Diseño detallado	35
4.1.3. Construcción	43
4.1.4. Puesta en marcha	46
4.2. Remoción de fármacos en agua residual a través de un reactor de biopelícula con soportes naturales	47
4.2.1. Fármacos de estudio	47
4.2.2. Arranque y remoción de DQO	49
4.2.3. Remoción de fármacos	50
4.2.4. Producción de sólidos	52
4.3. Remoción de fármacos en agua residual mediante la inmovilización de lodo aerobio en cápsulas de alginato de calcio	54
4.3.1. Cápsulas preparadas	54
4.3.2. Remoción DQO	55
4.3.3. Remoción de fármacos	56
4.3.4. Cambio temporal de cápsulas inmovilizadas	59
5. Conclusiones y recomendaciones	63
5.1. Conclusiones	63
5.2. Recomendaciones	64
Referencias bibliográficas	67
A. Apéndice	73
A.1. Herramientas de DFC	73
A.2. Datos experimentales y resultados intermedios	74
A.3. Muestra de cálculo	87
A.4. Código de Matlab: Aireación	88
A.5. Planos de detalle	91

Lista de Figuras

2.1.	Estructura de la Casa de Calidad	6
2.2.	Etapas de formación de biopelícula	10
2.3.	Soportes de biopelícula de filtros percoladores, de izquierda a derecha: anillos plásticos, relleno estructurado plástico y rocas	11
2.4.	Configuraciones de reactores de biopelícula	12
2.5.	Modelo de formación de gel de alginato de calcio.	13
3.1.	Arreglo experimental para la formación de cápsulas de alginato de calcio	22
3.2.	Goteo de disolución de alginato de sodio 2% a través de jeringa de 60 mL	23
3.3.	Arreglo experimental al acoplar el prototipo de reactor de biopelícula desarrollado con un reactor con microorganismos inmovilizados en cápsulas de alginato de calcio en suspensión	25
4.1.	Esponja vegetal	33
4.2.	Diagrama conceptual del prototipo de reactor de biopelícula a escala de laboratorio	35
4.3.	Isométrico de recipiente de aireación	36
4.4.	Dimensiones (en mm) del burbujeador	37
4.5.	Diámetro de burbuja retención del gas, k_La y potencia mínima requerida del soplador según el flujo de aire	38
4.6.	Vistas y dimensiones (en mm) del conducto del efluente	39
4.7.	Corte transversal del prototipo y posición de conductos para trasiego de líquidos	39
4.8.	Bomba Watson-Marlow 114 (Watson-Marlow Limited, 2016)	40
4.9.	Dimensiones (en mm) de unidades de soporte de esponja vegetal	41
4.10.	Dimensiones (en mm) de soporte de biopelícula	42
4.11.	Estructura de apoyo para el soporte de biopelícula	42
4.12.	Tapa y superficie de soporte	43
4.13.	Vista de ajuste de tapas y soporte	44
4.14.	Prototipo de reactor aerobio de biopelícula de lecho sumergido con soportes de esponja vegetal	45
4.15.	Ensamble explosionado	46
4.16.	Componentes relevantes en el maquinado y recipiente de aireación	48
4.17.	Soportes de esponja vegetal preparados	49
4.18.	Vistas del prototipo ensamblado	50
4.19.	Curva de calibración de bomba peristáltica, $y = 0.119 + 1.112 \cdot x$, $R^2=0.997$	51
4.20.	Prototipo en operación	52
4.21.	Estructuras moleculares de fármacos (Royal Society of Chemistry, 2023)	53
4.22.	Aspecto de soportes de esponja vegetal antes y después de operación en prototipo de reactor de biopelícula con soportes naturales	54
4.23.	Color del agua residual de la alimentación y descarga en modo SBR	54
4.24.	Remoción de DQO	55
4.25.	Concentración de fármacos en la alimentación y descarga del prototipo	56
4.26.	Remoción de fármacos	57
4.27.	Cápsulas de alginato de calcio preparadas	57

4.28. Absorbancia de cápsulas de alginato de calcio disueltas en citrato de sodio al 2.5 % tras 5 días de operación en agua de ósmosis estéril	58
4.29. Remoción de DQO al aplicar cápsulas de alginato de calcio inoculadas y no inoculadas con lodo aerobio	58
4.30. Absorbancia de cápsulas de alginato de calcio disueltas en citrato de sodio al 2.5 % tras 7 días de operación en residual sintética ($\lambda = 600$ nm)	59
4.31. Remoción de DQO del prototipo de biopelícula (RLFb) y en serie con un reactor con lodo aerobio inmovilizado en cápsulas de alginato de calcio preparadas en suspensión	59
4.32. Remoción de fármacos en agua residual sintética al aplicar lodo aerobio inmovilizado en cápsulas de alginato de calcio a 200 rpm (DA-A: Abiótico, sin adsorción; DA: Abiótico, con adsorción; DT: Global, con biodegradación)	60
4.33. Aspecto de cápsulas de alginato de calcio preparadas con respecto al tiempo	61
4.34. Tamaño de cápsulas inmovilizadas con lodo aerobio con respecto al tiempo	62
4.35. Absorbancia de cápsulas de alginato de calcio disueltas en citrato de sodio al 2.5 % durante 4 semanas de operación en residual sintética ($\lambda = 600$ nm)	62
A.1. Casa de la Calidad para el desarrollo de un prototipo de reactor de biopelícula a escala de laboratorio	73

Lista de Cuadros

3.1.	Criterios de evaluación para la selección de los fármacos de estudio	16
3.2.	Composición de la disolución de fármacos preparada	17
3.3.	Tiempo de aireación en el arranque y operación de un reactor secuencial por lotes	18
3.4.	Límites de Cuantificación (LC) y Límite de Detección (LD) empleado en el análisis de diferentes fármacos en agua residual	19
3.5.	Composición de agua residual sintética (sin fármacos)	20
3.6.	Composición de disolución de fármacos en metanol para uso en modo continuo	21
3.7.	Tratamientos para la determinación de la efectividad de la inmovilización en las cápsulas preparadas	24
3.8.	Tratamientos en la evaluación del lodo aerobio inmovilizado en cápsulas preparadas con respecto a la remoción de DQO	24
3.9.	Composición de la disolución concentrada de fármacos en metanol	26
3.10.	Ensayo de degradación de cápsulas preparadas	27
4.1.	Requerimientos del cliente para el prototipo y su respectiva valoración para el diseño (5=Alta importancia 3= Mediana importancia y 1=Baja importancia)	29
4.2.	Priorización de requerimientos técnicos en el diseño	31
4.3.	Conflictos entre requerimientos técnicos propuestos y soluciones sugeridas .	32
4.4.	Evaluación de tipos de reactores de biopelícula (+++: Alto, ++: Medio y +: Bajo)(Abdelfattah et al., 2020; Clarivate, 2023; Henze, 2008; Saidulu et al., 2021)	33
4.5.	Pérdidas en el trasiego de la alimentación y descarga	40
4.6.	Especificaciones de la bomba peristáltica Watson-Marlow 114 DV empleadas en el prototipo desarrollado. Adaptado de Eppendorf (2016) y Watson-Marlow Limited (2016)	41
4.7.	Inversión para la construcción	47
4.8.	Propiedades de fármacos relevantes para su remoción en aguas residuales de Costa Rica (Royal Society of Chemistry, 2023)	48
4.9.	Parámetros de producción de sólidos en el prototipo desarrollado en modo continuo	55
4.10.	Tamaño de cápsulas de alginato de calcio con lodo aerobio inmovilizado . .	61
A.1.	Puntuación de la relación entre requerimientos del cliente y requisitos técnicos (10: Alta relación 3:Moderada, 1: Baja relación)	74
A.2.	Masa de unidades de soporte de esponja vegetal en forma de disco y aro . .	74
A.3.	Priorización de fármacos en agua residuales de Costa Rica	75
A.4.	Remoción de DQO en modo continuo	76
A.5.	Concentración de fármacos para la evaluación de su remoción en modo SBR	76
A.6.	Remoción de fármacos en modo SBR	78
A.7.	SST en el efluente del prototipo de biopelícula desarrollado (“sólo FBR”) y el mismo acoplado a un reactor con cápsulas de alginato inmovilizadas en suspensión (“En serie”) en modo continuo	78
A.8.	Medición de masa para la determinación de humedad de esponjas vegetales	79

A.9. Medición de masa para la determinación de biomasa adherida a esponjas vegetales	79
A.10. Absorbancia ($\lambda=600$ nm) en ensayo para la determinación de la efectividad de retención de encapsulamiento	79
A.11. Absorbancia de cápsulas de alginato de calcio disueltas en acético anhídrido 2.5 % y agua residual sintética tras 7 días de incubación en agua residual sintética ($\lambda=600$ nm) en ensayo de remoción de DQO	80
A.12. DQO en la evaluación de su remoción a través de las cápsulas preparadas .	80
A.13. DQO en la comparación de la remoción del prototipo de reactor de biopelícula propuesto (RLFB) y acoplado con un reactor con lodo aerobio inmovilizado en cápsulas preparadas (RIM) en modo continuo	80
A.14. Concentración de fármacos en agua residual sintética en ensayo de remoción con lodo aerobio inmovilizado en cápsulas de alginato de calcio preparadas (A: Alimentación, DA-A: Abiótico sin adsorción en cápsulas, DA: Abiótico, incluyendo adsorción, DT: Remoción global, incluyendo biodegradación) . .	81
A.15. Tamaño de cápsulas de alginato de calcio preparadas durante 4 semanas . .	83
A.16. Absorbancia de cápsulas de alginato de calcio disueltas en acético anhídrido 2.5 % y agua residual sintética durante 4 semanas de incubación ($\lambda=600$ nm)	86
A.17. Medición de volumen y tiempo en la calibración del flujo entregada por una bomba peristáltica	86

Resumen

En Costa Rica se evidenció la ineficacia de las tecnologías de tratamiento de agua residual empleadas para remover fármacos efectivamente, lo que amenaza los ecosistemas y la salud humana. Por lo que en este documento se presenta los hallazgos de la evaluación del uso de reactores con microorganismos inmovilizados para la remoción de fármacos en aguas residuales. Específicamente, se desarrolló un prototipo de reactor aerobio de biopelícula con soportes naturales a escala de laboratorio, a través del diseño, construcción y puesta en marcha. Posteriormente, se evaluó el desempeño del prototipo desarrollado en operación secuencial por lotes para la remoción de fármacos en agua residual. Por otra parte, se evaluó la remoción de fármacos en agua residual a través de lodo aerobio inmovilizado en cápsulas de alginato de calcio, preparadas mediante gelación iónica. Como resultado, se obtuvo un prototipo de reactor aerobio de biopelícula de lecho sumergido con soportes de esponja vegetal a escala de laboratorio de 400 mL de capacidad, costo-razonable y funcional. A través de su uso se observó remoción moderada (50-80 %) de acetaminofén y dimetilxantina y elevada (>80 %) para la doxiciclina, lovastatina y cafeína. Por otra parte, se presentó una limitada remoción (<40 %) de risperidona, cafeína, ketoprofeno, difenhidramina, gemfibrozil y lovastatina, y una remoción moderada (40-55 %) de naproxeno, ofloxacina, acetaminofén y 1,7-dimetilxantina mediante el uso del lodo aerobio inmovilizado en las cápsulas de alginato de calcio preparadas. Se concluye que el prototipo desarrollado tiene el potencial de mitigar el riesgo ecológico provocado por la liberación de residuos de lovastatina, cafeína, doxiciclina, 1,7-dimetilxantina y acetaminofén. Mientras que el encapsulamiento de lodo aerobio en cápsulas de alginato de calcio es un método sencillo que puede reducir la amenaza de la liberación de naproxeno, ofloxacina, acetaminofén y 1,7-dimetilxantina al ambiente, por vertido de aguas residuales.

Palabras clave: Tratamiento de agua residual, remoción de DQO, Remoción de fármacos en aguas residuales, reactor de biopelícula, esponja vegetal, lodo aerobio inmovilizado en cápsulas de alginato de calcio.

Abstract

The ineffectiveness of the wastewater treatment technologies used in Costa Rica to remove pharmaceuticals was demonstrated, which threatens ecosystems and human health. Therefore, this document presents the findings of the evaluation of reactors with immobilized microorganisms for the removal of pharmaceuticals from wastewater. Specifically, a prototype of an aerobic biofilm reactor with natural media was developed at laboratory scale, including the design, construction and startup. Subsequently, the performance of the developed prototype was evaluated in sequential batch operation for the removal of pharmaceuticals from wastewater. On the other hand, the removal of pharmaceuticals from wastewater through aerobic sludge immobilized in calcium alginate capsules, prepared by ionic gelation, was also evaluated. As a result, a prototype of a laboratory-scale, cost-effective and functional 400 mL capacity, submerged-bed biofilm aerobic reactor with loofah media was obtained. It was observed moderate removal (50-80 %) of acetaminophen and dimethylxanthine and high removal (>80 %) of doxycycline, lovastatin and caffeine. On the other hand, limited removal (<40 %) of risperidone, caffeine, ketoprofen, diphenhydramine, gemfibrozil and lovastatin, and moderate removal (40-55 %) of naproxen, ofloxacin, acetaminophen and 1,7-dimethylxanthine were presented by using the aerobic sludge immobilized in the prepared calcium alginate capsules. It is concluded that the developed prototype has the potential to mitigate the ecological risk caused by the release of lovastatin, caffeine, doxycycline, 1,7-dimethylxanthine and acetaminophen residues. While the encapsulation of aerobic sludge in calcium alginate is a simple method that can reduce the threat of naproxen, ofloxacin, acetaminophen and 1,7-dimethylxanthine release into the environment from wastewater discharge.

Keywords: Wastewater treatment, COD removal, Pharmaceutical removal in wastewater, biofilm reactor, Loofa sponge, aerobic sludge immobilized in calcium alginate capsules.

1 Introducción

En las últimas décadas los residuos de fármacos han sido reconocidos como contaminantes de preocupación emergente. En particular, su consumo universal, disposición inapropiada, baja capacidad metabólica humana y su estructura biológicamente activa han ocasionado una pseudo-persistencia en ambientes acuáticos, lo que ha tenido un impacto ecológico sobre los organismos que habitan en ellos. Además, estos contaminantes eventualmente ingresan a la cadena trófica y se bioacumulan, por lo que son un riesgo para la salud humana (Tang et al., 2017).

En el periodo 2018-2019 se detectó la presencia de residuos de fármacos de medio y alto riesgo ecológico en el influente y efluente de Plantas de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) en Costa Rica y se evidenció el deficiente rendimiento de las tecnologías de tratamiento empleadas en el país para la remoción de estos contaminantes (Ramírez-Morales et al., 2020). Por lo que es necesario el desarrollo de tecnologías sostenibles y eficientes para la remoción de residuos de fármacos en aguas residuales.

A nivel mundial, la oxidación avanzada y el uso de carbón activado son los pos-tratamientos más comunes para la remoción de estos contaminantes del agua residual en las plantas de tratamiento. Sin embargo, en comparación a los sistemas de tratamiento biológicos, involucran elevados costos operativos y de inversión, lo cual reduce su sostenibilidad en Latinoamérica y el Caribe (LAC). Por lo que se ha motivado la investigación de estrategias de degradación biológica en el marco de soluciones basadas en la naturaleza (Tang et al., 2017).

En particular, los reactores de biopelícula han demostrado una mayor capacidad para la remoción de fármacos con respecto a las tecnologías convencionales de crecimiento suspendido. Así también, algunos reactores de biopelícula han degradado ciertos fármacos que no son degradados por el proceso de lodos activados, tal como el diclofenaco (Tang et al., 2017).

Sin embargo, las tecnologías de biopelícula comúnmente emplean soportes plásticos, los cuales son materiales procesados de combustibles fósiles (Lewandowski & Boltz, 2011). En la actualidad se requieren nuevas alternativas de materiales con alta disponibilidad y bajo costo para mitigar las repercusiones que genera al ambiente el uso de plásticos. Además, su reemplazo por materiales naturales, que generen menos emisiones de gases de efecto invernadero, podría constituir una medida de mitigación al cambio climático. En Costa Rica la disminución de la dependencia a materiales derivados de combustibles fósiles se alinea a los compromisos ambientales del Gobierno, establecidos en el Acuerdo de París y el Plan Nacional de Descarbonización 2050.

A pesar de ello, la información disponible actualmente en la literatura científica sobre el desempeño de reactores de biopelícula con soportes naturales para la remoción de fármacos en aguas residuales es inexistente o muy escasa (Clarivate, 2023). Por lo que esta propuesta pretende contribuir a rellenar ese vacío.

Asimismo, el desarrollo de tecnologías de biopelícula con soportes naturales tiene el potencial de brindar nuevas oportunidades de valorización de residuos agroindustriales o productos naturales que se puedan generar en Costa Rica, para ser aprovechados en el tratamiento de agua residual. Lo cual puede favorecer la apertura de nuevos mercados locales, y así contribuir a la economía del país.

Por otra parte, la adición de microorganismos (o consorcios) específicos, que cuentan con mayor capacidad de degradación de fármacos, a reactores empleados en el tratamiento de agua residual es una técnica prometedora para mejorar su remoción, esta técnica es conocida comúnmente como bioaumentación. Sin embargo, uno de los principales desafíos en la actualidad para su aplicación en PTAR es retener a los microorganismos dentro del reactor en modo continuo, debido a que comúnmente son arrastrados rápidamente por el efluente o desplazados por otros microorganismos presentes en el reactor (Herrero & Stuckey, 2015).

Sin embargo, la inmovilización de microorganismos selectos puede protegerles del medio externo, retenerles por más tiempo y aumentar la densidad celular, por lo que mejora la eficiencia de la bioaumentación e el tratamiento de agua residual (Herrero & Stuckey, 2015). En particular, el encapsulamiento de microorganismos en una matriz de alginato de calcio es un método de inmovilización de bajo costo y sencillo que tiene el potencial de mejorar la remoción de fármacos a través de bioaumentación.

Con el fin de contribuir al desarrollo de la técnica para la remoción de fármacos en aguas residuales, en este proyecto se pretende evaluar la retención de lodo aerobio en las cápsulas de alginato de calcio y evaluar la remoción de fármacos tras su aplicación. A pesar de que los microorganismos que puedan ser inmovilizados no se hayan aislado por su capacidad de degradar fármacos en agua residual, se obtendrá una línea base como referencia para su comparación y un procedimiento replicable para la inmovilización de microorganismos selectos que se hayan aislado para mejorar la remoción de fármacos. Además, se rellenará vacíos en la literatura científica en cuanto a la evaluación del desempeño de un lodo aerobio inmovilizado para la remoción de fármacos en aguas residuales (Clarivate, 2023).

De este modo, esta investigación aportará a la comprensión y al desarrollo de soluciones más sostenibles en LAC para la remoción de fármacos en aguas residuales. Por lo que contribuirá a reducir la amenaza a la salud pública y el riesgo ecológico provocado por la liberación de estos contaminantes al ambiente.

1.1. Objetivos

1.1.1 Objetivo General

Evaluar el uso de reactores con microorganismos inmovilizados para la remoción de fármacos en aguas residuales

1.1.2 Objetivos Específicos

1. Diseñar un reactor de biopelícula aerobio a escala de laboratorio con soportes naturales
2. Evaluar el desempeño del reactor de biopelícula desarrollado para la remoción de fármacos en aguas residuales
3. Evaluar el desempeño de la inmovilización de microorganismos en cápsulas de alginato de calcio desarrolladas para la remoción de fármacos en aguas residuales

2 Marco teórico

2.1. Fármacos: Contaminantes emergentes en aguas residuales

2.1.1 Generalidades

Los fármacos han sido considerados como “contaminantes emergentes” debido a su persistencia en ecosistemas acuáticos. Los contaminantes emergentes son compuestos traza, no regulados, que pueden tener un impacto dañino sobre la vida terrestre y marina y el bienestar humano. Su detección y monitoreo han sido recientemente desarrollados mediante la contribución de avanzadas técnicas analíticas. Sin embargo, hay una carencia de información respecto a la remoción de los micro-contaminantes a través de tecnologías de tratamiento de agua residual, y además, sobre el impacto ecotoxicológico de estas sustancias sobre cuerpos de agua superficial (Gogoi et al., 2018).

En particular, los fármacos son un conjunto de contaminantes en desarrollo que están siendo amplia y progresivamente empleados para la medicación humana y veterinaria. En la actualidad el uso de fármacos es fundamental para dar lugar y mantener a una población saludable. Sin embargo, se ha presentado una preocupación creciente por su descarga en cuerpos de agua superficial, debido a que son compuestos ubicuos, persistentes y sustancias biológicamente activas. Comúnmente se encuentran en aguas superficiales, aguas subterráneas, en el agua potable y lodos, en concentraciones de partes por trillón (ng/L) a partes por millón (g/L) (Gogoi et al., 2018; Verlicchi et al., 2012).

Los fármacos suelen ser liberados al ambiente a través de diversas rutas, tales como agua residual doméstica, descargas hospitalarias, disposición inadecuada del fabricante, plantas de tratamiento de lodos y PTAR. Una vez que el fármaco se haya administrado, se metaboliza en varios grados y sus metabolitos excretados o compuestos parentales inalterados pueden someterse a una modificación mayor debido a procesos físicos, químicos y biológicos en infraestructura de saneamiento y en cuerpos de agua receptores. En particular, el agua residual municipal es considerada como una de las principales fuentes de emanación de fármacos. Comúnmente estas no están equipadas para remover fármacos complejos, ya que fueron diseñadas con el principal propósito de remover carbono, nitrógeno y fósforo y microorganismos, fácilmente o moderadamente biodegradables. Además, algunas de sus propiedades físico-químicas, como solubilidad, volatilidad, absorción, adsorción, polaridad y estabilidad, cambian en gran medida, como respuesta a su baja concentración en el agua residual, lo que repercute en su comportamiento durante el tratamiento, y así en la eficiencia de su remoción (Verlicchi et al., 2012).

A pesar de la presencia de fármacos en concentraciones relativamente bajas, los residuos de estos pueden provocar efectos adversos sobre la salud humana y animal, ya que eventualmente ingresan y se acumulan en la cadena trófica por su liberación al ambiente. Además, sus repercusiones a largo plazo sobre la salud humana son aún desconocidas (Yang et al., 2017).

Así también, su consumo mundial, disposición inapropiada, baja capacidad metabólica humana y su estructura biológicamente activa ha ocasionado una pseudo-persistencia en ambientes acuáticos, lo que ha tenido un impacto ecológico sobre los organismos que habitan en ellos (Yang et al., 2017). Además, se prevé que el continuo envejecimiento y

mejoramiento de la calidad de vida de la población aumente el consumo de fármacos en las próximas décadas, lo que agravaría el problema (Verlicchi et al., 2012).

Los fármacos se pueden clasificar según su función o actividad biológica en: (a) antibióticos, (b) analgésicos / anti-inflamatorios, (c) beta-bloqueadores (d) reguladores lipídicos (e) hormonas (f) fármacos psiquiátricos (g) antihipertensivos (h) antidiabéticos (i) diuréticos (j) receptores antagonistas (k) beta-antagonistas y (l) agentes de contraste. Algunos antibióticos (entre ellos, eritromicina y ofloxacina), fármacos psiquiátricos (incluyendo el diazepam y carbamazepina), analgésicos y antiinflamatorios (tal como el ibuprofeno, diclofenaco y naproxeno) y reguladores lipídicos (entre ellos, ácido fenofibrico, fenofibrato, y gemfibrozil) se han reconocido como los fármacos de mayor frecuencia y persistencia en cuerpos de agua, además pueden suponer el mayor riesgo ambiental, por lo que sería conveniente su monitoreo y remoción (Verlicchi et al., 2012).

2.1.2 Situación en Costa Rica

En Costa Rica actualmente no hay legislación para el control y monitoreo de residuos de fármacos en aguas residuales. El Decreto Ejecutivo 33601 “Reglamento de Vertido y Reúso de Aguas Residuales” corresponde a la normativa a través del cual se regula el manejo de aguas residuales en Costa Rica, tanto para vertido como reúso. Dicho reglamento incluye el control únicamente de los siguientes parámetros universales: DBO, DQO, pH, Sólidos suspendidos, Sólidos sedimentables y grasas/aceites. Mientras que algunas fuentes relevantes para la liberación de fármacos al ambiente, tal como descargas de aguas residuales provenientes de actividades veterinarias, hospitalarias y otras de la salud humana, incluyen únicamente los siguientes parámetros de medición adicionales: coliformes fecales, color, fenoles y metales pesados (Poder Ejecutivo de la República de Costa Rica, 2007). Por lo tanto, surge la necesidad de una actualización de la política asociada basada en la evidencia científica en el país.

En general, la ocurrencia de fármacos en Costa Rica sigue tendencias similares observadas en otras regiones del mundo (Ramírez-Morales et al., 2020; Spongberg et al., 2011). Spongberg et al. (2011) identificaron fármacos en aguas superficiales y costeras de Costa Rica, en las cuales se incorporaron áreas que reciben y no vertidos de aguas residuales y esorrentía. En particular, los fármacos más detectados fueron doxiciclina, sulfadimetoxina, ácido salicílico, triclosan y cafeína. Por otro lado, los fármacos que se encontraron en mayor concentración fue la cafeína (1.1 mg L^{-1}), doxiciclina ($74 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), ibuprofeno ($37 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), gemfibrozil ($17 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), acetaminofén ($13 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) y ketoprofeno ($10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$).

Ramírez-Morales et al. (2020) estudiaron la ocurrencia de fármacos en Plantas de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) de Costa Rica. Se muestreó agua residual de 11 PTAR en diferentes regiones del territorio nacional, 9 de ellas estaban compuestas de tecnologías aerobias de crecimiento suspendido, 1 de digestión aerobia seguida de biofiltración en humedal y 1 emplea ultrafiltración y nanofiltración. Los fármacos más frecuentemente encontrados fueron la cafeína, 1,7-dimetilxantina, acetaminofén, ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno y gemfibrozil. Mientras tanto, se identificó que la liberación de risperidona, lovastatina, difenhidramina, trimetoprima y fluoxetina constituye un alto riesgo ecológico por su presencia en efluentes de PTAR. Además, se encontró que el 96 % de los efluentes muestreados presentan alto riesgo para los organismos acuáticos debido a la ecotoxicidad de los fármacos que liberan al ambiente, por lo que el agua residual no es tratada adecuadamente para la remoción efectiva de estas sustancias.

2.2. Diseño de reactores aerobios a escala de laboratorio

En el diseño de un reactor biológico se pretende establecer las condiciones ideales a través de una estructura física para que se dé la transformación deseada en donde pueden intervenir una o más reacciones biológicas. La eficiencia del diseño dependerá de la consideración de una serie de condiciones, entre las cuales la transferencia de masa y energía se consideran comúnmente entre las más críticas (Chaur Bernal, 2005; Mandenius, 2016).

En general, el desarrollo de un reactor aerobio a escala de laboratorio se puede abordar a través de un modelo lineal, el cual puede ser simplificado en dos fases: (i) Fase conceptual y preliminar y (ii) Fase de detalle. En la fase conceptual y preliminar se analiza el problema identificado y se evalúan alternativas o principios de solución frente a los requisitos, especificaciones y necesidades planteadas. Mientras tanto, en la fase de detalle se definen las especificaciones del producto y se realizan actividades como la elaboración de planos de detalle (Chaur Bernal, 2005).

2.2.1 Despliegue de la Función de Calidad

La satisfacción de las necesidades y expectativas de los consumidores comúnmente es de máxima importancia durante el desarrollo de un producto. Por lo que muchas compañías han adoptado herramientas para mejorar la calidad de sus productos y satisfacer a sus consumidores. Entre ellas se encuentra el Despliegue de la Función de Calidad, la cual ha sido incorporada por compañías alrededor del mundo, tales como DuPont, General Motors, IBM y Texas Instruments, y en una variedad de sectores, como el diseño de software, cuidado personal, obras civiles y en la industria automotriz y aeroespacial (Natee et al., 2016).

El Despliegue de la Función de la Calidad (DFC) es un método que traduce los requerimientos del consumidor en objetivos de diseño. En general, se trata de un proceso de planeamiento enfocado en la calidad para el diseño, desarrollo e implementación de un nuevo producto, conducido por las necesidades y valores del consumidor (Kiran, 2017; Maritan, 2015).

A través de la aplicación del DFC se favorecen condiciones “ganar-ganar” entre los desarrolladores y usuarios finales de un producto. Este enfoque identifica prioridades, lo que reduce el tiempo de desarrollo y mejora el planeamiento, a parte de maximizar la satisfacción de los consumidores. Además, apoya la toma de decisiones objetivas y disminuye las modificaciones en un proyecto (Kiran, 2017; Maritan, 2015; Natee et al., 2016).

En particular, la matriz más reconocida para valorar la capacidad del diseño en reflejar las necesidades y expectativas del consumidor, en el método DFC, se conoce como “Casa de la Calidad” (Kiran, 2017). La estructura de la Casa de la Calidad se muestra en la Figura 2.1.

En la primer sección, ubicada a la izquierda, se colocan las necesidades y expectativas de los consumidores sobre el producto, por lo que comúnmente se le llama “Voz del Consumidor”. En la región superior se indican características de ingeniería, también llamadas “descriptores técnicos”, necesarias para satisfacer la Voz del Consumidor. En la parte central de la Casa de la Calidad se relacionan los requerimientos del consumidor y las características de ingeniería. Por lo que, a partir de estas relaciones, se traducen los requerimientos del consumidor en objetivos técnicos. La sección triangular superior consiste en una matriz de correlación entre los descriptores técnicos, la cual permite identificar si dos de ellos están en conflicto o se apoyan entre sí (Natee et al., 2016).

Adicionalmente, en la base se puede elaborar una evaluación comparativa técnica con otras alternativas del producto, con el fin de identificar como estas abordan los requerimientos

del consumidor. Mientras que, en la región derecha, es posible mostrar una evaluación comparativa de las alternativas del producto basada en la Voz del Consumidor, que refleja su percepción sobre ellas (Berk & Berk, 2000).



Figura 2.1. Estructura de la Casa de Calidad. Adaptado de Kiran (2017)

Para construir la Casa de Calidad, mostrada en la Figura 2.1, se siguen los siguientes pasos (Kiran, 2017; Natee et al., 2016):

1. Listar los requerimientos de los consumidores
2. Listar las características de ingeniería
3. Interrelacionar cada par de descriptores técnicos
4. Relacionar los requerimientos de los consumidores con las características de ingeniería
5. Elaborar las evaluaciones competitivas
6. Priorizar los requerimientos de los consumidores
7. Priorizar los descriptores técnicos

Las calificaciones de importancia brindan una guía para la toma de decisiones, especialmente cuando los requerimientos de los consumidores están en conflicto con los descriptores técnicos. La calificación de importancia se obtienen al ponderar cada requerimiento del consumidor, asignar un valor numérico a las relaciones indicadas en la parte central de la Casa de Calidad y multiplicar ambos valores. Es importante recalcar que las calificaciones de importancia no tienen un significado por sí solas. Estas únicamente permiten elucidar la importancia relativa de un atributo con respecto a otro, y valorar su importancia en relación a la calidad de todo el producto (Berk & Berk, 2000).

2.2.2 Aireación

Uno de los principales objetivos del tratamiento aerobio de aguas residuales es la oxidación de la materia orgánica, la cual se lleva a cabo a través de reacciones en las cuales el oxígeno es el aceptor final de electrones. Por lo tanto, la transferencia de masa gas-líquido es fundamental para suministrar el oxígeno requerido para el metabolismo aerobio de los microorganismos (Rittmann, 1987).

La transferencia de oxígeno se puede describir a través de la ecuación (2.1). Como se puede notar, la rapidez de la transferencia de masa depende directamente del área interfacial, la cual es inversamente proporcional al diámetro de burbuja y directamente proporcional a la retención del gas, tal y como se indica en la ecuación (2.2) (Dudley, 1995; Treybal, 1997).

$$\frac{dC}{dt} = k_L a (C_{inf}^* - C) \quad (2.1)$$

$$a = \frac{6 \cdot \varphi_G}{d_b} \quad (2.2)$$

Donde C es la concentración de oxígeno disuelto (OD) en el tiempo t , $k_L a$ es el coeficiente global de transferencia de masa del oxígeno en el medio líquido, C_{inf}^* es la concentración de oxígeno en el equilibrio a las condiciones de operación, φ_G es la retención del gas y d_b es el diámetro de burbuja.

De acuerdo con Doran (2013a) el tamaño de las burbujas de aire es una de sus características principales en los reactores biológicos. Para un cierto volumen de gas, el área interfacial es mayor si el gas se dispersa en una gran cantidad de burbujas pequeñas en comparación a unas pocas y de gran tamaño. Por lo que alcanzar un elevado grado de dispersión del gas es uno de los principales objetivos del diseño de reactores biológicos. Sin embargo, para fluidos no newtonianos viscosos, es recomendable el uso de burbujas de gran tamaño.

Por otra parte, la retención del gas consiste en la fracción del volumen ocupado por él con respecto al volumen total, y depende principalmente de la velocidad superficial del gas (ecuación (2.3)) (Treybal, 1997). Mientras tanto, Dudley (1995) indica que una aproximación razonable para la estimación del coeficiente de transferencia de masa líquida, descrita por la ecuación (2.4).

$$\varphi_G = \frac{v_G}{0.3 + 2 \cdot v_G} \quad (2.3)$$

$$k_L = 2 \cdot \sqrt{\frac{D_L}{\pi} \sqrt{\frac{v_G \cdot g}{\mu_L}}} \quad (2.4)$$

Donde v_G es la velocidad superficial del gas, k_L es el coeficiente de transferencia de masa en la fase líquida, μ_L es la viscosidad del líquido, g es la aceleración gravitacional y D_L corresponde a la difusividad del gas en el líquido.

Mientras que la demanda de oxígeno está ampliamente influida por las especies microbianas que predominan dentro del sistema, su fase de crecimiento y la naturaleza de la fuente de carbono que se suministra al medio (Doran, 2013a).

La formación de burbujas en la mayoría de los reactores biológicos se lleva a cabo en un burbujeador (o difusor), cuyo propósito es permitir el contacto íntimo entre el gas y el líquido. En particular los difusores puntuales liberan la corriente de gas únicamente en un punto dentro del recipiente. Otros tipos de difusores, tales como los de anillo, liberan la corriente de gas en diferentes puntos del recipiente de forma simultánea (Drewnowski et al., 2019).

Los difusores de orificio consisten en tubos, usualmente en forma de cruz o anillo, al que se le realizan agujeros. En este caso los agujeros individuales deben ser lo suficientemente grandes para evitar atascamientos (Doran, 2013a).

Por otra parte, los difusores porosos de metal, cerámica y vidrio sinterizado se emplean usualmente en reactores biológicos de pequeña escala y presentan gran resistencia al flujo. Además son especialmente vulnerables al atascamiento por el crecimiento de células a través de los sus pequeños poros. Finalmente, los eyectores o difusores puntuales consisten en un único tubo abierto o parcialmente cerrado que proveen una corriente puntual de burbujas de aire (Doran, 2013a; Drewnowski et al., 2019).

2.2.3 Otras especificaciones técnicas

Es deseable que los materiales de construcción de reactores biológicos a escala de laboratorio soporten ciclos repetidos de esterilización con vapor y de limpieza. Así también, los materiales en contacto con el medio líquido no deben ser reactivos ni absorbentes. Por lo tanto, comúnmente se utiliza vidrio de laboratorio y acero inoxidable (Doran, 2013b).

Por otra parte, según Doran (2013b) el aire seco tiene capacidad para arrastrar agua en forma de vapor en la salida de un reactor en procesos continuos, por lo que las pérdidas por evaporación pueden ser significativas. Por tal motivo, es recomendable que el aire que se alimentará al reactor biológico se humidifique previamente o se coloque un condensador a la salida del reactor, para regresar el vapor y cualquier componente volátil al líquido de reacción.

2.3. Inmovilización de microorganismos

La inmovilización de microorganismos consiste en el confinamiento de células microbianas viables en una cierta posición en el espacio, de tal forma que se limita su libertad para migrar sin perder sus propiedades catalíticas a través del uso repetido y continuo (Suzana et al., 2013). La región en la cual se encuentran inmovilizados los microorganismos consiste en tres componentes: las células, material de soporte y un líquido que rellena el resto del espacio (Willaert, 2009).

Las células inmovilizadas tienen algunas ventajas en comparación a las células libres, tal como alta densidad celular por volumen de reactor, simplifica el proceso de separación del medio de reacción, reduce la pérdida de biomasa en la operación en continuo, reducción de la fase de adaptación (fase *lag*), protección del ambiente exterior y reduce la vulnerabilidad de las células inmovilizadas por contaminación. Por otra parte, la mayor resistencia a la transferencia de masa, la cual podría reducir la tasa de reacción, y la estabilidad mecánica limitada de algunos materiales de soporte son algunas de sus principales desventajas (Corporación para la Investigación de la Corrosión et al., 2018; Duarte et al., 2013; Saxena et al., 2021; Willaert, 2009).

Los microorganismos pueden inmovilizarse de forma natural (métodos pasivos) o mediante un procedimiento artificial (métodos activos). Los métodos pasivos se basan en la tendencia natural de los microorganismos de adherirse a superficies y colonizarlas. Mientras tanto,

en los métodos activos se aplican floculantes, atrapamiento químico o encapsulamiento en geles (Suzana et al., 2013).

Así también, la inmovilización de los microorganismos puede ser reversible e irreversible (Corporación para la Investigación de la Corrosión et al., 2018). El encapsulamiento es un método irreversible y activo de inmovilización a través del cual los microorganismos se encuentran flotando dentro del espacio encerrado por las paredes de una cápsula. Las paredes son semipermeables, por lo que permiten el flujo del sustrato y nutrientes a través de ella. Por otra parte, la adsorción es un método reversible y pasivo, a través del cual los microorganismos se adhieren naturalmente a la superficie de un material y crecen sobre ella. En la adsorción los microorganismos tienen contacto directo con el sustrato y los nutrientes (Suzana et al., 2013). A continuación se detallará sobre la aplicación de adsorción en reactores de biopelícula para el tratamiento de agua residual y sobre el encapsulamiento de microorganismos en alginato de calcio.

2.3.1 Reactores de biopelícula para el tratamiento de agua residual

En general, el tratamiento biológico del agua residual ordinaria pretende transformar la materia biodegradable, disuelta y particulada, en productos adecuados, incorporar los sólidos suspendidos en un flóculo o biopelícula y, en algunos casos, remover compuestos traza específicos. En los procesos de biopelícula, los microorganismos que transforman la materia orgánica y nutrientes del agua residual están adheridos a un material de soporte. La remoción de la materia orgánica ocurre mediante la circulación del agua residual a través del crecimiento adherido, conocido como biopelícula, y generalmente está limitada por la transferencia de masa. De este modo, usualmente las bacterias que se encuentran en las capas externas son las que contribuyen a la remoción global del sustrato. El material de soporte comúnmente se trata de rocas y una amplia variedad de plásticos y otros materiales sintéticos, que pueden estar sumergidos o no (Cervantes, 2006; Tchobanoglous et al., 2003).

Biopelículas

Una biopelícula es una comunidad de microorganismos sésiles adheridos a una superficie sólida y embebidos en una matriz viscosa extracelular. A pesar de que en la industria y medicina usualmente son perjudiciales, en la biotecnología son ampliamente utilizadas en tecnologías para mejorar la calidad del agua y para la producción de recursos renovables (Costa et al., 2017; Rittmann, 2018).

Las biopelículas proporcionan condiciones favorables para el desarrollo de los microorganismos que las componen, entre ellos: (i) constituyen un medio excelente para la retención de microorganismos (ii) en ellas se definen gradientes estables de tipos de microorganismos y concentración del sustrato y (iii) pueden constituir un medio de protección para los microorganismos sensibles que puedan verse perjudicados ya sea por pérdida o inhibición (Rittmann, 2018; Vanloosdrecht, 1993).

Por otra parte, Rittmann (2018) menciona que las biopelículas no pueden degradar cualquier sustrato, especialmente aquellos con baja solubilidad en agua y sustancias orgánicas recalcitrantes. Los sustratos insolubles son menos degradados por los microorganismos en medios acuosos. Por otro lado, si se trata de una sustancia con una estructura recalcitrante a la biodegradación, su acceso por las enzimas se ve obstaculizado por lo que hay poca o ninguna biotransformación, lo cual se agrava si el compuesto provoca un efecto tóxico o inhibitorio sobre los microorganismos.

La formación de una biopelícula involucra fenómenos biológicos, químicos y físicos. La aglomeración de microorganismos sobre una superficie de un material incluye (i) fijación inicial sobre ella (adsorción y deposición), (ii) la consolidación de la interfase entre el

microorganismo y la superficie, comúnmente a través de la formación de un polímero que une al microorganismo con ella (iii) la formación de micro-colonias sobre la superficie y (iv) la diferenciación de dichas micro-colonias dentro de las biopelículas maduras embebidas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (Fratamico et al., 2009; Garrett et al., 2008).

La Figura 2.2 muestra las etapas de la formación de la biopelícula. En general, la adhesión de células sobre una superficie de un material puede ser descrita a partir de las siguientes etapas: la etapa primaria o de unión (reversible) y la etapa secundaria o de cierre (irreversible). Específicamente, ocurre la formación de una capa acondicionadora, adhesión reversible e irreversible y la posterior liberación de células para una colonización subsecuente (Fratamico et al., 2009; Garrett et al., 2008). A continuación se indican algunos factores que tienen un efecto considerable sobre el desarrollo de las biopelículas:

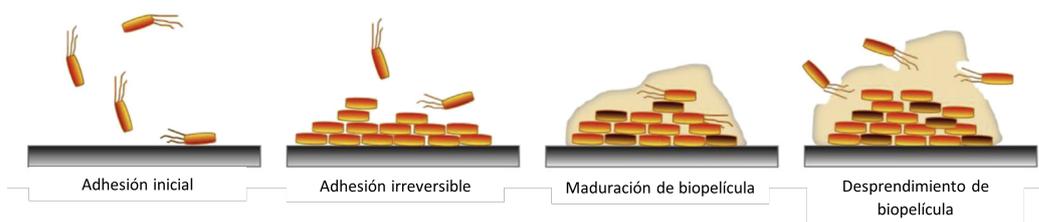


Figura 2.2. Etapas de formación de biopelícula. Adaptado de Costa et al. (2017)

- *Nutrientes.* Las biopelículas se pueden formar en regiones con alta y baja concentración de nutrientes. Sin embargo, estas suelen ser más abundantes, gruesas y densas en ambientes con una alta concentración de nutrientes (Fratamico et al., 2009).
- *pH.* El pH óptimo para la producción de polisacáridos depende individualmente de cada microorganismo, sin embargo, para la mayoría de las bacterias es cercano a 7 (Garrett et al., 2008).
- *Temperatura.* La temperatura afecta las propiedades adhesivas de las células con la superficie abiótica. En general, se ha demostrado que la interacción inicial entre las bacterias y la superficie del material se favorecen al disminuir la temperatura, facilitando la adhesión (Garrett et al., 2008).
- *Naturaleza de la superficie.* La cantidad de células que se fijan sobre la superficie de un objeto se ve afectada principalmente por la aspereza y las propiedades fisicoquímicas de la superficie. Las superficies ásperas facilitan la formación de la biopelícula en sus etapas más tempranas, pero no tiene un efecto significativo sobre las etapas posteriores del desarrollo de la biopelícula. Con respecto a la naturaleza fisicoquímica de la superficie, por lo general los microorganismos se fijan más rápidamente a superficies hidrofóbicas y no polares en comparación a superficies hidrofílicas y polares (Fratamico et al., 2009).
- *Efectos hidrodinámicos.* Las biopelículas que se desarrollan bajo la influencia de tasas de corte superiores producen una cantidad mayor de sustancias extracelulares poliméricas, empleadas con el fin de estabilizar su estructura física. Así también se ha observado que cuanto mayor sea el caudal de agua aumenta el número de células dentro de la biopelícula, especialmente si la cantidad de materia orgánica es baja (Fratamico et al., 2009).

Clasificación

Filtro percolador. Los filtros percoladores (FP) consisten en un tanque relleno de un soporte de biopelícula permeable a través del cual se percola el agua residual aplicada desde arriba hasta el drenaje (Figura 2.4a). La tecnología es aerobia debido a que circula el aire a través del soporte, usualmente mediante ventilación natural. Mientras tanto, la aplicación del agua residual se puede realizar a través de un distribuidor rotatorio (Tchobanoglous et al., 2003; Von Sperling, 2007).

Los filtros percoladores en el tratamiento secundario usualmente se diseñan con cargas orgánicas de $0.1-1.6 \text{ kg DBO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, dependiendo del medio de relleno empleado. Comúnmente se emplea roca o un relleno plástico aleatorio o estructurado (Figura 2.3). Usualmente el proceso incluye recirculación para mantener la humedad requerida del medio (Von Sperling, 2007).



Figura 2.3. Soportes de biopelícula de filtros percoladores, de izquierda a derecha: anillos plásticos, relleno estructurado plástico y rocas. Adaptado de Von Sperling (2007)

Reactor de biodiscos rotatorio. El reactor de biodiscos rotatorio o RBC (por sus siglas en inglés, *Rotating Biological Contactors*) consiste en discos cilíndricos plásticos colocados sobre un eje horizontal, el cual rota parcialmente sumergido en el agua residual (Figura 2.4b). Usualmente está seguido por una unidad de separación sólido-líquido para la remoción de los sólidos desprendidos de la biopelícula. El eje horizontal suele rotarse mediante transmisiones mecánicas. La rotación suministra aireación y además control del crecimiento de la biopelícula (Lewandowski & Boltz, 2011).

Reactor de biopelícula de lecho fijo sumergido. El reactor de biopelícula de lecho fijo sumergido (SAF, por sus siglas en inglés, *Submerged Aerobic Filter*) consiste en un tanque con un soporte de biopelícula sumergido en el medio líquido, a través del cual circula el aire (Figura 2.4c). Usualmente este tipo de reactor se diseña principalmente para oxidación biológica. La aireación se suministra bajo el soporte de biopelícula (Lewandowski & Boltz, 2011).

El soporte de biopelícula puede ser más pesado que el agua residual, por lo que se coloca sobre una estructura de apoyo, o más liviano, por lo que se construye una estructura superior que lo mantiene fijo (Henze, 2008). Usualmente se emplea un relleno estructurado (Figura 2.3), comúnmente encontrado en los filtros percoladores (Lewandowski & Boltz, 2011).

Reactor de biopelícula de membrana. En el reactor de biopelícula de membrana (MBR, por sus siglas en inglés *Membrane Biofilm Reactor*) consiste en una membrana semipermeable en la que se desarrolla una biopelícula, lo cual facilita la transferencia de masa entre los sustratos en el agua residual y la biopelícula en ambos sentidos, desde su superficie como desde su base (Figura 2.4d). Esta tecnología se basa en la filtración de membrana provocada por un gradiente de presión. Generalmente el material de la membrana está compuesto por polímeros o cerámicas (Deowan et al., 2015; Henze, 2008).

Reactor de biopelícula de lecho móvil. El reactor de biopelícula de lecho móvil (MBBR, por sus siglas en inglés, *Moving Bed Biofilm Reactor*) consiste en un sistema trifásico (gas-

líquido-sólido, en operación aerobia) o bifásico (líquido-sólido, en operación anaerobia) que contiene soportes de biopelícula plásticos y flotantes que se mueven libremente al interior del reactor, por lo que se requiere agitación mecánica (operación anaerobia) o aireación (operación aerobia) para mover los soportes (Figura 2.4e). La tecnología incorpora un reactor de mezcla completa con su respectivo unidad de separación sólido-líquido (di Biase et al., 2019; Lewandowski & Boltz, 2011).

Lewandowski y Boltz (2011) indican que en su configuración aerobia se aplica a baja presión a través de difusores ubicados en la parte inferior del tanque. El OD del líquido de reacción de un MBBR terciario suele mantenerse entre $4-6 \text{ g m}^{-3}$. Por otra parte, es recomendable su operación con un tiempo de retención hidráulico (TRH) mayor a 30 min. Además, la carga orgánica de operación suele estar dentro del intervalo de $1-60 \text{ g DBO m}^{-2} \text{ d}^{-1}$.

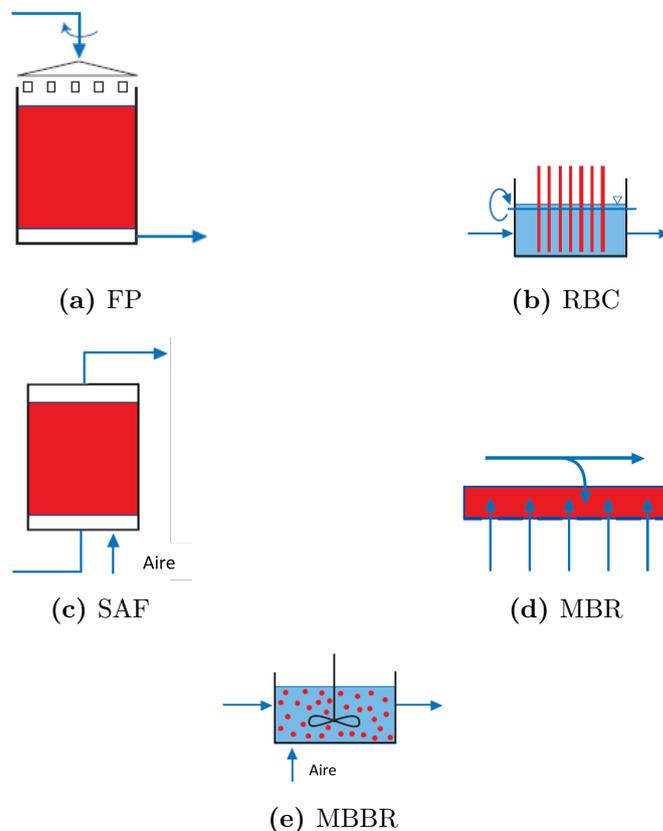


Figura 2.4. Configuraciones de reactores de biopelícula. Adaptado de Henze (2008)

Remoción de fármacos en agua residual

La remoción de acetaminofén, diclofenaco, gemfibrozil, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno y ácido salicílico, en un reactor de lecho móvil de biopelícula aerobio con soportes de esponja de poliuretano, fue principalmente atribuida a su biodegradación. En particular, se removió efectivamente ($>80\%$) el ibuprofeno, el ácido salicílico y el naproxeno, lo cual se le atribuyó a la presencia de grupos funcionales altamente donadores de electrones, como el $-OH$, en sus moléculas. En particular, los soportes móviles de biopelícula tienen un papel importante en la biodegradación del diclofenaco. Se demostró que la remoción de este contaminante es superior en un MBBR en comparación a un MBR o lodos activados (Luo et al., 2014).

Mientras tanto, Casas et al. (2015) evaluaron la remoción de fármacos del efluente de un hospital al emplear tres reactores MBR en serie. Los autores encontraron que la degradación de la mayoría de los fármacos sigue una cinética de primer orden, por lo que la remoción fue mayor en el primer reactor.

De forma similar, la concentración inicial de los fármacos tiene un efecto considerable sobre su tasa de remoción. Según Fatehifar et al. (2018) la remoción del diclofenaco e ibuprofeno fue mayor conforme incrementó su concentración inicial en un reactor de lecho móvil de biopelícula, en el intervalo 2 - 10 mgL⁻¹. Cuanto mayor sea la concentración de los fármacos se incrementa el acceso de los microorganismos a estas moléculas, lo que facilita su biodegradación.

Por otra parte, la evaluación de filtros percoladores para la remoción de fármacos no ha sido muy amplia. Ahmed et al. (2017) han reportado baja eficiencia de remoción (<70 %) en un filtro percolador de Reino Unido para 55 fármacos, mientras que losodos activados tuvo un mejor desempeño para la remoción de dichos contaminantes.

Por el contrario, los MBR son capaces de remover eficientemente una gran variedad de fármacos en el agua residual. En particular, la membrana favorece la retención de compuestos emergentes, lo que favorece su remoción. Los principales mecanismos de remoción encontrados en la MBR son la biodegradación y adsorción (Ahmed et al., 2017).

2.3.2 Encapsulamiento de microorganismos en alginato de calcio

Los alginatos son copolímeros lineales de ácido manurónico y ácido glucurónico y sus propiedades varían según su fuente. Al exponerse a iones de Ca⁺² ocurre un proceso de gelación iónico a través del cual se obtiene rápidamente un gel de alginato de calcio. Los iones de Ca⁺² provocan el alineamiento y unión de las cadenas del alginato, con lo cual se forma gradualmente una red tridimensional, tal y como se ejemplifica en la Figura 2.5 (Challen & Moorhouse, 2011). El alginato de calcio es biocompatible, biodegradable, natural, hidrofílico, tiene bajo costo y alta disponibilidad. Sin embargo, este presenta algunas desventajas, tal como baja resistencia mecánica, transferencia de masa limitada, tamaño de poro elevado y degradación del gel (Saxena et al., 2021).

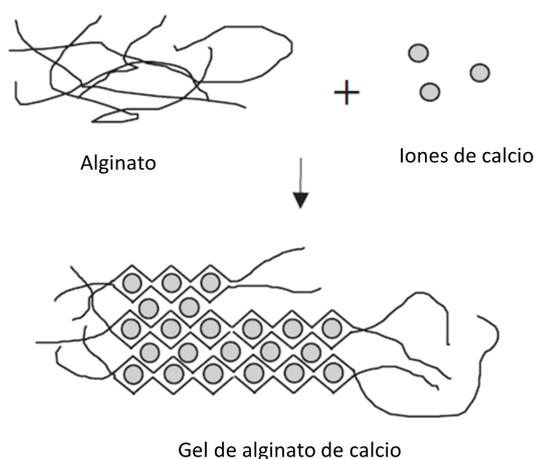


Figura 2.5. Modelo de formación de gel de alginato de calcio. Adaptado de Challen y Moorhouse (2011)

La inmovilización de microorganismos en cápsulas de alginato de calcio se realiza al verter una solución de alginato previamente inoculada a través de una jeringa con una aguja sobre una disolución con Ca⁺² (Duarte et al., 2013; Rusu et al., 2022; Saxena et al.,

2021; Torre et al., 1998). Usualmente se emplea una disolución de alginato de sodio con una concentración entre 0-8 % (m/v) y una disolución de alginato de CaCl_2 0.05-2.0 % (Cassidy et al., 1996).

La biodegradación del sustrato mediante la inmovilización de microorganismos en cápsulas de alginato de calcio ocurre a través de la adsorción de los nutrientes en la superficie de las cápsulas, lentamente las sustancias penetran la cápsulas y finalmente son absorbidos por las células. Las cápsulas con alta concentración de células conducen a la liberación de las mismas, lo cual reduce el desempeño en la remoción de nutrientes (Saxena et al., 2021).

La aplicación de microorganismos inmovilizados para la remoción de fármacos no ha sido estudiada extensamente. Darabi et al. (2022) aplicaron *Aspergillus niger* inmovilizado en alginato de calcio para mejorar la remoción de la carbamazepina tras haber aplicado ozonación al agua residual. Se mejoró la remoción del carbamazepina desde un 70 a 91 % al aplicar tiempos de incubación de 24-96 h para una concentración inicial del fármaco de 15 ppm. Específicamente, la inmovilización del *Aspergillus niger* contribuyó a remover del 40-64 % de la carbamazepina presente en el efluente de la ozonación.

Por otra parte, Rusu et al. (2022) estudió la remoción de lactato de etacridina al aplicar bioabsorbentes derivados de la inmovilización de *Saccharomyces pastorianus* en cápsulas de alginato de calcio. Los resultados demostraron la remoción de 93 % del fármaco cuando su concentración inicial fue de 2 mg L^{-1} a un $\text{pH}=4$.

3 Metodología

3.1. Desarrollo de un reactor de biopelícula aerobio con soportes naturales

El desarrollo del prototipo involucró el i) diseño conceptual, ii) diseño detallado, iii) construcción y iv) puesta en marcha.

3.1.1 Diseño conceptual

La identificación de requisitos técnicos prioritarios, que satisfagan las necesidades y expectativas del usuario final, se determinó mediante la aplicación del Despliegue de la Función de Calidad (DFC). Por otro lado, la elección de la configuración del reactor de biopelícula se realizó mediante la evaluación de configuraciones posibles, cuya información se extrajo a través de una revisión bibliográfica, con respecto a criterios económicos, técnicos y de investigación. Mientras que la elección del material natural de soporte se llevó a cabo a través de la comparación de materiales naturales al emplear información obtenida mediante revisión bibliográfica en revistas académicas, libros, entre otros. El diagrama conceptual del prototipo se realizó a través de AutoCAD 2021.

3.1.2 Diseño detallado

El diseño detallado involucró la escogencia de los componentes del prototipo acorde a los requisitos técnicos prioritarios obtenidos a través de la metodología de DFC. Además se determinó la aireación requerida a través de una simulación teórica en Matlab 2020, cuyo algoritmo se puede ver en el Apéndice A.4. La elaboración de los respectivos planos constructivos se llevó a cabo a través de SOLIDWORKS.

3.1.3 Construcción

La construcción se desarrolló según el diseño obtenido en la fase anterior. En particular, el maquinado de componentes metálicos se llevó a cabo en el Laboratorio Técnico de Mecánica de Precisión de la Escuela de Física de la UCR y el ensamble se llevó a cabo en el CICA.

3.1.4 Puesta en marcha

La puesta en marcha del prototipo construido se llevó a cabo en modo continuo. La actividad involucró la calibración de las bombas peristálticas del influente y efluente en los rangos probables de operación, la inspección visual para identificación de mejoras, la medición del pH de la alimentación mediante un pH-metro digital y la medición del OD del efluente a través de un medidor digital de OD.

3.2. Remoción de fármacos en agua residual a través de un reactor de biopelícula con soportes naturales

3.2.1 Selección de fármacos para estudio

Los fármacos para el análisis se priorizaron basado en su relevancia en PTAR de Costa Rica. La evaluación se aplicó sobre los fármacos seleccionados, según una puntuación estimada a través de la ecuación (3.1), y sobre los cuales el CICA tiene experiencia analítica. En particular, según los parámetros indicados en la ecuación (3.1), se consideró más relevante para la selección el coeficiente de riesgo en el efluente, por lo que tiene un mayor peso en la priorización. Los fármacos incluidos en la evaluación son los siguientes: cafeína, ibuprofeno, difenhidramina, gemfibrozil, dimetilxantina, naproxeno, risperidona,

acetaminofén, ketoprofeno, ofloxacino, doxiciclina, albendazol, diclofenaco, trimetoprima, azitromicina, claritromicina, fluoxetina, codeína, ciprofloxacino, lovastatina, sulfametoxazol, carbamazepina, pseudoefedrina, cefalexina, enrofloxacina, bacitracina, atenolol, metronidazol, clindamicina, sertralina, ácido mefenámico, indometacina y lorazepam.

Según lo indicado en la ecuación (3.1), cada sustancia se evaluó según su coeficiente de riesgo en el efluente, frecuencia en el influente y en el efluente de PTAR, reportados por Ramírez-Morales et al. (2020). Los parámetros se determinaron a partir del análisis de fármacos en aguas residuales de PTAR distribuidas en Costa Rica, entre agosto de 2018 y noviembre de 2019. Los criterios para determinar la puntuación de cada fármaco se muestran en el cuadro 3.1.

$$P_i = 2 \cdot HQ_e + F_a + F_e \quad (3.1)$$

Donde P es la puntuación del fármaco i , HQ_e es su coeficiente de riesgo en efluentes, F_a corresponde a su frecuencia en influentes y F_e su respectiva frecuencia en efluentes.

Cuadro 3.1. Criterios de evaluación para la selección de los fármacos de estudio

Criterio	Puntuación		
	10	5	1
F_a	Mayor a 60 %	Entre 40-60 %	Menor a 40 %
F_e	Mayor a 40 %	Entre 20-40 %	Menor a 20 %
HQ_e	Mayor a 100	Entre 1-100	Menor a 1

3.2.2 Estudio de remoción de fármacos en modo secuencial por lotes

Agua residual de alimentación

Durante las primeras semanas de operación del reactor se empleó como alimentación el agua residual proveniente del efluente de la PTAR del TEC. La DQO promedio del agua residual de alimentación fue de $59 \pm 31 \text{ mg L}^{-1}$. El efluente de la PTAR del TEC contiene una baja cantidad de sólidos que reduce el riesgo de taponamiento en el soporte de biopelícula durante su primeras etapas de formación.

Posteriormente, y hasta el final de su operación, el reactor se alimentó con agua residual proveniente de la entrada de la laguna anaerobia, la cual fue previamente filtrada por gravedad empleado papel filtro cualitativo. Lo cual aumenta la representatividad del estudio en LAC, al evaluar el reactor como tratamiento secundario, el tratamiento no es ampliamente empleado en la región en la actualidad.

En los últimos días de operación, al agua de alimentación se le agregó una alícuota de 1 mL de la disolución preparada de fármacos por cada litro de agua residual alimentada al reactor. La disolución con fármacos se agregó tras haberse formado la biopelícula para climatizar a los microorganismos dentro del reactor sin inhibir el crecimiento temprano de la biopelícula.

Preparación de disolución con fármacos

Para la evaluación de la remoción de fármacos a través del uso del reactor de biopelícula con soportes naturales, se preparó 20 mL de una disolución con fármacos (o disolución intermedia), de la cual se vertió 1 mL por cada litro de agua residual de alimentación que ingresa al reactor. Se utilizó metanol como disolvente.

La disolución de fármacos se preparó a partir de disoluciones patrón de cada fármaco en metanol. La composición de la disolución intermedia se muestra en el Cuadro 3.2.

Cuadro 3.2. Composición de la disolución de fármacos preparada

Fármaco	Concentración (mg L⁻¹)
Cafeína	98.5
Ibuprofeno	5.00
Difenhidramina	0.989
Gemfibrozil	5.00
Dimetilxantina	9.95
Acetaminofén	20.0
Naproxeno	4.97
Lovastatina	0.991
Risperidona	0.996
Ketoprofeno	0.980
Ofloxacino	0.998
Doxiciclina	5.00

Preparación de soporte de biopelícula

Se utilizó esponja vegetal como soporte de biopelícula. La esponja vegetal empleada es comercializada como esponja vegetal “Agata” para uso en baño y producida por Pastes Agata, S.A. en la Garita de Alajuela, Costa Rica. La esponja vegetal fue sumergida en agua de consumo humano durante 12 h, sustituida por agua fresca durante 3 veces, y secada a temperatura ambiente por 24 h.

Posteriormente, a partir de las esponjas vegetales secas, se prepararon discos de un diámetro 2.5 cm, sin y con un agujero (Figura 4.17). El agujero se realizó con una perforadora sobre la mitad de los discos de esponja vegetal preparados.

Arranque y operación en modo secuencial por lotes

La operación del reactor ocurrió en Cartago, Costa Rica, desde el 22 de febrero de 2021 hasta el 08 de abril de 2021. La operación se llevó a cabo dentro del prototipo desarrollado, con un volumen de 400 mL, y el cual cuenta con una pajilla de acero inoxidable para el transporte de aire y agua residual entre el reactor y el exterior. El aire fue suministrado por un compresor de 2 W, recomendado para la aireación de acuarios de menor 1.5 L, marca XiLong, modelo AP-004.

Inicialmente, se inoculó durante 24 h con 200 mL de lodo y 200 mL de agua residual de alimentación. El lodo fue extraído previamente de la primera laguna facultativa de la PTAR del TEC en febrero de 2021. La inoculación se realizó con 2.08 ± 0.02 g (base húmeda) de discos y aros de esponja vegetal en suspensión.

Tras las 24 h de inoculación, se retiró el lodo. Luego, se realizó el montaje de los discos de esponja vegetal inoculados sobre un soporte y aquellas que contaron con agujero fueron atravesadas por alguna pajilla de acero inoxidable. Una vez ensamblado el sistema, se inició la operación en modo secuencial.

La operación en secuencial consistió en tres etapas: alimentación, aireación y descarga. En el Cuadro 3.3 se indica los tiempos de aireación. El tiempo de alimentación y descarga se mantuvo en 15 min, al inicio y final de cada etapa, respectivamente. La impulsión del agua residual entre el reactor y exterior se llevó a cabo mediante el uso de una bomba peristáltica de flujo variable Fisherband™. Según los ciclos indicados en el Cuadro 3.3, desde el 1 al 7 el reactor se alimentó con el efluente de la PTAR del TEC, luego desde el 8-17 se alimentó con el influente de la laguna anaerobia. Sin embargo, a partir del ciclo 11 se alimentó con el influente de la laguna anaerobia del PTAR con fármacos inyectados,

tal y como se describió en la Sección 3.2.2.

Cuadro 3.3. Tiempo de aireación en el arranque y operación de un reactor secuencial por lotes

Ciclo	Tiempo de aireación (h)
1	168
2	168
3	120
4	120
5	120
6	120
7	72
8	48
9	48
10	48
11	12
12	12
13	12
14	12
15	12
16	12
17	12

Evaluación de remoción de fármacos

La remoción de fármacos se determinó a partir de la cuantificación de los fármacos de interés al inicio y al final de cada ciclo a partir de la ecuación (3.2). Para este ensayo se tomaron en cuenta los últimos 3 ciclos indicados en el Cuadro 3.3.

$$R = \frac{C_a - C_e}{C_a} \cdot 100 \% \quad (3.2)$$

Se tomó una muestra de aproximadamente 250 mL del agua residual al inicio y final de cada ciclo del reactor. Cada muestra se almacenó en una botella de vidrio ámbar de 1 L, previamente lavada con acetona y agua desionizada. Las muestras fueron transportadas y almacenadas a una temperatura entre 0 y 4 °C hasta el día del análisis para la cuantificación de fármacos.

Por otra parte, con el fin de preservar las muestras, se adicionó una cantidad determinada de EDTA-Na hasta obtener una concentración de 0.1 % m/v. Luego cada muestra acidificó con HCl 12 mol L⁻¹ a un pH de ~ 2.5.

La cuantificación de los fármacos en las muestras de agua residual se llevó a cabo en el CICA, y basada en la respectiva metodología analítica reportada en Ramírez-Morales et al. (2020). Para ello, las muestras fueron filtradas en filtros de membrana de poliamida de 0.45 µg. Los filtros de extracción en fase sólida fueron condicionados al lavarlos con 6 mL de metanol seguido de 6 mL de EDTA (0.1 % m/v, pH=2.5). Las muestras recolectadas se pasaron a través de los cartuchos de extracción en fase sólida al vacío y se dejaron secar durante 20 min.

La fracción de las muestras retenida en los cartuchos se eluyó con 6 mL de acetonitrilo:metanol (1:1) y 6 mL de metanol:diclorometano (1:1) al vacío y se dejaron secar durante 5 min. El eluato fue concentrado a sequedad y reconstituido a un volumen de 2.00 mL con

una disolución de acetonitrilo:agua (1:1) con ácido fórmico (0.1 % v/v) y filtrado en un microfiltro de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0.45 μg en viales ámbar de cromatografía.

La concentración de los fármacos en el agua residual se determinó a través de cromatografía líquida de alto rendimiento (UPLC 1290 Infinity LC, Agilent Technologies, CA, USA), acoplada a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (6460, Agilent Technologies, CA, USA). La separación cromatográfica se realizó mediante el uso de una columna Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 (100 mm \times 2.1. diámetro interno, tamaño de partícula 2.7 μg , Agilent Technologies) y dos fases móviles: A) ácido fórmico en agua (0.1 % v/v) y B) ácido fórmico en metanol (0.1 % v/v).

Para el análisis el flujo de la fase móvil fue de 0.3 mL min⁻¹ bajo las siguientes condiciones: 3 min a 30 % de B, posteriormente un gradiente lineal por 15 min hasta 100 % de B, 4 min con el 100 % de B, luego un descenso hasta el 30 % de B en 0.10 min y finalmente 5 min al 30 % B. El volumen de inyección fue de 20 μL y la temperatura del horno fue de 40 °C.

La espectrometría de masas se realizó en monitoreo dinámico de reacción múltiple (dMRM, por sus siglas en inglés, *Dynamic Multiple Reaction Monitoring*) y según las especificaciones indicadas en Chin-Pampillo et al. (2015). El espectrómetro de masas empleó una fuente de ionización por *electrospray* que operó a las siguientes condiciones: 300 °C fue la temperatura del gas, flujo de gas de 7 L min⁻¹, nebulizador a 45 psi, el gas envolvente estuvo a una temperatura de 250 °C y fluyó a 11 L min⁻¹, el voltaje capilar fue de 3500 V (para el positivo y negativo), el voltaje de boquilla fue de 500 V (para el positivo y negativo) y el calentador MS1 y MS2 estuvo a 100 °C. Los límites de cuantificación y detección para cada analito se indican en el Cuadro 3.4.

Cuadro 3.4. Límites de Cuantificación (LC) y Límite de Detección (LD) empleado en el análisis de diferentes fármacos en agua residual

Analito	LC ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Caféina	0.20	0.10
Difenhidramina	0.25	0.13
Gemfibrozil	0.59	0.31
Dimetilxantina	0.21	0.11
Acetaminofén	0.26	0.13
Naproxeno	0.44	0.23
Lovastatina	0.21	0.10
Risperidona	0.20	0.11
Ketoprofeno	0.17	0.09
Ofloxacino	0.33	0.17
Doxiciclina	0.18	0.09
Naproxeno	0.44	0.23

Medición de DQO

El análisis DQO de parámetros del agua residual de alimentación se realizó en el laboratorio del Programa de Ingeniería Ambiental de la Escuela de Química del Tecnológico de Costa Rica. La cuantificación se realizó a través del método espectrofotométrico a partir del empleo del producto de LOVIBOND “Cuvette test COD Vario 0 - 150 mg/l” y un fotómetro de LOVIBOND.

3.2.3 Estudio de remoción DQO en modo continuo

Arranque y Operación

Se realizó la operación del prototipo de reactor desarrollado en modo continuo durante dos periodos distintos desde el 01 de noviembre hasta el 15 de diciembre de 2021 (Etapa 1) y posteriormente desde el 12 de enero de 2022 hasta el 09 de marzo de 2022 (Etapa 2). La operación del reactor se llevo a cabo en el Laboratorio de Biorremediación del CICA en la UCR.

En ambas etapas el reactor se alimentó con agua residual sintética, cuya composición se formuló basado en lo reportado por Zhu et al. (2015). La composición del agua residual sintética empleada se muestra en el Cuadro 3.5. En la Etapa 2 se agregó 50 μL por cada litro de agua residual sintética preparada de una disolución de fármacos cuya composición se indica en el Cuadro 3.6, la cual tiene fármacos en proporciones relativas entre sí similares a las encontradas en aguas residuales en Costa Rica, según lo reportado por Ramírez-Morales et al. (2020).

Los soportes naturales se prepararon como se indicó en la Sección 3.2.2. En la Etapa 1 se empleó 9 discos y 8 aros de soportes naturales. Mientras tanto, para la Etapa 2, se empleó el mismo número de discos y aros, los cuales sumaron una masa total (base húmeda) de 3.733 ± 0.002 g.

Posteriormente, el prototipo de reactor fue inoculado durante 12 h con 200 mL de lodo y 200 mL de agua residual sintética preparada anteriormente. El aire fue suministrado por un compresor de 2 W, recomendado para la aireación de acuarios de menor 1.5 L, marca XiLong, modelo AP-004. Por otra parte, el lodo provino de la primera laguna facultativa de la PTAR del TEC.

Luego, el prototipo de reactor se conectó al módulo de control automático BioFlo®120 de Eppendorf a través del cual se controló el flujo de bombeo del influente y efluente y la aireación. Durante la operación el reactor operó con un TRH de 14 h y un flujo de aire $0.09 \text{ m}^3/\text{h}$, tanto en la Etapa 1 como en la Etapa 2. El arreglo experimental se ilustra en la Figura 4.20a.

Cuadro 3.5. Composición de agua residual sintética (sin fármacos)

Componente	Concentración (mg L^{-1})
Glucosa	400
NH_4Cl	240
KH_2PO_4	19
CaCl_2	30
FeSO_4	2.49
$\text{MnCl} \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$	0.28
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$	0.39
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$	0.44
$\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$	0.50

Medición de DQO

En la Etapa 1 se midió la DQO del influente y efluente del prototipo durante 21 días, con el fin de monitorear el arranque y evaluar el desempeño en remoción de DQO. La determinación de la DQO se realizó en el Laboratorio de Calidad de Aguas del CICA a través de digestión ácida en sistema de reflujo cerrado y espectrometría UV-Vis, según lo indicado en el método 5220 D “Closed Reflux, Colorimetric Method” de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA, por sus siglas en inglés *American Public Health*

Cuadro 3.6. Composición de disolución de fármacos en metanol para uso en modo continuo

Fármaco	Concentración (mg L⁻¹)
Cafeína	2059
Ibuprofeno	153
Gemfibrozil	122
Dimetilxantina	212
Acetaminofén	386
Naproxeno	222
Doxiciclina	111
Ketoprofeno	1.02
Lovastatina	1.07
Difenhidramina	1.07
Ofloxacina	1.01
Risperidona	1.04

Administration), edición 23. El correspondiente LD es de 15 mg/L y el LC es de 30 mg/L.

Determinación de SST

Se determinó los SST del efluente del prototipo desarrollado durante la Etapa 2 a través del método gravimétrico. Para ello se hizo pasar 100 mL del efluente a través de un filtro de microfibra de vidrio de 1.2 µm de poro, previamente seco, lavado y pesado en balanza analítica. Posteriormente, se puso a secar a 105 °C en estufa durante 2 días, y luego se midió su masa en balanza analítica. El blanco se realizó con 100 mL de agua destilada.

Cuantificación de biomasa adherida

Se cuantificó la biomasa adherida a los soportes en la Etapa 2. La biomasa adherida se calculó según las siguientes ecuaciones:

$$M = \frac{m_d - m_a \cdot (1 - H)}{m_a \cdot (1 - H)} \quad (3.3)$$

$$H = \frac{m_h - m_s}{m_H} \quad (3.4)$$

Donde M es biomasa adherida, m_d es masa de soportes colonizados secos, m_a es masa de soportes húmedos, y antes de ser colonizados, H es la humedad de los soportes. Por otra parte, en el cálculo de la humedad, m_h es masa de recipiente con soporte no colonizado y húmedo, m_s es masa de recipiente con soporte no colonizado y seco y m_H es la masa promedio de un soporte sin colonizar húmedo.

La medición de masa se realizó en balanza analítica. La estimación de la biomasa adherida se realizó en el CICA. Los soportes colonizados se emplearon tras haber concluido la Etapa 2, y se secaron en estufa a 105 °C durante 24 h.

Por otra parte, la determinación de humedad de los soportes se realizó por duplicado en el Laboratorio del Programa de Ingeniería Ambiental del TEC. La masa de soportes se midió antes y después de su secado, el cual se realizó en estufa a 70 °C durante 5 días.

3.3. Remoción de fármacos en agua residual mediante la inmovilización de lodo aerobio en cápsulas de alginato de calcio

3.3.1 Preparación de cápsulas de alginato de calcio

La preparación de las cápsulas de alginato de calcio se llevó a cabo en el Laboratorio CENIBiot del Centro Nacional de Alta Tecnología (CeNAT-CONARE). En general, se prepararon al verter por goteo una disolución de alginato de sodio al 2% sobre una disolución en agitación de CaCl_2 0.2 M dentro de una cámara de flujo laminar a temperatura ambiente. La relación de volumen de la disolución de alginato de sodio al 2% con respecto a la de CaCl_2 fue 1:2. Cabe mencionar que la cristalería y disoluciones empleadas fueron esterilizadas en autoclave de laboratorio previo a su uso. El arreglo experimental se ilustra en la Figura 3.1.

Para preparar cápsulas “inoculadas”, es decir, aquellas con microorganismos inmovilizados, se adicionó previamente una alícuota de lodo a la disolución de alginato de sodio al 2% hasta una concentración de 1% v/v. El lodo empleado se extrajo de la primera laguna facultativa de la PTAR del TEC en julio de 2021. Posteriormente, la disolución resultante se filtró por gravedad a través de algodón, con el objetivo de reducir la cantidad de sólidos de un tamaño que pueda causar alguna obstrucción durante el vertido.

La disolución de alginato de sodio al 2% fue vertida a través de una punta de micropipeta de 1 mL e impulsada a 0.6 L/h a lo largo de una manguera flexible mediante el uso de una bomba peristáltica ECOLINE de Ismatec. La disolución de CaCl_2 se mantuvo en agitación a 125 rpm.

Tras haber vertido la disolución de alginato de sodio al 2%, la disolución en la cual se forman las cápsulas se mantuvo en agitación a 125 rpm durante 15 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se almacenó durante 2 h en refrigeración a 4 °C. Luego, se recuperaron las cápsulas al pasar la disolución a través de un colador metálico y se lavaron con abundante agua de ósmosis estéril. Finalmente, las cápsulas lavadas se dejaron en reposo sobre el colador durante aproximadamente 1 h.



Figura 3.1. Arreglo experimental para la formación de cápsulas de alginato de calcio

3.3.2 Cuantificación de biomasa

La biomasa se cuantificó indirectamente a través de la medición espectrofotométrica UV-Vis a $\lambda=600$ nm del líquido donde se encuentra suspendidas. La medición de cada réplica se realizó por triplicado.

En particular, para determinar la biomasa dentro de las cápsulas preparadas se empleó un método basado en el reportado por Saxena et al. (2021). Para lo cual previamente se

disolvió 2.0 g de las cápsulas en 25 mL de una de disolución de citrato de sodio al 2.5 % m/v en agua de ósmosis. La disolución se facilitó a través de la aplicación de agitación magnética durante 1 h.

Al medir la biomasa suspendida en el líquido sobrenadante se empleó agua de ósmosis como blanco. Por otro lado, se utilizó la disolución de citrato de sodio al 2.5 % en agua de ósmosis cuando se midió la biomasa inmovilizada dentro de las cápsulas preparadas.

3.3.3 Determinación de la efectividad de encapsulamiento

Se realizó un ensayo de comparación de las cápsulas inoculadas y sin inocular en un medio de agua de ósmosis estéril. El propósito del ensayo fue evaluar la efectividad de retención de los microorganismos en las cápsulas preparadas. Además, se tuvo como propósito determinar si hay una diferencia significativa en la retención de microorganismos según el tiempo de gelación.

Para ello, se prepararon las cápsulas basado en el procedimiento descrito en el Apartado 3.3.1, se modificó en cuanto a que el medio de vertido e impulsión fue una jeringa, tal y como se muestra en la Figura 3.2, con una velocidad de vertido de aproximadamente 14 mL/h, y en algunos tratamientos se utilizó un tiempo de almacenamiento en frío (tiempo de gelación) de 15 h, tal y como se indica en el Cuadro 3.7. Posteriormente, se distribuyó las cápsulas en cada unidad en agua de ósmosis estéril hasta una concentración promedio de 173 ± 18 g/L. La distribución del tratamiento se dividió como se muestra en el Cuadro 3.7.

Luego, se incubaron los tratamientos a temperatura ambiente durante 7 días en agitación a 120 rpm en un agitador orbital de *Thermo Scientific*. Tras la incubación se cuantificó la biomasa según el método descrito en el Apartado 3.3.2. El análisis estadístico de datos se realizó a través de Minitab® 18.1.



Figura 3.2. Goteo de disolución de alginato de sodio 2 % a través de jeringa de 60 mL

3.3.4 Evaluación en la remoción de DQO

Se ejecutó un ensayo para evaluar el crecimiento de los microorganismos dentro de las cápsulas preparadas y la remoción de DQO resultante en el agua residual sintética. Por lo tanto, se preparó las cápsulas tal y como se describe en el Apartado 3.3.1. Luego, se preparó las unidades de cada tratamiento según lo indicado en el Cuadro 3.8. Se colocó en promedio 29.49 ± 0.07 g en 50 mL de agua residual sintética, preparada, la cual se formuló se describe en el Cuadro 3.5.

Posteriormente, se incubó durante 7 días a temperatura ambiente y en agitación a 200 rpm en un agitador orbital de *Thermo Scientific*. Se tomó las respectivas muestras del agua

Cuadro 3.7. Tratamientos para la determinación de la efectividad de la inmovilización en las cápsulas preparadas

ID	Inoculación	Tiempo de gelación (h)
IC1	Sí	2
IC2	Sí	2
IL1	Sí	15
IL2	Sí	15
NC1	No	2
NC2	No	2
NL1	No	15
NL2	No	15

residual sintética y las cápsulas antes y después de la incubación para la determinación de DQO en el medio líquido y la cuantificación de biomasa dentro de las cápsulas.

Cuadro 3.8. Tratamientos en la evaluación del lodo aerobio inmovilizado en cápsulas preparadas con respecto a la remoción de DQO

ID	Inoculación
I1	Sí
I2	Sí
N1	No
N2	No

Por otra parte, se evaluó la remoción global de DQO en serie del prototipo de reactor de biopelícula desarrollado acoplado a un reactor con lodo aerobio inmovilizado en cápsulas de alginato de calcio. Para ello se empleó realizó el montaje del prototipo de reactor de biopelícula tal y como se describe en el Apartado 3.2.3.

Mientras tanto, la inmovilización de microorganismos en las cápsulas de alginato de calcio se realizó según lo indicado en el apartado 3.3.1. La concentración de cápsulas empleadas en el tratamiento fue de 25 % v/v en agua residual sintética dentro de un frasco de 1 L. Las cápsulas se suspendieron mediante agitación magnética a 200 rpm.

El acoplamiento en serie se puede observar en la Figura 3.3. El sistema operó en modo continuo con un TRH=14 h.

La cuantificación de DQO del medio líquido se realizó en el laboratorio del Programa de Ingeniería Ambiental de la Escuela de Química del TEC. La cuantificación se realizó a través del método espectrofotométrico a partir del empleo del producto de LOVIBOND “Cuvette test COD Vario 0 - 150 mg/l” y un fotómetro de LOVIBOND . La ecuación empleada para determinar la remoción corresponde a la ecuación (3.2). Por otra parte, la cuantificación de biomasa dentro de las cápsulas se realizó a través del procedimiento descrito en el Apartado 3.3.2.

3.3.5 Evaluación en la remoción de fármacos

Se evaluó la remoción de fármacos seleccionados mediante el uso de microorganismos inmovilizados en las cápsulas de alginato de calcio. La remoción se estimó según la ecuación (3.2). Se empleó tres tratamientos para determinar su aporte en la remoción de los fármacos de interés: “Global” en los cuales se cuantificó la remoción global de fármacos, “Adsorción” a través del cual se excluye el efecto por biodegradación y “Abiótico” el cual



Figura 3.3. Arreglo experimental al acoplar el prototipo de reactor de biopelícula desarrollado con un reactor con microorganismos inmovilizados en cápsulas de alginato de calcio en suspensión

permite identificar el aporte por otros factores abióticos tales como luz, evaporación, entre otros. Cada tratamiento contó con tres réplicas.

Las cápsulas de alginato se prepararon según lo indicado en el Apartado 3.3.1. En los tratamientos de “Adsorción” y “Global” se agregó en promedio 20.72 ± 0.07 g de cápsulas en 25 mL de agua residual sintética con fármacos. A diferencia de las cápsulas empleadas en los tratamientos de “Adsorción”, las usadas en los tratamientos “Global” fueron inoculadas según el procedimiento descrito en el Apartado 3.3.1. El agua residual sintética con fármacos se preparó al seguir el procedimiento indicado en el Apartado 3.2.3, y al adicionar 1 mL de una disolución con fármacos en metanol por cada litro de agua residual sintética, antes de ser esterilizada. La composición de la disolución de fármacos en metanol se detalla en el Cuadro 3.9.

Posteriormente, todos los tratamientos fueron incubados durante 7 días a temperatura ambiente y con agitación a 200 rpm a través de un agitador orbital de *Thermo Scientific*. Se tomó muestras del medio líquido antes y después de la incubación para su análisis de fármacos. Antes de la incubación se almacenó una muestra del agua residual sintética de alimentación con fármacos en una botella ámbar, previamente lavados con agua desionizada y acetona. Por otra parte, el medio líquido tras la incubación se almacenó en viales ámbar, previamente lavados con agua desionizada y acetona.

Para la preservación de las muestras, se adicionó EDTA ácido a una concentración de 0.1 % m/v, y posteriormente se agregó una gota de una disolución de NaOH 10 M, para favorecer la solubilidad del EDTA ácido. Luego, se ajustó el pH de las muestras almacenadas a un valor promedio de 2.51 ± 0.08 . Finalmente, las muestras se almacenaron a -20 °C hasta el

día de su análisis. Los fármacos se cuantificaron tal y como se describe en el Apartado 3.2.2.

Cuadro 3.9. Composición de la disolución concentrada de fármacos en metanol

Fármaco	Concentración (mg/L)
Difenhidramina clorhidrato	1076
Gemfibrozil	998
Lovastatina	1062
Cafeína	1043
Ibuprofeno	1014
Dimetilxantina	1020
Acetaminofén	1060
Naproxeno	1001
Risperidona	579
Ketoprofeno	1034
Ofloxacino	1142

3.3.6 Evaluación de degradación

Se realizó un ensayo con el objetivo de evaluar la durabilidad de las cápsulas con microorganismos inmovilizados tras haber transcurrido 4 semanas. Por lo tanto, se preparó las cápsulas, tal y como se indica en el Apartado 3.3.1, y se distribuyeron los tratamientos tal y como se indica en el Cuadro 3.10. En cada unidad se empleó una masa de cápsulas promedio de 11.94 ± 0.44 . Posteriormente, se adicionó 25 mL de agua residual sintética estéril a cada réplica, preparada según lo indicado en el Apartado 3.2.3.

Los tratamientos se incubaron durante 4 semanas a temperatura ambiente y en agitación a 200 rpm en un agitador orbital de *Thermo Scientific*. Cada semana se retiró unidades, según como se describe en el Cuadro 3.10, para la medición de biomasa inmovilizada, inspección visual y medición de tamaño.

El tamaño de cápsulas se midió con un vernier con una resolución de 0.001 cm. El número total de observaciones tomadas durante la medición de tamaño fue de 76, donde a cada réplica se le realizó al menos 7 mediciones. Por otra parte, la inspección visual de las cápsulas durante su incubación se realizó a través de un estereoscopio y se tomó fotografías a través la cámara de un celular Xiaomi P10. Finalmente, la cuantificación de biomasa inmovilizada se determinó según lo indicado en el Apartado 3.3.2. El análisis estadístico de datos se realizó a través de Minitab® 18.1.

Cuadro 3.10. Ensayo de degradación de cápsulas preparadas

ID	Categoría	Semana de análisis
I1A	Inoculadas	1
I1B	Inoculadas	
N1A	No Inoculadas	
N1B	No Inoculadas	
I2A	Inoculadas	2
I2B	Inoculadas	
I3A	Inoculadas	3
I3B	Inoculadas	
I4A	Inoculadas	4
I4B	Inoculadas	
N4A	No Inoculadas	
N4B	No Inoculadas	

4 Resultados y Discusión

4.1. Desarrollo de un reactor de biopelícula aerobio con soportes naturales

En el diseño de un reactor biológico se pretende establecer las condiciones ideales a través de una estructura física para que se dé la transformación deseada en donde pueden intervenir una o más reacciones biológicas. En este capítulo se detalla el proceso de diseño, construcción y puesta en marcha de un reactor de biopelícula aerobio con soportes naturales.

4.1.1 Diseño conceptual

Identificación de necesidades y expectativas

Identificación del cliente

El prototipo que se diseñará fue encargado por el Dr. Carlos Rodríguez Rodríguez, coordinador del Laboratorio de Biorremediación del CICA de la UCR, para su uso en investigación en ese laboratorio. Por este motivo, el personal del Laboratorio de Biorremediación (llámese coordinador, investigadores y asistentes) será identificado en adelante como “el usuario final”.

El Laboratorio de Biorremediación se encarga del diseño y evaluación de procesos biológicos para la remoción de contaminantes en el ambiente. En los últimos años surgió el interés de evaluar procesos biológicos en operación continua para la remoción de fármacos, lo que motivó al planteamiento de esta investigación.

Para efectuar la evaluación de procesos biológicos, el laboratorio cuenta con recipientes de un volumen igual y mayor a 1 L y módulos de control de bioprocesos BioFlo® 120 de Eppendorf. Sin embargo, el tamaño de los recipientes disponibles genera un costo de operación mayor al deseado para evaluar procesos en modo continuo. Por este motivo, se desea un recipiente de reacción (o tanque de aireación), que pueda ser integrado con alguno de los módulos de control de bioprocesos disponible, y que genere un menor costo de operación para ser empleado como un biorreactor en modo continuo.

Determinación de las necesidades del usuario final

Se identificó los requerimientos del usuario final con respecto al prototipo a través de una entrevista semiestructurada al coordinador de Laboratorio de Biorremediación. Los requerimientos especificados, y su valoración, se muestran en el Cuadro 4.1.

Determinación de los requisitos técnicos

A partir de las necesidades del usuario final mostrados en el Cuadro 4.1, se proponen requerimientos técnicos en el diseño para satisfacerlas. Los requerimientos técnicos identificados se enlistan a continuación:

- **Uso de materiales no tóxicos.** Es fundamental que el producto no perjudique la salud de los usuarios, de este modo se facilita su manejo. Además, es importante evitar materiales que puedan inhibir los procesos biológicos, para garantizar su estudio robusto y confiable.

Por otra parte, el uso de materiales no tóxicos genera ahorros en el costo de inversión y de operación y mantenimiento del dispositivo. El manejo responsable de un

Cuadro 4.1. Requerimientos del cliente para el prototipo y su respectiva valoración para el diseño (5=Alta importancia 3= Mediana importancia y 1=Baja importancia)

Requerimiento	Ponderación
Bajo costo de inversión (por debajo de 100 mil CRC)	10
Bajo costo operativo	10
No tóxico	10
Operación aerobia	10
Facilidad de inspección	10
Vida útil mayor a un año	3
Flexibilidad de operación	3
Hermético	3
Simplicidad de ensamblaje	3
Autoclavable	1

producto con riesgos para la salud implica una inversión adicional y un aumento del costo operativo, los cuales se evitarían al emplear materiales no tóxicos.

- **Empleo de un volumen mínimo de recipiente** La disminución del volumen del recipiente podría generar ahorros en la inversión y en los costos operativos, al reducir la cantidad de material para su construcción, operación y mantenimiento. Además, el uso de un recipiente de menor tamaño podría facilitar su manipulación e inspección.

Sin embargo, es importante garantizar que el volumen del recipiente permita su aplicación al conectarse al módulo de control de bioprocesos BioFlo© 120 de Eppendorf. Por lo que el volumen del recipiente debe estar por encima de aquel que permita el estudio con el mínimo flujo que suministra las bombas peristálticas del módulo para el estudio a un tiempo de retención deseado.

- **Uso de componentes con alta disponibilidad.** El uso de componentes de alta disponibilidad reduce la cantidad de recursos requeridos para el desarrollo del prototipo, lo cual genera un ahorro en el costo de inversión y, cuando sea requerida su reposición, también en el costo operativo . Además, así hay mayor probabilidad de una rápida continuidad del sistema en caso de falla y favorece su potencial de reusabilidad para otras investigaciones.
- **Implementación de un burbujeador eficiente.** El metabolismo aerobio tiene un papel relevante en la degradación de contaminantes del agua residual. Por lo tanto, es importante equipar al reactor de un dispositivo que transfiera oxígeno hacia su interior, para mantener un ambiente predominantemente aerobio. En esta investigación se estudiará la degradación de contaminantes en el agua residual a través de condiciones aerobias, por lo que es necesario que el OD se mantenga por encima de 3 mg/L (Dias et al., 2018). Sin embargo, el bajo costo de inversión deseado limita las alternativas de burbujeadores por emplear.
- **Empleo de un recipiente transparente.** El recipiente transparente facilita la inspección durante el ensamblaje y operación del prototipo. Además, posibilita la obtención de apreciaciones visuales de los procesos biológicos que ocurren dentro de él, lo cual es útil para fines académicos y/o de investigación.
- **Incorporar la mínima cantidad de aperturas al ambiente.** Al reducir el número de aberturas al ambiente se favorece la hermeticidad del biorreactor, lo cual

minimiza la ocurrencia de interferencias provenientes desde el exterior. Además, se podría reducir las fugas de aire, lo que favorece la transferencia de oxígeno dentro del biorreactor y así se facilita la operación aerobia.

- **Uso de materiales con baja biodegradabilidad.** Debido a que el prototipo se empleará para estudiar la remoción de contaminantes en procesos biológicos, el uso de materiales con baja biodegradabilidad aumenta la vida útil y reusabilidad del prototipo. De esta forma, se presenta una menor necesidad de mantenimiento, lo que implica un ahorro del costo operativo.
- **Garantizar el diseño con la menor cantidad de superficies de contacto.** Las superficies de contacto aumentan la probabilidad de fugas hacia el exterior del prototipo, lo que podría reducir la precisión de los resultados.
- **Empleo de materiales con elevada resistencia térmica.** El uso de materiales con elevada resistencia térmica (al menos 120 °C) podría permitir su esterilización en una autoclave de vapor de laboratorio. De este modo, se posibilita emplearlo en investigaciones que requieren condiciones estériles dentro del recipiente y en aquellas que requieran la operación a temperaturas por encima de la temperatura ambiente.
- **Uso de uniones soldadas.** Las uniones soldadas reducen la probabilidad de fugas, por lo que aumentan la hermeticidad del prototipo. Además, podría facilitar el ensamblaje durante la operación. Sin embargo, el uso de uniones soldadas reduce la flexibilidad operativa del prototipo dado a que restringe la movilidad de sus componentes.
- **Empleo de materiales con elevada resistencia a la corrosión.** Las condiciones dentro del prototipo podrían ser corrosivas, causadas por factores como el uso de aire, agua y ácidos y bases para regular el pH. Por lo tanto, en este caso es recomendable el uso de materiales con elevada resistencia a la corrosión en las superficies que puedan estar en contacto directo con los vapores y líquidos empleados en las investigaciones. Así también, el aumento en la durabilidad de los materiales genera beneficios económicos y reduce la probabilidad de fugas en el sistema, por causa de pérdidas de material significativas a través de las superficies de contacto.

Identificación de prioridades

Se determinó el grado de contribución de los requerimientos técnicos, expuestos anteriormente, para satisfacer necesidades del cliente mostradas en el Cuadro 4.1. Inicialmente se cuantificó la relación de los requerimientos técnicos y las necesidades del cliente a través de una escala, donde 10=Alta relación, 3= Moderada relación y 1=Baja relación, lo cual se ilustra en el Apéndice A.1.

Posteriormente, la puntuación total de cada requerimiento técnico se obtuvo al sumar los productos de la ponderación de cada necesidad del cliente, indicada en el Cuadro 4.1, y el respectivo grado de relación entre requerimiento técnico y necesidad de cliente. En el Apéndice A.1 se muestra la estimación de la puntuación de cada requerimiento técnico.

Es importante aclarar que la puntuación de cada requerimiento técnico no tiene un significado por sí solo, sino que se emplea con fines comparativos. En el Cuadro 4.2 se muestran los requerimientos técnicos en orden descendente de relevancia para satisfacer las necesidades y expectativas del cliente.

Tal y como se muestra en el Cuadro 4.2, sólo los 5 primeros aportan a más de un 60 % de la contribución total para atender las necesidades del cliente. Por lo tanto, en las próximas fases de diseño se priorizó su cumplimiento.

Cuadro 4.2. Priorización de requerimientos técnicos en el diseño

Prioridad	Requerimiento técnico	% de contribución acumulado
1	Uso de materiales no tóxicos	17 %
2	Empleo de un volumen mínimo de recipiente	31 %
3	Uso de componentes de alta disponibilidad	41 %
4	Incorporación del mínimo número de componentes	51 %
5	Implementación de un burbujeador eficiente	61 %
6	Empleo de un recipiente transparente	70 %
7	Incorporar la mínima cantidad de aperturas al ambiente	78 %
8	Uso de materiales con baja biodegradabilidad	85 %
9	Garantizar el diseño con la menor cantidad de superficies de contacto	91 %
10	Empleo de materiales con elevada resistencia térmica	94 %
11	Uso de uniones soldadas	97 %
12	Empleo de materiales con elevada resistencia a la corrosión	100 %

Interacciones entre requerimientos técnicos

En el “techo” de la Casa de la Calidad (Apéndice A.1) se ilustra cualitativamente las correlaciones entre los requerimientos técnicos propuestos. Si la correlación es positiva, no se prevé que la implementación de uno de los requerimientos técnicos obstaculice la aplicación del otro. Por el contrario, si la correlación es negativa, los requerimientos técnicos no son compatibles, por lo que la implementación de uno perjudicará la aplicación del otro. El Cuadro 4.3 muestra los conflictos entre requerimientos técnicos propuestos y respectivas soluciones sugeridas, basadas en la priorización mostrada en el Cuadro 4.2.

A partir de la aplicación del DFC, se obtuvo especificaciones técnicas que delimitan un marco para el diseño. De esta forma, se aumenta la probabilidad de que la necesidad del producto por el cliente o usuario final sea satisfecha. Así, se reduce el desperdicio de materiales y se generan ahorros económicos por no reprocesado.

Elección de la configuración

Se seleccionó la tecnología de biopelícula a través de su evaluación con respecto a los criterios mostrados en la Cuadro 4.4. En general, las tecnologías apropiadas para Latinoamérica y el Gran Caribe suelen contar con bajos costos de inversión y de operación y mantenimiento. Además, se prefieren tecnologías con baja complejidad técnica, para garantizar que haya capacidad local instalada para su gestión eficiente. De este modo, se favorece su sostenibilidad durante su operación (Mara, 2003).

Adicionalmente, para fines de este proyecto, se prefiere el desarrollo de un prototipo con una configuración que no haya sido empleada extensivamente para la investigación de su desempeño en la remoción de fármacos en agua residual. Así, los resultados derivados del proyecto contribuirían a rellenar vacíos en el conocimiento sobre esta temática. Además, es importante considerar que la configuración del prototipo sea costo-razonable y sus componentes puedan ser fácilmente adquiridos, tal y como se concluyó en el Cuadro 4.2.

Se descartó en la escogencia configuraciones de reactores que fueran más vulnerables al fallo

Cuadro 4.3. Conflictos entre requerimientos técnicos propuestos y soluciones sugeridas

Conflicto	Solución sugerida
Algunos materiales con elevada resistencia a la corrosión no son altamente disponibles	En la elección de materiales priorizar su disponibilidad sobre su resistencia a la corrosión
Algunos materiales con elevada resistencia térmica no son altamente disponibles	En la elección de materiales priorizar su disponibilidad sobre su resistencia térmica
Hay recipientes que por su bajo volumen no posibilitan realizar uniones soldadas sobre algunos de sus componentes	Velar por un volumen mínimo de recipiente a pesar de que su tamaño no posibilite soldar algunos de sus componentes
La mayoría de alternativas naturales de soportes de biopelícula fácilmente disponibles son biodegradables	Escoger una alternativa fácilmente accesible de soporte natural a pesar de que sea biodegradable
El uso de un recipiente con transparencia imposibilita realizar algunas uniones soldadas , ya que es probable el contacto de materiales que no se pueden unir con soldadura entre sí	Emplear un recipiente con transparencia a pesar de que no se puede unir con soldadura con otros componentes
Algunos burbujeadores eficaces no son altamente disponibles	Al evaluar alternativas de burbujeador emplear aquel de mayor disponibilidad a pesar de que tenga menor eficiencia en la transferencia de oxígeno

mecánico, por lo que no se incluyó el RBC ni el FP. Como se observa en el Cuadro 4.4, el reactor sumergido de biopelícula (SAF) es la configuración más apropiada para este caso, seguido por el reactor de lecho móvil de biopelícula (MBBR) y por último, el reactor de membrana de biopelícula (MBR). A pesar de que el MBR cuente con una mayor eficiencia de transferencia de oxígeno, y así menor consumo energético, tiene mayores costes de mantenimiento, por la reposición de su membrana (Abdelfattah et al., 2020). Además, su uso en Latinoamérica no es extendido, por lo que hay baja probabilidad de que se cuente localmente con el conocimiento, experiencia y habilidades requeridas para su gestión adecuada.

Por otra parte, di Biase et al. (2019) indican que el MBBR requiere mayor aireación para mantener en suspensión los soportes de biopelícula y comúnmente produce más lodo, por lo que su costo de operación y mantenimiento es usualmente más alto. De este modo, se escoge el reactor de lecho sumergido, el cual es una tecnología más sencilla técnicamente y de menor costo operativo. Así tiene mayor aplicabilidad para su uso en Latinoamérica y el Gran Caribe. Adicionalmente, a diferencia del MBBR y MBR, la información con respecto al desempeño de un SAF en la remoción de fármacos es escasa en la literatura científica (Clarivate, 2023; Saidulu et al., 2021).

Selección del material de soporte de biopelícula

El tratamiento de agua residual con un reactor de biopelícula de lecho sumergido implica el uso de un soporte sobre el cual se desarrolle una biopelícula. Según el contexto actual en Latinoamérica, es preferible el uso de soportes no plásticos que sean de bajo costo y con alta disponibilidad (Groves et al., 2020; Mara, 2003). Por este motivo, es de interés el uso de un soporte de biopelícula de origen natural, que sea más accesible y biodegradable, promueva la remoción de contaminantes del agua residual y facilite el crecimiento de la biopelícula sobre ellos.

Cuadro 4.4. Evaluación de tipos de reactores de biopelícula (+++: Alto, ++: Medio y +: Bajo)(Abdelfattah et al., 2020; Clarivate, 2023; Henze, 2008; Saidulu et al., 2021)

Criterio	Reactor		
	MBR	SAF	MBBR
Costo de inversión de capital	+++	++	++
Costo de operación y mantenimiento	+++	++	+++
Complejidad técnica	+++	+	++
Generación de lodos	++	++	+++
Consumo energético	+	++	+++
Frecuencia de su aplicación en la investigación para la remoción de fármacos	+++	+	+++
Inversión requerida para investigación	+++	+	++

A partir de una revisión bibliográfica, se determinó que la esponja vegetal *Luffa cylindrica* (LC) tiene mayor atractivo para uso como soporte de biopelícula en comparación a otros materiales de origen natural, tales como la rafia de la hoja de palma, fibra de cáscara de coco y trozos de madera (Acosta-Rubí et al., 2017; Samhan et al., 2017; Wang et al., 2012; Zainab et al., 2020). LC es una planta enredadera de crecimiento anual, perteneciente a la familia *Cucurbitaceae*, y que se encuentra ampliamente distribuida en las zonas tropicales a nivel mundial. Dentro de su fruto se encuentra una red fibrosa vascular de 3 a 5 cavidades (Figura 4.1), conocida popularmente en Latinoamérica como paste, estropajo o esponja vegetal (Guzmán-Díaz, 1997; Oboh & Aluyor, 2009; Saeed & Iqbal, 2013).



(a) Sección transversal



(b) Superficie externa

Figura 4.1. Esponja vegetal

La esponja vegetal se seleccionó como soporte natural en el prototipo de reactor aerobio de lecho fijo de biopelícula. Algunas ventajas que ofrece se enuncian a continuación:

- **Densidad cercana a la densidad del agua.** La esponja vegetal tiene una densidad que oscila entre $0.82-0.92 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ (Siqueira et al., 2010), lo cual podría facilitar su suspensión y así reduce la complejidad de la superficie de apoyo requerida para sostenerle. Además, al requerir una superficie de apoyo estructuralmente más sencilla, se prevé un ahorro en los costes de inversión y de mantenimiento.

- **Compuesto por polisacáridos.** El uso de soportes de biopelícula compuestos por polisacáridos brinda nutrientes a los microorganismos y favorece su adhesión al soporte (Zainab et al., 2020; Y. Zhao et al., 2019). La esponja vegetal está compuesta principalmente por polisacáridos (>90%), especialmente de celulosa, lignina y hemicelulosa (Siqueira et al., 2010).
- **Hidrofílico.** Según lo reportado por Y. Zhao et al. (2019), los soportes hidrofílicos aceleran la formación de una biopelícula en comparación a soportes hidrofóbicos, debido a que facilitan la adsorción y retención de los microorganismos en el agua. Las fibras de LC tiene grupos hidroxilo (-OH) en su superficie, lo cual facilita la adherencia de microorganismos a través de sustancias poliméricas extracelulares (Qiang et al., 2020). Así también, favorecido a su estructura porosa, la esponja vegetal tiene mayor capacidad de absorción de agua en comparación con otras fibras naturales (Chen et al., 2014).
- **Elevada proporción de volumen vacío.** Una alta razón de vacío reduce la resistencia al flujo, lo cual aumenta la transferencia de masa desde el fluido hacia la biopelícula. En este caso, la esponja vegetal cuenta con microcanales huecos, continuos e interconectados, que forman una estructura porosa, tal y como se puede ver en la Figura 4.1. Su estructura porosa es jerárquica multimodal, por lo que sus poros están interconectados a diferentes escalas (por ejemplo, macroporo - mesoporo) (Siqueira et al., 2010; B. Zhao & Collinson, 2010).
- **Elevada disponibilidad.** Para reducir costos de inversión, y favorecer la sostenibilidad de la tecnología, es deseable que el material del soporte pueda ser obtenido fácilmente en Latinoamérica. Al cultivarse en el trópico, LC puede ser fácilmente accesible al mercado (Siqueira et al., 2010). En particular, Guzmán-Díaz (1997) reporta que en Costa Rica se ha producido comercialmente principalmente en Alajuela y zonas costeras.
- **Reutilizable y/o reciclable.** Es deseable que los soportes de biopelícula sean reutilizables o reciclables al finalizar su vida útil, para reducir la presión sobre los recursos naturales y la cantidad de residuos generados. El uso de la esponja vegetal como soporte de biopelícula implica menor procesamiento en comparación al requerido para la manufactura de los soportes plásticos, por lo que hay un ahorro de recursos en su fabricación.

Por otra parte, a pesar de que la esponja vegetal sea muy estable, es compostable (Dzionic et al., 2018; Shen et al., 2012) . De este modo, es posible reciclar sus nutrientes y reducir considerablemente su volumen, lo cual minimiza el impacto ambiental y los costos en la disposición final, en comparación a las alternativas plásticas.

- **Alta relación área/volumen.** La elevada relación área/volumen aumenta la rapidez de transferencia de masa, lo cual acelera la velocidad de transporte de sustancias entre el agua residual y el soporte natural con la biopelícula. De este modo se podría favorecer la adsorción en el soporte y la biodegradación de contaminantes presentes en ella.

La estructura porosa jerárquica multimodal de la esponja vegetal provee una alta área específica. En particular, los macroporos de gran tamaño podrían facilitar el acceso de las sustancias hacia las regiones internas. Mientras tanto, los micro-/mesoporos incrementan el área específica, y podrían aumentar el desempeño en la remoción de los contaminantes (B. Zhao & Collinson, 2010).

Principales componentes del prototipo

En la Figura 4.2 se muestra un esquema conceptual para el prototipo de un reactor de biopelícula. Como se puede notar se mantuvo el número mínimo de componentes, en concordancia con los requerimientos técnicos prioritarios según el DFC desarrollado.

No se consideró el control de la temperatura debido a que usualmente no se presenta un cambio considerable de la temperatura de la alimentación en el tratamiento aerobio con tecnologías de biopelícula, y se operará a temperatura ambiente (El-Shafai & Zahid, 2013). Las bombas peristálticas permitirán el paso del agua residual a través del reactor a un flujo controlado. El soplador suministrará el oxígeno requerido para la operación aerobia y el SAF proporciona el espacio para la degradación de los contaminantes, al posibilitar el contacto entre el oxígeno, agua residual y el soporte de biopelícula colonizado.

El módulo de control de bioprocesos BioFlo® 120 de Eppendorf disponible cuenta con bombas peristálticas y soplador, los cuales se emplearán para el trasiego de fluidos. Por lo tanto, en la siguiente etapa del desarrollo se priorizará el diseño del SAF, de modo que pueda ser acoplado al módulo de control disponible.

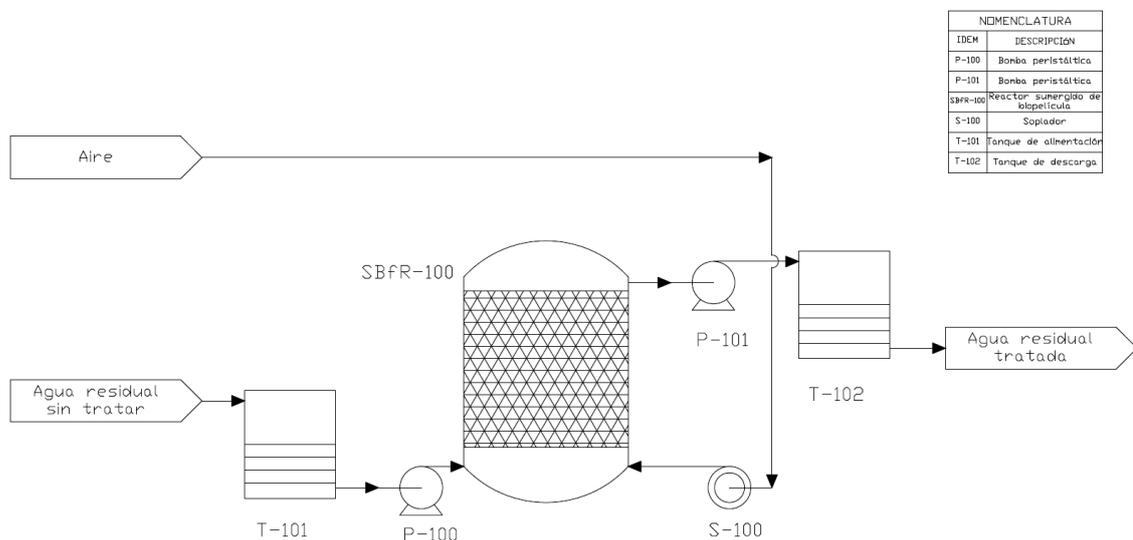


Figura 4.2. Diagrama conceptual del prototipo de reactor de biopelícula a escala de laboratorio

4.1.2 Diseño detallado

Una vez conceptualizado el prototipo, se detalló las especificaciones de cada de sus componentes y se elaboró los respectivos planos constructivos, incluidos en el Apéndice A.5. El diseño detallado involucró a los siguientes aspectos: a) recipiente de aireación b) aireación c) trasiego de líquidos d) soporte de biopelícula y su respectiva superficie de apoyo y e) Tapa y superficie de soporte.

Recipiente de aireación

Como se indicó en el Cuadro 4.2, es prioritario que el volumen del líquido sea bajo, deseablemente menor a 500 mL. De este modo, se posibilitaría la evaluación del prototipo en modo continuo, al minimizar la cantidad de materiales requeridos para su funcionamiento durante meses.

Por lo tanto, se seleccionó un recipiente de borosilicato 3.3 cilíndrico de 500mL para su uso como recipiente de aireación, tal y como se muestra en la Figura 4.3. El recipiente se puede encontrar fácilmente en el mercado de productos de laboratorio y es de bajo costo (<500 CRC). Además, permite la inspección visual dentro del prototipo y es esterilizable.

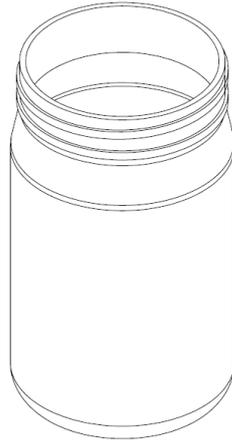


Figura 4.3. Isométrico de recipiente de aireación

Aireación

La degradación de contaminantes en el agua residual a través de tratamientos biológicos aerobios depende en gran medida de la disponibilidad del oxígeno disuelto en el medio. Por esta razón, es importante garantizar que el diseño proporcione el oxígeno requerido para favorecer la degradación de contaminantes.

En este caso se propone el uso de un difusor puntual para el suministro de oxígeno al medio. En comparación a otros tipos de difusores, el difusor puntual tiene menos probabilidad de falla por atascamientos, debido a la presencia de sólidos en el agua residual. Así también, los difusores puntuales provocan una menor caída de presión del fluido que transportan, lo cual podría generar ahorro energético (Doran, 2013a).

En particular, a través del diseño, se propone el uso de una pajilla de acero inoxidable como difusor puntual. Las pajillas de acero inoxidable son de bajo costo, accesibles en Costa Rica, se pueden limpiar con facilidad y presentan tamaños comerciales que les permite ser introducidas fácilmente al recipiente del diseño. De este modo considerarían las necesidades del cliente, según lo indicado en el Cuadro 4.2. Además, tienen alta resistencia a la corrosión, son esterilizables y pueden reutilizarse.

El difusor debe transferir oxígeno al medio líquido hasta una concentración suficiente que permita la degradación de contaminantes a través del metabolismo aerobio. Específicamente, se recomienda que el coeficiente de transferencia de masa al medio líquido (k_{La}) sea de 1.65 h^{-1} para el óptimo desempeño de reactores de biopelícula aerobios (Barwal & Chaudhary, 2015). Por lo tanto, se modeló la aireación en un tanque de burbujeo al emplear una pajilla comercial de acero inoxidable como difusor puntual, con el propósito de determinar el flujo de aire requerido para la operación del prototipo diseñado. El modelado se realizó en Matlab 2020, el algoritmo empleado se puede ver en el Apéndice A.4.

El difusor puntual se dimensionó según las dimensiones de pajillas comerciales de acero inoxidable disponibles en el Costa Rica, acorde a las prioridades del diseño indicadas en el Cuadro 4.2. Las dimensiones del burbujeador (o difusor) se muestran en la Figura 4.4.

Dias et al. (2018) mencionan que la presencia de soportes en reactores de biopelícula aumenta la retención del gas y reducen el tamaño de burbuja, por lo que incrementan el valor de k_{La} entre un 23-45 % en comparación al observado en un tanque de burbujeo bajo las mismas condiciones. De este modo, al considerar el prototipo diseñado como un tanque de burbujeo, es más probable que los resultados del modelo satisfagan los requerimientos

de aireación de su funcionamiento con un soporte.

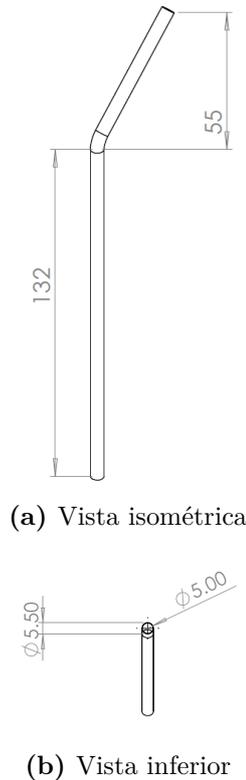


Figura 4.4. Dimensiones (en mm) del burbujeador

Por otra parte, la Figura 4.5 muestra el diámetro de burbuja, retención del gas, $k_L a$ y la potencia mínima requerida del soplador cuando el flujo de aire está entre $0.02\text{--}1.00\text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$. Los parámetros se obtuvieron a partir de la simulación de la aireación en Matlab 2020, el algoritmo empleado (incluyendo sus ecuaciones) se muestran en el Apéndice A.4. Como resultado, se observa que para mantener el $k_L a$ en el valor recomendado, es necesario suministrar $0.06\text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ de aire ($20\text{ }^\circ\text{C}$, 1 atm), el cual está dentro de la capacidad del módulo BioFlo© 120 de Eppendorf.

Al utilizar dicho flujo de aire se prevé que el diámetro promedio de burbuja resultante sea de al menos 12 mm . Por lo tanto, al formarse burbujas relativamente grandes ($>6\text{ mm}$), aumenta la probabilidad de que su diámetro se reduzca al entrar en contacto con el soporte y que asciendan en forma de espiral o zigzag (Dias et al., 2018; Treybal, 1997). Así, es posible que las burbujas de gran tamaño se distribuyan en diferentes secciones a lo largo del diámetro del recipiente (cercano a 9 cm), a pesar de que se suministre aire de forma puntual. Además, la descarga en un único punto aumenta la turbulencia en el vertido de la alimentación, lo cual puede favorecer la degradación de los contaminantes dentro del prototipo diseñado.

Como se puede ver en la Figura 4.5, se espera que al menos 0.1% de la mezcla aire-gas esté ocupada por gas al utilizar el flujo de aire seleccionado, tal y como lo indica el valor de retención de gas. Sin embargo, es probable que la retención sea mayor por el efecto del soporte, por lo que el área interfacial esperada puede aumentar, y con ello la transferencia de oxígeno al líquido.

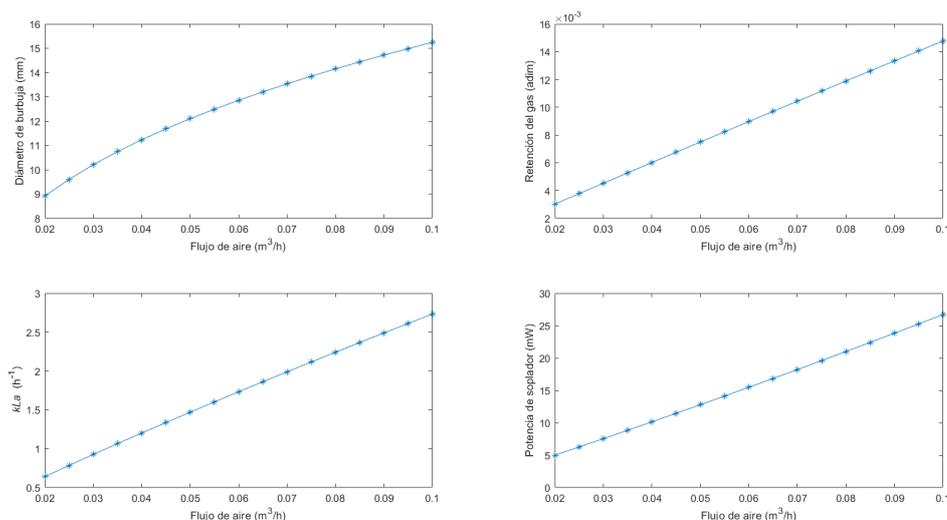


Figura 4.5. Diámetro de burbuja retención del gas, $k_L a$ y potencia mínima requerida del soplador según el flujo de aire

Trasiego de líquidos

Es importante garantizar el adecuado transporte del líquido entre el recipiente de aireación y los recipientes de almacenamiento de la alimentación y descarga. En este caso, se propone incorporar el uso de una pajilla de acero inoxidable como el conducto para el trasiego de la alimentación y colección del efluente. Además de las ventajas de las pajillas de acero inoxidable mencionadas en el Apartado 4.1.2, no son tóxicas y tienen una alta resistencia a la corrosión, por lo que se presenta un bajo riesgo de contaminación de los líquidos por desprendimiento de partículas oxidadas.

En particular, se incluye un conducto de mayor diámetro para la colección del efluente para reducir el riesgo de obstrucción por sólidos suspendidos generados en el tanque de aireación. Las dimensiones del conducto de alimentación son las mismas que las del difusor de aire (Figura 4.4). Mientras que las dimensiones del conducto de descarga se pueden observar en la Figura 4.6.

La posición de los conductos del influente y efluente dentro del tanque de aireación se muestra en la Figura 4.7. La posición indicada reduce la probabilidad de cortocircuitos de la alimentación, al colocarse el respectivo bajo el soporte de biopelícula, en la diagonal opuesta al conducto de colección, y en la zona de mayor turbulencia provocada por el chorro de aire expulsado del burbujeador. Por otra parte, la posición del colector del efluente favorece la colección del líquido tras haber pasado por el soporte de biopelícula.

Las respectivas pérdidas de carga esperadas en el prototipo se muestran en el Cuadro 4.5. Como se puede notar, se presenta más pérdidas de carga en la alimentación en comparación a la descarga, principalmente atribuido por la presencia de una curvatura de 45°, menor diámetro y mayor longitud del conducto de la alimentación de acero inoxidable.

Como se mencionó anteriormente, las bombas peristálticas requeridas para la impulsión del influente y el efluente del prototipo desarrollado están incorporadas al módulo de control de bioprocesos disponible, su diagrama se muestra en la Figura 4.8 y sus especificaciones se indican en Cuadro 4.6. Por lo tanto, al considerar el tamaño del recipiente de aireación empleado, el flujo máximo de la bomba permite la operación del prototipo con un TRH

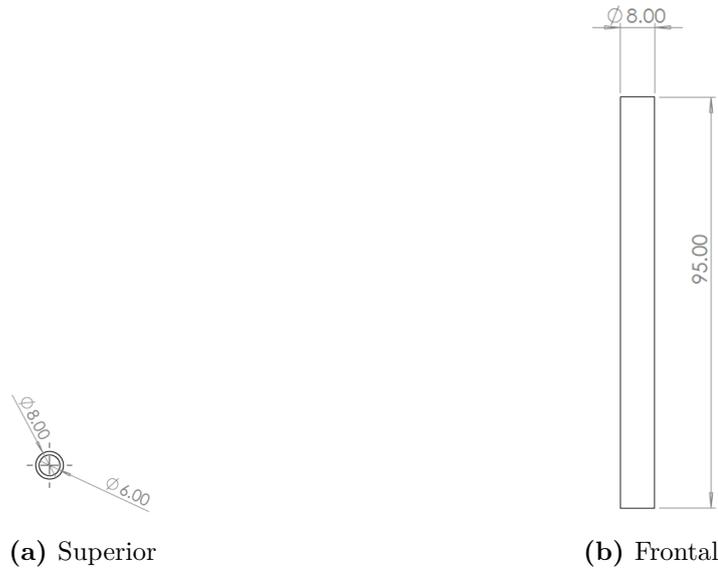


Figura 4.6. Vistas y dimensiones (en mm) del conducto del efluente

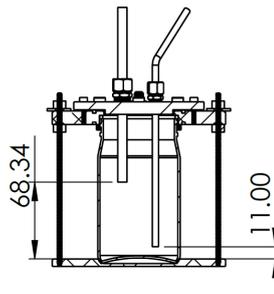


Figura 4.7. Corte transversal del prototipo y posición de conductos para trasiego de líquidos

por encima de 1 min. De este modo, es posible el estudio de reactores de biopelícula en sus rangos usuales de operación de TRH (30 min a 24 h) (Azizi et al., 2013; Jiang et al., 2018; Lewandowski & Boltz, 2011).

Soporte de biopelícula

El tamaño y la forma natural de la esponja vegetal (Figura 4.1) dificultan su uso en el recipiente de aireación empleado. Además, pueden tener un impacto negativo sobre la distribución del líquido y aire dentro del prototipo, al facilitar el transporte de las sustancias a través de sus cavidades sin atravesar su superficie porosa.

Por lo tanto, se propone el corte de la esponja vegetal en discos de 2.5 cm (Figura 4.9b), los cuales se apilen dentro del recipiente de aireación. Así se podrían emplear en el prototipo desarrollado sin perder su estructura porosa. Además, para descargar el aire e influente por debajo de la esponja vegetal, se propone realizar un agujero en el centro de los discos (Figura 4.9a) a través de los cuales pasen dichos conductos.

Por otra parte, di Biase et al. (2019) indica que el volumen ocupado por los soportes de biopelícula no debe exceder el 70 % del volumen total del reactor, para reducir el riesgo de limitar la transferencia de masa dentro de él por una cantidad excesiva de soportes de biopelícula. De este modo, se recomienda apilar las unidades de soporte de esponja

Cuadro 4.5. Pérdidas en el trasiego de la alimentación y descarga

Causa	Pérdida (m)	
	Alimentación	Descarga
Entrada	5.47×10^{-9}	5.47×10^{-9}
Salida	5.47×10^{-9}	5.47×10^{-9}
Vuelta de manguera	4.32×10^{-6}	2.14×10^{-6}
Codo de 45 °	4.93×10^{-6}	-
Fricción, conducto	4.46×10^{-6}	2.82×10^{-6}
Fricción, manguera	2.97×10^{-5}	2.97×10^{-5}
Total	4.35×10^{-5}	3.47×10^{-5}

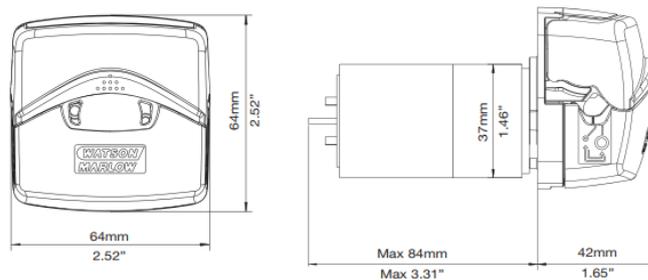


Figura 4.8. Bomba Watson-Marlow 114 (Watson-Marlow Limited, 2016)

vegetal de modo que se forme un soporte de biopelícula fijo con las dimensiones indicadas en la Figura 4.10. Así se ocupa menos del 50 % del volumen total del reactor, con lo cual se mitiga el riesgo de disminuir la capacidad de remoción de contaminantes del reactor provocada por el volumen empleado del soporte de biopelícula.

El soporte de biopelícula se mantiene fijo a través de la superficie de apoyo de acero inoxidable mostrada en la Figura 4.11. Las dimensiones se basaron en las medidas de una taza de acero inoxidable, fácilmente adquirible en supermercados. A esta se incluyó agujeros para permitir el transporte de oxígeno y de nutrientes a través del soporte de biopelícula.

Estructura: Tapa y superficie de soporte

El diseño incluye una tapa que reduzca las pérdidas por evaporación y minimice las interferencias provenientes del exterior del recipiente. Para ello se propone el uso de una tapa plana atornillada compuesta por una sección superior, una sección inferior y el soporte de la estructura, tal y como se puede ver en la Figura 4.12.

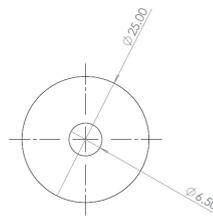
Doran (2013b) menciona que el diseño de las tapas de los recipientes de reactores de bioprocesos usualmente se diseña como tapas de recipientes a presión. Por lo tanto, el espesor mínimo de la sección superior de la tapa se dimensionó a través de la ecuación (4.1), enunciada en la Sección VIII, División 1, del Código ASME (The American Society of Mechanical Engineers, 2019).

$$t = D \cdot \left(\frac{C \cdot P}{S \cdot E} \right)^{1/2} \quad (4.1)$$

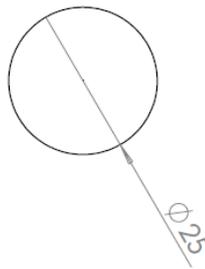
Es deseable que la superficie de la tapa más expuesta al contacto con líquidos corrosivos, o sus vapores, sea durable y no se oxide fácilmente. Por lo tanto, se propone el uso de acero inoxidable AISI 304 para la sección superior de la tapa. De este modo, se presenta un bajo

Cuadro 4.6. Especificaciones de la bomba peristáltica Watson-Marlow 114 DV empleadas en el prototipo desarrollado. Adaptado de Eppendorf (2016) y Watson-Marlow Limited (2016)

Especificación	Valor
Capacidad (mL/min)	<340
Velocidad (rpm)	30
Ciclo de trabajo (%)	0-100
Resolución de ciclo de trabajo (%)	0.1
Temperatura de operación (°C)	0-40
Potencia consumida (W)	<15



(a) Aro



(b) Disco

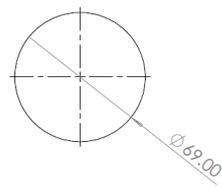
Figura 4.9. Dimensiones (en mm) de unidades de soporte de esponja vegetal

riesgo de que partículas desprendidas, por efecto de corrosión en la tapa, interfieran con el proceso biológico de estudio.

Como resultado, se requiere un disco de acero inoxidable de al menos 4 mm para soportar las condiciones de esterilización a las que pueda estar sometido. Al aplicar la ecuación (4.1) se utilizó una presión de 3 atm y 150 °C con el propósito de garantizar que la tapa tenga el valor requerido para soportar desviaciones ligeramente superiores a las condiciones comunes de esterilización. Para el tamaño de prototipo deseado, el grosor requerido de la tapa plana es bajo, y además presenta menor complejidad y costo en su fabricación en comparación a otros tipos comunes de tapa para recipientes a presión.

A pesar de que el espesor mínimo es de 4 mm, para la construcción es necesario que sea mayor a 3/8" (9.525 mm), con el objetivo de que puedan insertarse sobre él acoples roscados disponibles comercialmente, para sujetar los tubos de trasiego de fluidos. Por lo tanto, se propone que la tapa tenga un espesor de 11 mm, el cual está por encima del mínimo para soportar la presión máxima interna prevista durante el uso del prototipo.

Por otra parte, tanto la sección inferior de la tapa y la superficie de soporte presentan



(a) Vista Superior



(b) Vista lateral

Figura 4.10. Dimensiones (en mm) de soporte de biopelícula

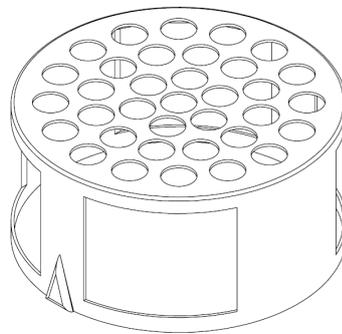
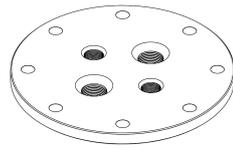


Figura 4.11. Estructura de apoyo para el soporte de biopelícula

menor riesgo de corrosión, debido a la menor exposición a líquidos y vapores corrosivos, y baja probabilidad de interferir en el proceso dentro del recipiente. Por lo tanto, el diseño considera que ambos componentes sean de aluminio 6061, y así se reduciría el costo económico del prototipo y su peso. Ambos materiales que componen la tapa tienen elevada resistencia térmica y estructural y se encuentran fácilmente en Costa Rica.

Para favorecer la hermeticidad del recipiente y disminuir las fugas, se incluye el uso de juntas tóricas entre la sección inferior de las tapas en superficies de contacto con a) el tanque de aireación y b) la sección superior de la tapa. Además, el uso de las juntas tóricas mitiga el riesgo de deformaciones o rupturas del tanque de aireación o la tapa por expansión de los metales durante la esterilización. Se empleó una junta tórica de VITON® y otra de EPDM para el contacto de la sección inferior de la tapa con la sección superior de la tapa y el recipiente de aireación, respectivamente. Ambos materiales son comúnmente empleados en reactores comerciales de bioprocesos a escala de laboratorio (Applikon Biotechnology B.V., 2008; Sartorius Stedim Biotech GmbH, 2022). Así también, tienen alta resistencia térmica, se pueden emplear a la temperatura común de esterilización (120 °C) y alta resistencia química, siendo resistentes a disoluciones ácidas y básicas (Sotoodeh, 2021).

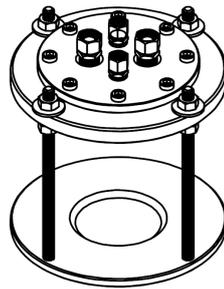
Por otra parte, el diseño propone que la superficie de soporte esté unida a la sección inferior de la tapa a través de barra roscada de 5/16. La sección inferior de la tapa se sujeta y ajusta a partir de roscas hexagonales y las correspondientes arandelas de 7.9 mm, que actúan como superficie de apoyo de la carga de apriete. El material de la barra roscada, tuercas



(a) Sección superior



(b) Sección inferior



(c) Ensamble de tapa y superficie de soporte

Figura 4.12. Tapa y superficie de soporte

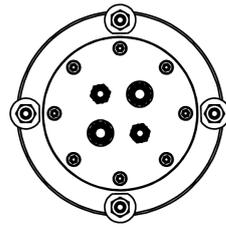
y arandela se propone de acero inoxidable, para aumentar su durabilidad. Así también, dichos elementos se pueden encontrar fácilmente en ferreterías de Costa Rica y a un bajo costo (<5000 CRC). Mientras que la sección inferior y superior de la tapa están unidas a través de pernos, 8 tornillos de cabeza Allen 6x20 mm distribuidos simétricamente en el perímetro de ambas tapas. El ensamble de la tapa con la superficie de soporte se muestra en la Figura 4.13.

Mientras tanto, es deseable que la posición vertical de los conductos de trasiego de fluidos pueda ajustarse fácilmente, con el fin de mejorar la hidrodinámica y aireación dentro del recipiente según las condiciones de estudio. Por lo tanto, se propone el uso de dos acoples roscados para la sujeción de dichos conductos. Específicamente, al considerar las dimensiones de los conductos dentro del prototipo, se propone el uso de acoples roscados de $\frac{1}{4}$ de pulgada, para el conducto de aire y alimentación, y de $\frac{3}{8}$ de pulgada, para el conducto de escape de aire y efluente. Para el acoplamiento de los conductos en los acoples es necesario incorporar los respectivos conos de compresión, los cuales permiten ajustar la posición vertical de los conductos.

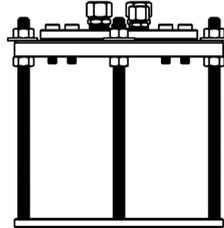
Finalmente, al realizar el ensamble, se obtiene el prototipo de reactor de biopelícula con soportes de esponja vegetal mostrado en la Figura 4.14 En la Figura 4.15 se muestra su dibujo explosionado con algunos de sus componentes.

4.1.3 Construcción

Tras definir las especificaciones del diseño detallado, se prosiguió con la construcción. La lista de componentes con su respectivo costo se muestra en el Cuadro 4.7. La inversión total fue de 61 952 CRC, lo cual satisface el requerimiento del cliente de una inversión menor a 100 000 CRC. Como se puede notar, más del 40% de la inversión total fue provocada por el uso de acero inoxidable en la sección superior de la tapa, por lo que se puede deducir



(a) Vista superior



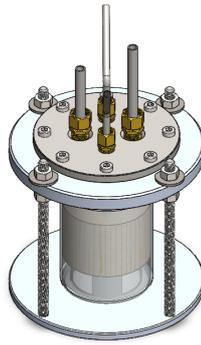
(b) Vista lateral

Figura 4.13. Vista de ajuste de tapas y soporte

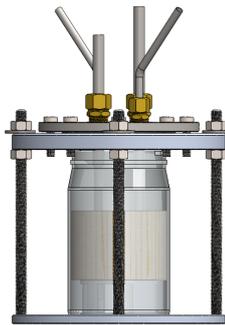
que la escogencia de aluminio para los otros componentes de la tapa generó un ahorro considerable.

El maquinado de los componentes metálicos se realizó en el Laboratorio Técnico de Mecánica de Precisión de la Escuela de Física de la UCR y el ensamble se llevó a cabo en el CICA. Algunos componentes del prototipo obtenidos a través del maquinado se pueden ver en la Figura 4.16. A continuación se resumen las principales operaciones llevadas a cabo durante la construcción:

- La tapa se moldeó a través de torneado recto (cilindrado).
- Los orificios internos para tornillos y acoples de las tapas se realizaron a través de taladrado y su posterior mandrinado, para mejorar su acabado.
- Se realizó un roscado interno de los 4 agujeros más internos de la sección superior de la tapa de acero inoxidable. Para ello se empleó el torno y un macho de rosca de cañería cónica NPT, para un tamaño de rosca de $\frac{1}{4}$ x 18.
- Los asientos de las juntas tóricas en la sección inferior de la tapa se formaron a partir de ranurado frontal.
- Las barras de soporte se fabricaron a partir del corte de una barra comercial roscada de acero inoxidable.
- La estructura de apoyo del soporte de biopelícula se elaboró a partir de tazas de medida de alimentos de acero inoxidable, las cuales se pueden encontrar comercialmente en supermercados. Las aperturas en toda la estructura se realizaron a partir de taladrado.
- El soporte fue compuesto por aros y discos de esponja vegetal comercializada como esponja de baño. Tras ser previamente lavada con agua, se cortó en discos de 2.5 cm con tijeras, empleando una moneda de 500 CRC como molde (Figura 4.17). Posteriormente, para formar los aros, se realizó un agujero con perforadora sobre la región central de algunos de los discos preparados, tal y como se puede ver en la



(a) Vista isométrica



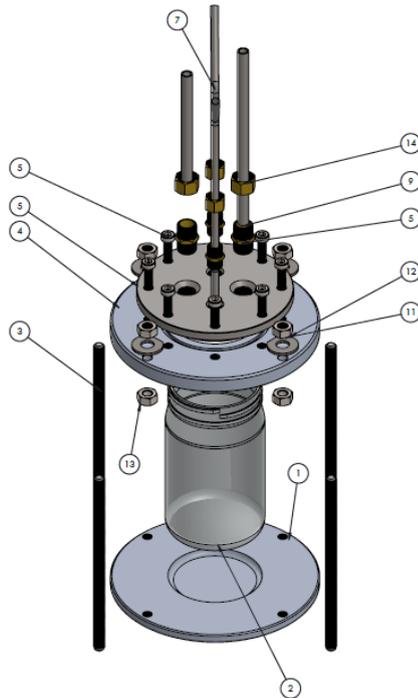
(b) Vista Lateral

Figura 4.14. Prototipo de reactor aerobio de biopelícula de lecho sumergido con soportes de esponja vegetal

Figura 4.17a. Se determinó la masa promedio de un aro y un disco, al considerar 26 observaciones de cada uno, se obtuvo respectivamente (204 ± 66) mg y (216 ± 61) mg.

Para llevar a cabo el ensamble del reactor se siguió el siguiente procedimiento:

1. Se inoculó con lodo aerobio los discos y aros de esponja vegetal
2. Se enroscó los acoples a la sección superior de la tapa.
3. Se colocó el soporte de apoyo dentro del recipiente de aireación.
4. Se posicionaron los conductos de aireación y trasiego de influente a través de los agujeros del soporte de apoyo.
5. Se formó un lecho de esponja vegetal inoculada tras colocar uno a uno los discos y aros. Los aros se hacían pasar a través de los conductos de aireación y trasiego de influente.
6. Se colocó los O-Rings en las ranuras correspondientes de la sección inferior de la tapa.
7. Se ajustaron las secciones superiores e inferiores de la tapa a través de el posicionamiento de los tornillos Allen a través de ellas.
8. Se pasaron los conductos las pajillas de acero inoxidable en los respectivos acoples y su altura se ajustó con ayuda de los conos de compresión.
9. Se ajustó la tapa al recipiente de aireación.



Nº DE ELEMENTO	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD
1	Superficie de apoyo	1
2	Recipiente de aireación	1
3	Columna de superficie de apoyo	4
4	Sección inferior de tapa	1
5	Sección superior de tapa	1
6	Tomillo Allen ϕ 20 mm	8
7	Conducto de acero inoxidable, ϕ : 5mm	2
8	Cono de compresión	2
9	Conducto de acero inoxidable, ϕ : 6 mm	1
10	Cono de compresión	2
11	Arandela	4
12	Tuerca hexagonal 5/16"	4
13	Barras roscadas 5/16"	4
14	Acople de compresión	2

Figura 4.15. Ensamble explosionado

10. Se acopló las barras roscadas a la superficie de soporte.
11. Se ajustó la tapa sobre el recipiente de aireación a través del ajuste del nivel con las barras roscadas y tuercas hexagonales.

4.1.4 Puesta en marcha

Una vez ensamblado el reactor se realizó pruebas de puesta en marcha en modo continuo, con el objetivo de corroborar el buen funcionamiento de sus componentes. Así se realizó las siguientes actividades:

- **Calibración de bomba peristáltica.** Se realizó la corroboración del flujo en los niveles probables de operación, desde $0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ a $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, al medir el volumen de agua destilada vertido (con una probeta de 10 mL) en un tiempo determinado, medido con un cronómetro. De este modo se obtuvo la curva de calibración mostrada en la Figura 4.19, con lo cual se puede correlacionar el punto de ajuste con el volumen real vertido en el intervalo indicado.
- **Inspección visual.** Se realizó la inspección de cada uno de sus componentes para la identificación de daños visibles. Antes de la operación, se revisó con detenimiento las mangueras y conductos de fluidos, y no se observó daños visibles que faciliten fugas. Por otra parte, se corroboró el ingreso de aire a la unidad al observar burbujeo dentro de la misma a la salida del burbujeador, una vez activado el soplador.

En la Figura 4.20b se muestra el prototipo tras unos días de operación en modo continuo. Por encima del soporte se observa la presencia de burbujas. Así también, se puede ver la acumulación de biomasa en los soportes de biopelícula.

- **Medición de pH de la alimentación.** Se midió el pH de tres lotes distintos de agua residual sintética de alimentación preparada en un pH-metro digital. Según la formulación preparada, esta debería tener un pH cercano a la neutralidad. En este

Cuadro 4.7. Inversión para la construcción

Descripción	Material	Especificación	Cantidad	Costo unitario (CRC)	Costo total (CRC)
Disco	Acero inoxidable, AISI 304	Diámetro: 150 mm, Espesor: 15 mm	1	14665	14665
Macho	Acero inoxidable	Cañería 1/4*18 NPT	1	13020	13020
Unión de compresión		3/8 NPT	2	2747	5493
Disco	Aluminio 6061	Diámetro: 200 mm, Espesor: 15 mm	1	3550	3550
Medidas de alimentos	Acero inoxidable	Winco	1	3148	3148
Disco	Aluminio 6061	Diámetro: 200 mm, Espesor: 7 mm	1	2550	2550
Barra	Acero Inoxidable	Roscada 5/16" 18H x36" NC	1	2498	2498
Unión de compresión		1/4 NPT	2	1143	2287
España vegetal		Agata	2	910	1820
Pajillas	Acero inoxidable		1	1372	1372
O-Ring	Viton®	Dureza 75 2.1 2x18	1	1000	1000
Frasco	Borosilicato 3.3	500 mL	1	400	400
Tornillo	Acero Inoxidable	Cabeza Allen, 6x20 mm	8	114	913
Tuerca	Acero Inoxidable	5/16" 18 H Hex-NC	12	75	900
Cono de compresión		60x 5/16	4	138	552
Arandela	Acero Inoxidable	5&16" (7.9 mm)	12	39	467
O-Ring	EPDM	Dureza 70 4x18	1	190	190
				TOTAL	
				(Antes de IVA)	54825
				IVA 13 %	7127
				TOTAL	
				(Después de IVA)	61952

caso, presentó un pH promedio de 6.85 ± 0.17 , por lo que satisface el requerimiento de pH.

- **Medición de OD.** Tras haberse formado la biopelícula se midió el oxígeno disuelto de su efluente en un medidor de OD, con el fin de corroborar que el flujo de aire establecido de $0.09 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ satisface el requerimiento de oxígeno para sostener las condiciones aerobias dentro del prototipo. El OD del efluente fue de $7.10 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$, el cual está por encima del mínimo recomendado (3 mg/L) en reactores aerobios para el tratamiento de agua residual (Dias et al., 2018).

De este modo se obtuvo un prototipo de reactor aerobio de biopelícula de lecho sumergido con soportes naturales funcional. Se cumplió los requerimientos prioritarios para el diseño, según el DFC, y así satisfacer las necesidades del usuario final. El producto obtenido es de bajo costo ($<100\ 000 \text{ CRC}$), tiene la capacidad de operar en modo aerobio y continuo, según los recursos disponibles. La Figura 4.20 muestra el prototipo desarrollado en operación.

4.2. Remoción de fármacos en agua residual a través de un reactor de biopelícula con soportes naturales

4.2.1 Fármacos de estudio

Se priorizó doce fármacos en este estudio según su frecuencia en aguas residuales y su ecotoxicidad en al ser liberados al ambiente. La puntuación de los fármacos evaluados se puede consultar en el Apéndice A.2. El objetivo de la priorización fue garantizar que en la alimentación en el estudio estuvieran presentes fármacos de relevancia en Costa Rica,



Figura 4.16. Componentes relevantes en el maquinado y recipiente de aireación

basado en lo reportado por Ramírez-Morales et al. (2020).

Los fármacos más relevantes se presentan en el Cuadro 4.8 y se muestran en la Figura 4.21. A pesar de que la ofloxacina y doxiciclina comparten la misma puntuación con respecto a otras sustancias evaluadas, estas fueron las que se incluyeron en la lista debido a que están en mayor concentración.

Los compuestos identificados en el Cuadro 4.8 son fármacos que sobresalen en una o más de los siguientes aspectos en aguas residuales de Costa Rica a) alta frecuencia b) elevada persistencia y/o c) riesgo considerable de efectos adversos en el ecosistema por su presencia en el agua residual tratada. Por lo tanto, al incluir uno o más de ellos en el estudio se genera información de utilidad según el contexto del país.

Cuadro 4.8. Propiedades de fármacos relevantes para su remoción en aguas residuales de Costa Rica (Royal Society of Chemistry, 2023)

Fármaco	Tipo de fármaco	Masa Molecular, <i>MM</i> (g/mol)	Coefficiente de Henry, <i>H</i> (atm · m ³ · mol ⁻¹) @25 °C	Coefficiente de partición, <i>LogD</i> @pH=7.4
Cafeína	Estimulante Sistema Nervioso	194.191	3.58×10^{-11}	0.28
Ibuprofeno	Analgésicos y antiinflamatorios	206.281	1.52×10^{-7}	0.45
Difenhidramina	Antihistamínico	255.355	3.70×10^{-9}	2.34
Gemfibrozil	Regulador lipídico	250.333	1.19×10^{-8}	1.58
Dimetilxantina	Estimulante Sistema Nervioso	180.16	1.75×10^{-12}	-0.39
Acetaminofen	Analgésicos y antiinflamatorios	151.163	6.42×10^{-13}	0.40
Naproxeno	Analgésicos y antiinflamatorios	230.259	3.39×10^{-10}	0.45
Lovastatin	Regulador lipídico	404.54	2.12×10^{-10}	4.14
Risperidona	Psiquiátrico	410.484	9.07×10^{-12}	1.81
Ketoprofeno	Analgésicos y antiinflamatorios	254.281	2.12×10^{-11}	0.06
Ofloxacin	Antibiótico	361.367	1.28×10^{-19}	-2.08
Doxiciclina	Antibiótico	444.435	4.66×10^{-24}	-3.29



(a) Aro



(b) Disco

Figura 4.17. Soportes de esponja vegetal preparados

4.2.2 Arranque y remoción de DQO

Como se puede ver en la Figura 4.22 los soportes se recubrieron de una capa de sólidos, lo cual podría atribuirse a la formación de una biopelícula sobre ellos y acumulación de sólidos presentes en el agua residual con el que fueron alimentados. El uso de agua residual de la PTAR puede tener un contenido mayor de sólidos en comparación a la sintética, los cuales son retenidos en los soportes y así se observa una capa más gruesa de sólidos sobre los correspondientes a la operación con agua residual del efluente de tratamiento. La remoción de sólidos del agua residual pudieron favorecer la disminución de la intensidad de su color, tal y como se muestra en la Figura 4.23.

Por otra parte, como se muestra en la Figura 4.24, la remoción de DQO en modo continuo fue cerca de un 90 % tras 7 días de operación, el cual se mantuvo estable durante al menos 21 días. El reactor se estabilizó con tan solo una semana de operación. Lo anterior puede ser causado por la rápida formación de una biopelícula sobre los soportes de esponja vegetal la cual oxida materia orgánica presente en el agua residual, por lo que se observa una disminución de la DQO en el efluente. Así también, el efluente mantiene una DQO promedio de $35.4 \pm 9.5 \text{ mg L}^{-1}$, por lo que hay una elevada probabilidad de que el desempeño del reactor permita mantenerse por debajo del límite máximo de DQO permisible para aguas residuales ordinarias, según la legislación de Costa Rica para su vertimiento en algún cuerpo receptor (150 mg L^{-1}) (Poder Ejecutivo de la República de Costa Rica, 2007).

En este caso se presentó una remoción de DQO superó al 90 % algunas semanas antes de lo presentado con soportes de biopelícula plásticos (Dias et al., 2018). Lo anterior es también congruente con lo encontrado por Wang et al. (2012), donde un reactor con esponja vegetal presentó menor tiempo de arranque en comparación a soportes plásticos convencionales. De este modo, se prevé un ahorro en costos operativos al emplear un reactor con soportes de esponja vegetal en comparación a uno con soportes plásticos, debido a que el primero alcanza el desempeño deseado en menor tiempo.

El porcentaje de la remoción de DQO promedio fue de $(91.04 \pm 0.02) \%$ al emplear agua residual sintética con DQO de $398 \pm 19 \text{ mg L}^{-1}$. De este modo, el desempeño en la remo-



(a) Superior



(b) Lateral

Figura 4.18. Vistas del prototipo ensamblado

ción de DQO tiene una diferencia menor al 10 % en comparación a la de otros reactores de biopelícula con soportes plásticos comerciales, que han sido reportados en la literatura (Hou et al., 2021). Así, el uso de esponja vegetal como soporte tiene potencial como alternativa natural a los soportes plásticos comerciales para la remoción de materia orgánica en reactores de lecho fijo de biopelícula.

El bajo tiempo de arranque y la alta estabilización durante el tiempo de estudio (desviación estándar menor a 0.05 % en la remoción de DQO), tal y como se observa en la Figura 4.24, se puede atribuir a propiedades de la esponja vegetal. Su superficie hidrofílica y biocompatible favorece la adhesión de microorganismos a ella durante las primeras etapas de su formación, lo cual acelera la estabilización del reactor. Por otra parte, tiene una estructura tridimensional, con elevada área protegida, por lo que la tasa de desprendimiento de la biopelícula puede ser menor, y así incrementa la rapidez de colonización de los microorganismos sobre el soporte. Además, el alto porcentaje de espacio vacío puede facilitar la transferencia de oxígeno y nutrientes desde el seno del líquido hasta los microorganismos adheridos a la superficie de la esponja vegetal, por lo que favorece su crecimiento, y así el tiempo de arranque es menor.

4.2.3 Remoción de fármacos

Se evaluó el desempeño del prototipo desarrollado en la remoción de fármacos de interés, enlistados en el Cuadro 4.8. La Figura 4.25 muestra el contenido de algunos fármacos en la alimentación y descarga del prototipo. Por otra parte, la remoción observada se muestra en la Figura 4.26.

Como se puede ver en la Figura 4.25, hubo una mayor concentración de gemfibrozil, ketoprofeno y naproxeno en la descarga con respecto al observado en la alimentación. Esto concuerda con lo reportado en la literatura científica, donde se ha identificado remociones negativas de dichas sustancias en sistemas de tratamiento de agua residual municipal (Kumar et al., 2022; Tran et al., 2018). Así también para dichos fármacos Falàs et al. (2012) ha reportado baja o nula remoción en otras tecnologías de biopelícula.

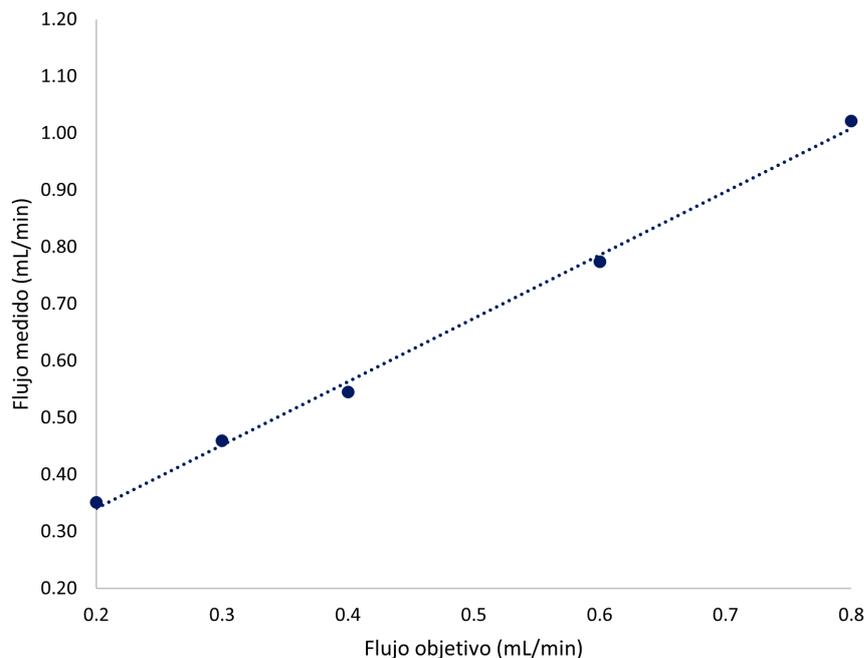


Figura 4.19. Curva de calibración de bomba peristáltica, $y = 0.119 + 1.112 \cdot x$, $R^2=0.997$

La presencia de grupos extractores de electrones en la estructura del gemfibrozil, ketoprofeno y naproxeno (Figura 4.21), pueden desfavorecer su biodegradación a través de mecanismos aerobios. Por lo tanto, se puede concluir que no fueron removidas en el prototipo desarrollado y que pudieron ser liberadas desde partículas fecales o haberse re-transformado desde los metabolitos presentes en el agua residual durante el tratamiento, por lo que se evidencia una concentración mayor en la descarga con respecto a la alimentación (Kumar et al., 2022).

Por otra parte, en la Figura 4.26 se muestra el desempeño del prototipo desarrollado en la remoción de cafeína, doxiciclina, lovastatina, 1,7-dimetilxantina y acetaminofén. La remoción del acetaminofén y 1,7-dimetilxantina fue moderada (50-80%) mientras que, para la cafeína, doxiciclina y lovastatina, hubo una alta remoción (>80%).

Es probable que la biodegradación sea el principal mecanismo de remoción de los compuestos mostrados en la Figura 4.26, a excepción de la lovastatina. Según algunos autores, si los compuestos tienen un $\log D < 2.5$, la adsorción en el lodo secundario puede ser despreciable (Abtahi et al., 2018; Luo et al., 2014). Tal y como se indica en el Cuadro 4.8, la lovastatina tiene un $\log D > 2.5$, por lo que tiene una hidrofobicidad suficiente para que sea adsorbida considerablemente en la biopelícula y en la biomasa suspendida. Por otra parte, los compuestos mostrados en la Figura 4.26 tienen coeficientes de Henry en el orden de 10^{-8} a 10^{-24} , por lo que la remoción por arrastre con aire puede considerarse despreciable.

Según la estructura de las moléculas mostrada en la Figura 4.21, la biodegradación de la cafeína, doxiciclina, lovastatina y 1,7-dimetilxantina puede haberse favorecido por la presencia de grupos funcionales dentro de su estructura que actúan como fuertes donadores de electrones, entre ellos el grupo aciloxilo (-OOCR), hidroxilo (-OH), amino y alquilamino (-NH₂, -NHR y -NR₂). La alta biodegradabilidad de la cafeína, acetaminofén y 1,7-dimetilxantina en el tratamiento biológico del agua residual coincide con lo reportado



(a) Acoplado a estación de control



(b) Acercamiento a reactor

Figura 4.20. Prototipo en operación

por Tran et al. (2018) y Ramírez-Morales et al. (2020). En particular, la remoción de la 1,7-dimetilxantina puede alterarse adicionalmente por la concentración de cafeína en el medio, al ser su compuesto parental, lo cual explica la mayor variabilidad observada en la remoción de este metabolito.

Mientras tanto, el desempeño del prototipo desarrollado en la remoción de doxiciclina (Figura 4.26) es significativamente superior a la reportada para la tecnología convencional de lodos activados (<20 %) y al observado en PTAR de Costa Rica (Ramírez-Morales et al., 2020; Verlicchi et al., 2012). La estructura porosa de la esponja vegetal puede favorecer la interacción de moléculas de gran tamaño y alto peso molecular, como la doxiciclina y lovastatina, con la biopelícula. De este modo, se favorece la retención de las moléculas en el soporte de biopelícula y se aumenta la exposición de estas a bacterias que presentan una alta capacidad degradativa de hidrocarburos cíclicos y aromáticos, las cuales no son abundantes en las tecnologías convencionales de lodos activados. Lo anterior podría explicar la elevada remoción de doxiciclina y lovastatina mostrada en la Figura 4.26.

Adicionalmente, en la literatura científica hay una escasez de información sobre la remoción de lovastatina a través de PTAR. Sin embargo, según Ramírez-Morales et al. (2020) es una de las tres moléculas que representan el mayor riesgo de ecotoxicidad en Costa Rica. Así también, es una de las moléculas de mayor persistencia en el efluente del tratamiento primario y en tecnologías biológicas de crecimiento suspendido. Por lo tanto, a partir de lo observado en la Figura 4.26, un reactor de biopelícula de lecho sumergido con un soporte de esponja vegetal tiene el potencial de mitigar el riesgo de efectos adversos al ecosistema por la liberación de lovastatina al ambiente tras el tratamiento de agua residual.

4.2.4 Producción de sólidos

Por otra parte, en el Cuadro 4.9 se indica la generación de sólidos a través de un reactor de lecho fijo de biopelícula con los soportes de esponja vegetal, en modo continuo. La cantidad de sólidos suspendidos presente en el efluente es considerablemente menor en comparación a la generada en tecnologías aerobias de crecimiento suspendido, tal como lodos activados de aireación extendida, el cual puede generar hasta 1000 mg de sólidos suspendidos más por cada litro de agua residual (Von Sperling, 2007).

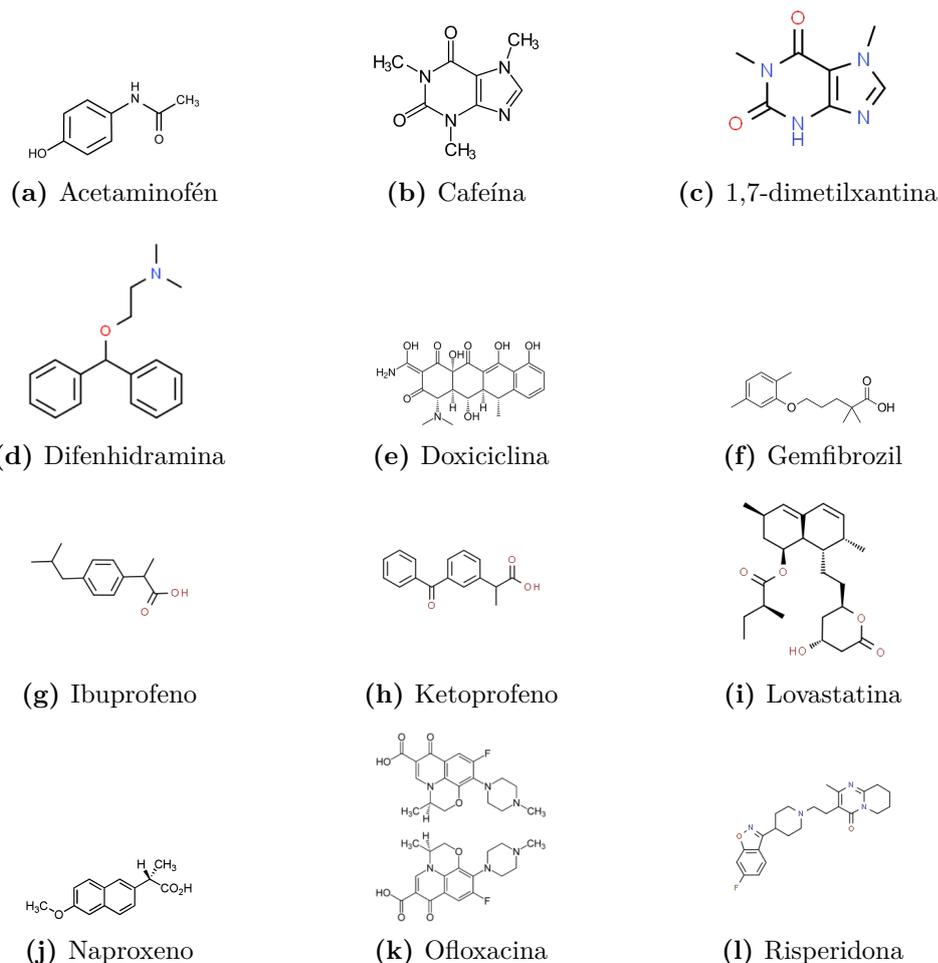


Figura 4.21. Estructuras moleculares de fármacos (Royal Society of Chemistry, 2023)

Así también, Abtahi et al. (2018) reportaron mayor generación de lodo en un reactor de biopelícula aerobio de lecho móvil, el cual produjo $1\ 340\ \text{mgSST L}^{-1}$ en el efluente al emplear agua residual sintética. Sin embargo, la cantidad de sólidos en sus soportes plásticos ($7.9\ \text{mg}/\text{soporte}$) en ese caso es considerablemente menor a la presentada en los soportes de esponja vegetal empleados en este proyecto (Cuadro 4.9). De esta forma, se determinó que los soportes de esponja vegetal empleados retienen una mayor proporción de sólidos (incluyendo biomasa) en comparación a otros soportes plásticos comerciales, lo cual mejora la calidad de su efluente. La mayor acumulación de nutrientes y mayor protección de la biopelícula en la estructura interna porosa podrían favorecer la retención de la biomasa. Por otra parte, la concentración de sólidos en el efluente del prototipo está por debajo del límite máximo sugerido en Costa Rica, para vertido en un cuerpo receptor (Poder Ejecutivo de la República de Costa Rica, 2007).

Por las razones indicadas anteriormente, el uso de soportes vegetales como soporte de biopelícula podría generar un potencial ahorro en la inversión requerida para el tratamiento de lodos en comparación con otras tecnologías aerobias de crecimiento suspendido y adherido. Además, gracias a la baja cantidad de sólidos en el efluente del reactor con soportes naturales, se prevé un ahorro en los costos relacionados a la operación y mantenimiento de la infraestructura de tratamiento de lodos y en disposición final. En conclusión, el uso de un reactor de lecho fijo con soportes de esponja vegetal presenta un desempeño en

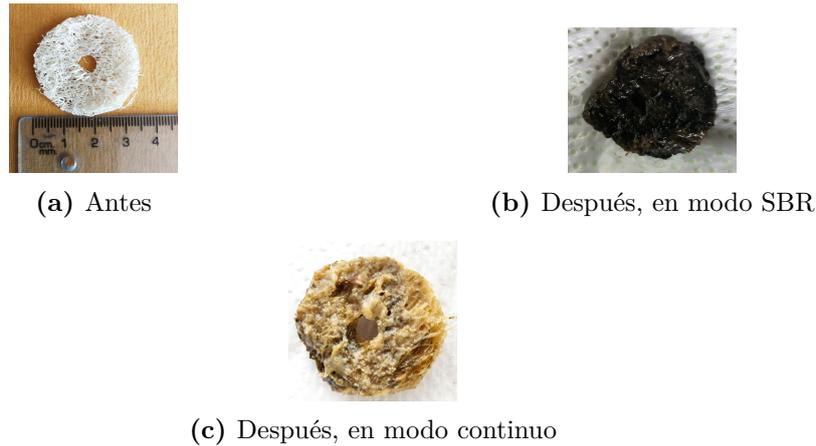


Figura 4.22. Aspecto de soportes de esponja vegetal antes y después de operación en prototipo de reactor de biopelícula con soportes naturales



Figura 4.23. Color del agua residual de la alimentación y descarga en modo SBR

remoción de DQO similar a otros reactores aerobios para el tratamiento de agua residual, pero podría tener el potencial de generar un ahorro en la inversión y en la operación y mantenimiento. Además, se recomienda evaluar el compostaje de la esponja vegetal empleada como soporte de biopelícula, para asegurar que su disposición final sea segura y mitigue los impactos ambientales de las alternativas plásticas de soportes.

4.3. Remoción de fármacos en agua residual mediante la inmovilización de lodo aerobio en cápsulas de alginato de calcio

4.3.1 Cápsulas preparadas

Se preparó cápsulas de alginato de calcio a través del desarrollo de un método sencillo y de bajo costo para la inmovilización de bacterias empleadas en el tratamiento de agua residual. La formación de cápsulas ocurre a través de una reacción de gelación con Ca^{2+} como agente entrecruzante. El uso de alginato de sodio, entre otras razones, se escogió por su biocompatibilidad. Mientras tanto, la sal de Ca^{2+} empleada fue CaCl_2 debido a su bajo costo y alta solubilidad en agua, lo cual permite mayor material disponible para la reacción con el alginato (Goff & Guo, 2019). Como resultado del goteo de la disolución de alginato en la disolución de calcio (Figura 3.1), se obtuvo cápsulas de alginato de calcio de un tamaño promedio de 3.10 ± 0.23 mm, las cuales se muestran en la Figura 4.27.

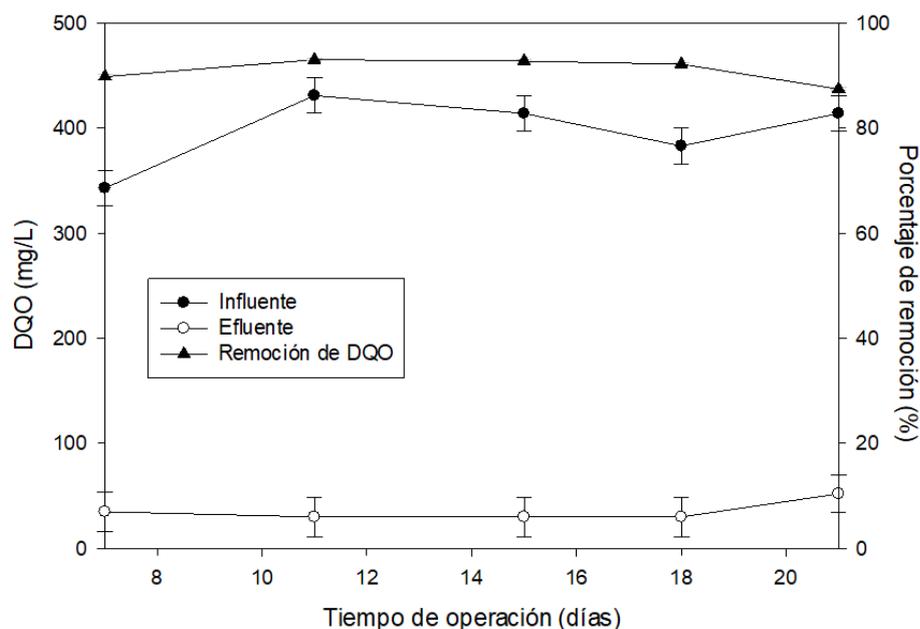


Figura 4.24. Remoción de DQO

Cuadro 4.9. Parámetros de producción de sólidos en el prototipo desarrollado en modo continuo

Parámetro	Valor
SST (mg/L)	12.5 ± 5.3
Biomasa adherida (mg/g)	1100 ± 56
Biomasa adherida por unidad de soporte (mg/soporte)	219 ± 56

Se evaluó la efectividad del atrapamiento de los microorganismos inoculados en las cápsulas de alginato preparadas. Como se observa en la Figura 4.28, hay una diferencia significativa ($p < 0.05$) en la cantidad microorganismos contenidos en las cápsulas inoculadas en comparación a la observada en las cápsulas que no fueron inoculadas. De este modo, se evidencia que hubo una inmovilización efectiva de biomasa en las cápsulas de alginato de calcio preparadas. Además, no se observó una diferencia significativa ($p < 0.05$) en la cantidad de biomasa en el sobrenadante tras 5 días de operación, por lo que hay indicios de que hubo efectividad en la retención de los microorganismos inmovilizados dentro de la cápsulas.

4.3.2 Remoción DQO

Se observó una remoción de DQO de un $72.0 \pm 2.0\%$ en agua residual sintética aplicación de biomasa inmovilizada en las cápsulas de alginato inoculadas (Figura 4.29). Además, tal y como se puede ver en la Figura 4.30, en cápsulas inoculadas se identificó un incremento considerable en la cantidad de biomasa retenida en ellas.

Por lo tanto, las cápsulas de alginato preparadas permitieron la transferencia de nutrientes desde el agua residual hacia la biomasa ubicada dentro de las cápsulas. Como se puede notar, únicamente se evidencia una remoción significativa de materia orgánica, en términos de DQO, y un aumento de biomasa en las cápsulas que fueron inoculadas. De este

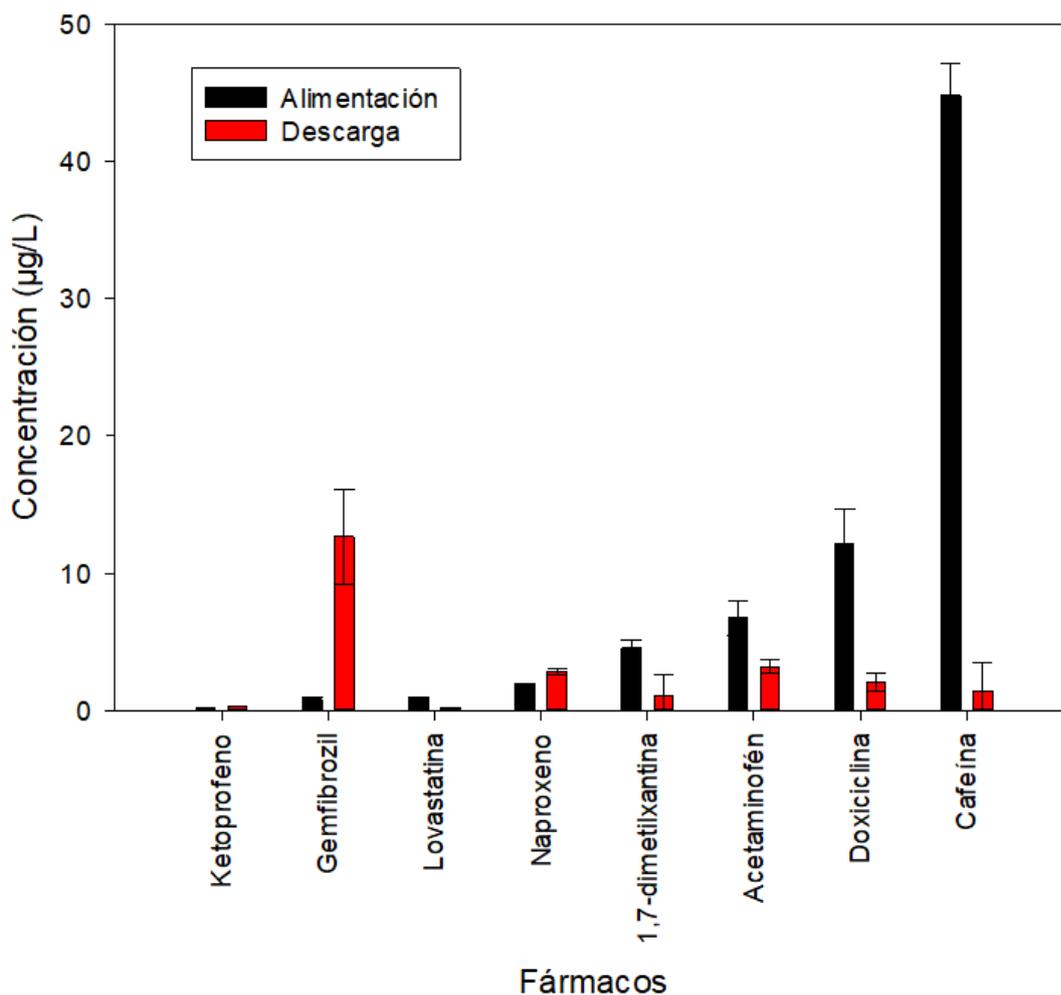


Figura 4.25. Concentración de fármacos en la alimentación y descarga del prototipo

modo, microorganismos inmovilizados en las cápsulas de alginato de calcio preparadas consumieron materia orgánica del agua residual, por lo cual hubo el aumento de densidad celular evidenciado, y una reducción de DQO.

Así también, en la Figura 4.29 se observa que la remoción a través de las cápsulas que no fueron inoculadas fue despreciable. Por lo tanto, se concluye que, en comparación con la adsorción y otros factores abióticos, la biodegradación es el principal mecanismo de remoción de materia orgánica al aplicar los microorganismos inmovilizados.

Por otra parte, se obtuvo una remoción global de DQO de $(81.3 \pm 1.1) \%$ en un sistema en serie del prototipo de reactor de biopelícula desarrollado seguido por un reactor de lodo aerobio inmovilizado en cápsulas de alginato de calcio en suspensión. Como se puede notar en la Figura 4.31, al incorporar el tratamiento con lodo inmovilizado se redujo la remoción de DQO, por lo cual hubo un incremento de la materia orgánica soluble tras el paso del agua residual en él. El aumento de la materia orgánica soluble pudo deberse a la solubilización (desgaste) de las cápsulas de alginato de calcio preparadas durante la operación.

4.3.3 Remoción de fármacos

Hubo una baja remoción para los fármacos estudiados ($<40 \%$), a excepción de la ofloxacina, acetaminofén, naproxeno y 1,7-dimetilxantina, los cuales tuvieron una remoción

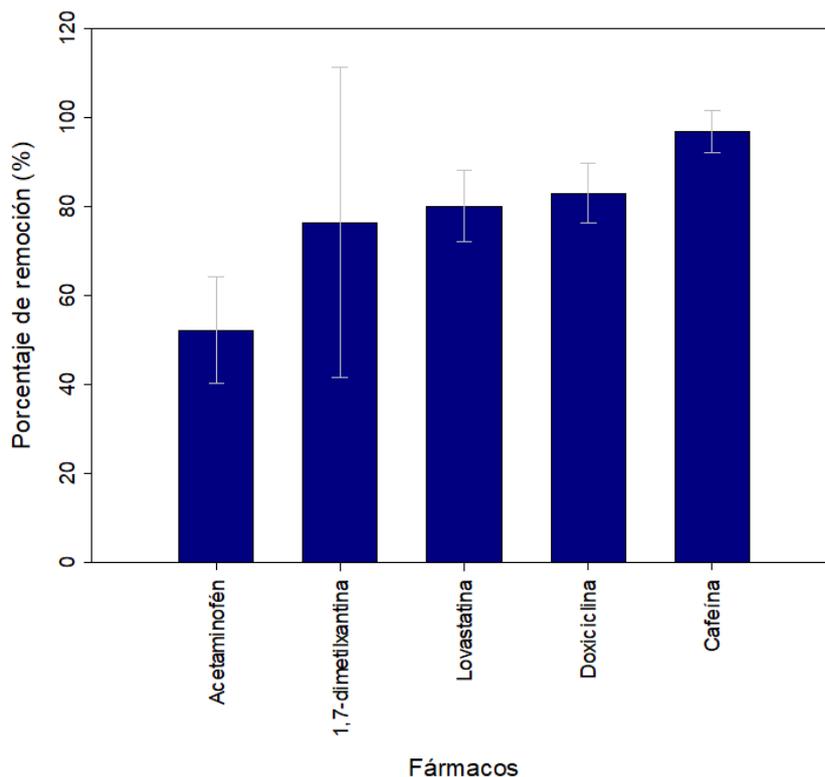
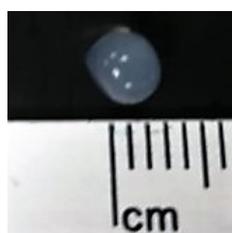


Figura 4.26. Remoción de fármacos



(a) Cápsula individual



(b) Cápsulas agrupadas

Figura 4.27. Cápsulas de alginato de calcio preparadas

moderada (40% - 60%), tal y como se ilustra en la Figura 4.32. En particular, a diferencia de las remoción de otras moléculas, no se observó una contribución de biodegradación en la remoción global de la risperidona y lovastatina. La risperidona tiene un átomo de flúor (-F) unido a un anillo aromático (Figura 4.21i), por lo que es un aceptor de electrones, lo cual perjudica su biodegradación por metabolismo aerobio. Por otra parte, tal y como se indica en el Cuadro 4.8, la lovastina es predominantemente hidrofóbica ($\log D > 2.5$), por lo que hay una mayor resistencia a la transferencia de masa en el medio acuoso, y así se reduce su rapidez de biodegradación. Además, en comparación al prototipo de biopelícula desarrollado en este proyecto, la retención en las cápsulas podría ser menor, por lo que la remoción observada de la lovastina en este caso es más baja.

Por otra parte, en la Figura 4.32 se puede notar que la biodegradación es el principal mecanismo de la remoción del naproxeno y 1,7-dimetilxantina, la remoción total (DT) es mayor en comparación a la remoción observada por factores abióticos. Como se puede ver en la Figura 4.21j y Figura 4.21c, ambas moléculas tienen grupos donadores de electrones

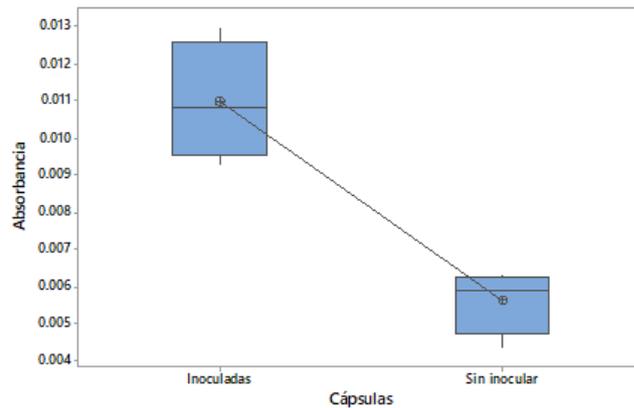


Figura 4.28. Absorbancia de cápsulas de alginato de calcio disueltas en citrato de sodio al 2.5 % tras 5 días de operación en agua de ósmosis estéril

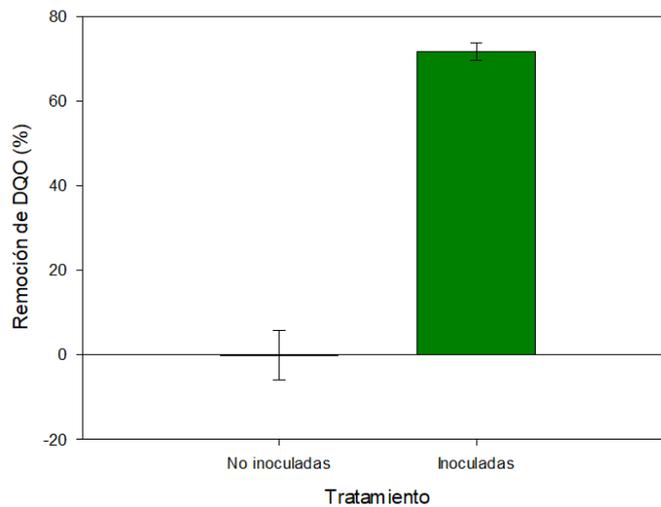


Figura 4.29. Remoción de DQO al aplicar cápsulas de alginato de calcio inoculadas y no inoculadas con lodo aerobio

fuertes (-OR y -NH), que favorecen su metabolismo aerobio. Además, no se retienen considerablemente en la superficie de las cápsulas de alginato de calcio, la contribución de la adsorción en la remoción es baja, por lo que podrían difundirse fácilmente a través de las cápsulas hasta ser absorbidas por los microorganismos inmovilizados.

Mientras tanto, el efecto de la adsorción (DA) es más apreciable en la remoción de la ofloxacina y acetaminofén. En este caso, la remoción de la acetaminofén por adsorción compone cerca de un 50 % de su remoción global. Por lo tanto, las fuerzas intermoleculares, tales como puentes de hidrógeno y dipolo-dipolo, entre la acetaminofén y la superficie hidrofílica de las cápsulas pudieron favorecer su retención. La acetaminofén ha demostrado ser muy biodegradable en el tratamiento biológico aerobio (Kumar et al., 2022; Ramírez-Morales et al., 2020), por lo que algunas moléculas pudieron transportarse a través de la pared de la cápsula y ser fácilmente absorbida por los microorganismos inmovilizados, lo que explica la remoción por biodegradación observada.

Por otra parte, la ofloxacina es un antibiótico persistente en aguas residuales en diferentes

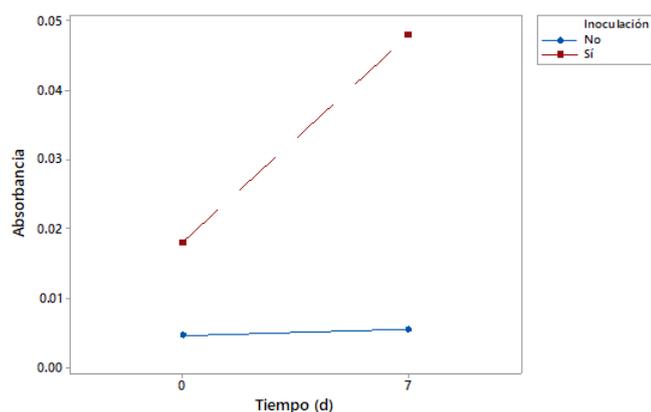


Figura 4.30. Absorbancia de cápsulas de alginato de calcio disueltas en citrato de sodio al 2.5 % tras 7 días de operación en residual sintética ($\lambda = 600 \text{ nm}$)

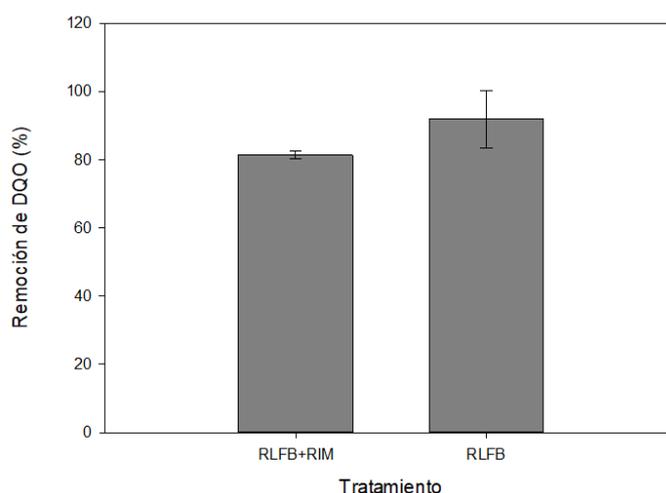


Figura 4.31. Remoción de DQO del prototipo de biopelícula (RLFb) y en serie con un reactor con lodo aerobio inmovilizado en cápsulas de alginato de calcio preparadas en suspensión

regiones geográficas y en Costa Rica presenta un alto riesgo de generar efectos adversos en el ecosistema por su presencia en aguas residuales liberadas al ambiente (Ramírez-Morales et al., 2020; Tran et al., 2018). En este caso, el gran tamaño (Figura 4.21k) y elevado peso molecular (Cuadro 4.8) de la ofloxacina pudieron facilitar su retención en las cápsulas de alginato de calcio y así aumentar su remoción. Además, a diferencia de la risperidona, el grupo $-NR_3$ de esta molécula puede estabilizarse por efecto mesomérico, por lo que actúa como un donador de electrones, y así facilita su biodegradación.

4.3.4 Cambio temporal de cápsulas inmovilizadas

Las cápsulas preparadas fueron estables durante al menos un mes de operación en agua residual sintética, no presentaron una degradación excesiva durante su uso. En la Cuadro 4.10 se indica el tamaño promedio de las cápsulas con respecto al tiempo y en la Figura 4.33 se muestran la apariencia de las cápsulas preparadas a través del tiempo. Como se puede notar, a diferencia de las cápsulas que no fueron inoculadas, las cápsulas inoculadas presentaron “puntos oscuros” visibles después de una semana de operación.

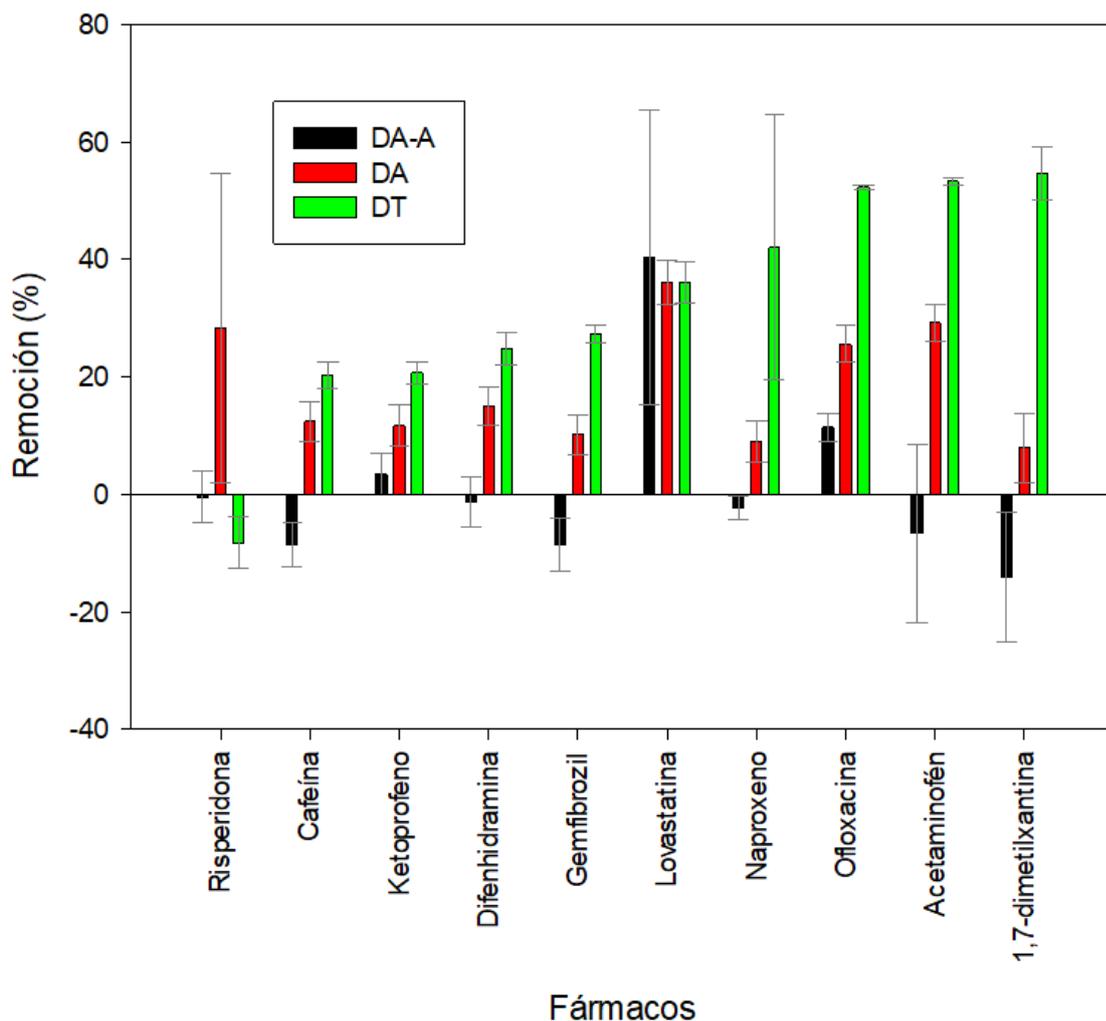


Figura 4.32. Remoción de fármacos en agua residual sintética al aplicar lodo aerobio inmovilizado en cápsulas de alginato de calcio a 200 rpm (DA-A: Abiótico, sin adsorción; DA: Abiótico, con adsorción; DT: Global, con biodegradación)

Así también, como se muestra en la Figura 4.34, se identificó un crecimiento de biomasa significativo ($p < 0.05$) en las cápsulas inoculadas, tras una semana de operación. En este caso, el crecimiento de biomasa pudo favorecer la generación de grumos de biomasa de mayor tamaño dentro de las cápsulas de alginato, los cuales se podrían apreciar como “puntos oscuros” al verlos con el estereoscopio.

En la Figura 4.35 se puede ver que la variabilidad en la medición de biomasa aumentó considerablemente a partir de la tercera semana. Factores no controlados, como la uniformidad de la superficie de las cápsulas, pudieron agravarse con la degradación de las cápsulas. De esta forma, pudo haber mayor diferencia en el transporte de materiales a través de la cápsula y en la liberación de microorganismos desde ellas, por lo que la concentración de biomasa en la tercera y cuarta semana presentó mayor variación en comparación a las semanas anteriores.

Por otro lado, las cápsulas con microorganismos inmovilizados tuvieron un incremento significativo de tamaño ($p < 0.05$) después de la tercera semana de operación. El aumento de tamaño se puede atribuir al flujo desde el seno del agua residual hacia las cápsulas

Cuadro 4.10. Tamaño de cápsulas de alginato de calcio con lodo aerobio inmovilizado

Tiempo transcurrido (d)	Tamaño (mm)
0	3.10 ± 0.23
7	3.21 ± 0.12
14	3.29 ± 0.17
21	3.52 ± 0.17
28	3.50 ± 0.19

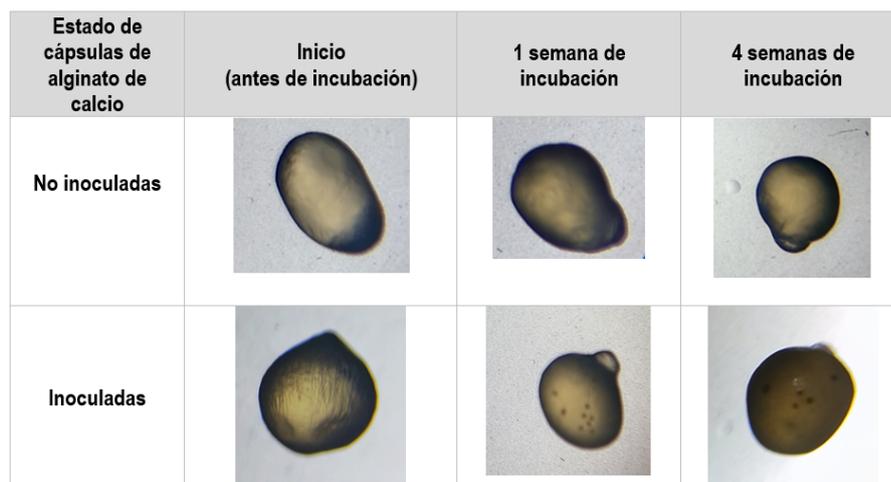


Figura 4.33. Aspecto de cápsulas de alginato de calcio preparadas con respecto al tiempo

favorecido por factores como la degradación superficial e incremento de la concentración de materia orgánica dentro de ellas. En ambos casos, se favorece el flujo de agua hacia el interior de la cápsula gracias a la ósmosis.

El aumento de tamaño de las cápsulas preparadas con respecto al tiempo difiere de la tendencia reportada en la literatura científica en casos similares, en los cuales ocurre una disminución de tamaño, atribuido principalmente por su erosión (Kube et al., 2021; Saxena et al., 2021). Por lo que, en este caso, se podría deducir que predominó la tasa de flujo de medio hacia el interior en comparación a la rapidez de pérdida de material por erosión.

En conclusión, se inmovilizó microorganismos de lodo aerobio en cápsulas de alginato de calcio efectivamente durante al menos 15 días. De este modo se puede remover materia orgánica, en términos de DQO, principalmente por biodegradación. Así también puede removerse moderadamente (40-55 %) naproxeno, ofloxacina, acetaminofén y 1,7-dimetilxantina. Además se comprobó que el método de inmovilización empleado aumenta ligeramente la DQO del agua residual en modo continuo, por lo que se recomienda en aplicaciones donde la probabilidad de sobrepasar el máximo permisible de DQO sea baja.

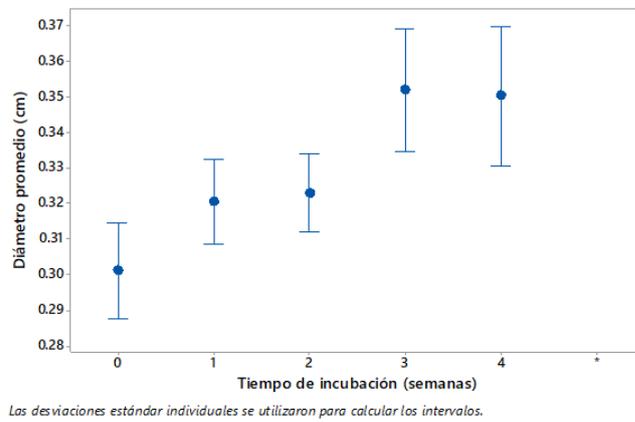


Figura 4.34. Tamaño de cápsulas inmobilizadas con lodo aerobio con respecto al tiempo

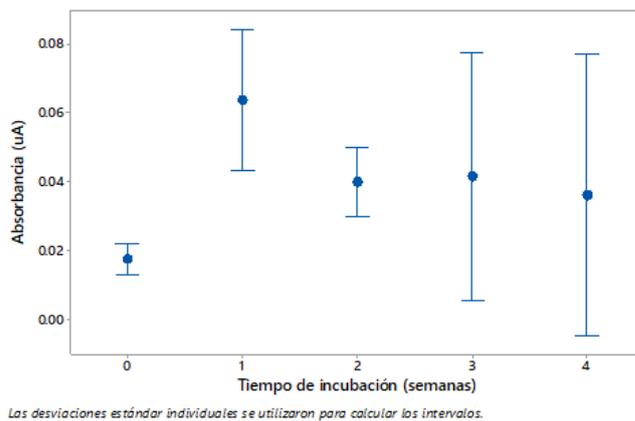


Figura 4.35. Absorbancia de cápsulas de alginato de calcio disueltas en citrato de sodio al 2.5% durante 4 semanas de operación en residual sintética ($\lambda = 600 \text{ nm}$)

5 Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

- La aplicación del DFC facilitó la toma de decisiones durante el desarrollo del prototipo de reactor de biopelícula. La identificación de requerimientos técnicos prioritarios permitió discernir con facilidad la mejor ruta para satisfacer las necesidades del usuario final del producto (o cliente).
- Para la satisfacción de las necesidades y expectativas del usuario final en el desarrollo del prototipo de reactor de biopelícula fue necesario priorizar la disponibilidad sobre la resistencia a la corrosión y térmica de los componentes. Asimismo, se le dio mayor relevancia a la disponibilidad con respecto a la eficiencia en la transferencia de oxígeno del burbujeador y a la biodegradabilidad del soporte natural. Además, se concluyó que se debe velar por el uso de un recipiente de aireación transparente y con volumen mínimo, a pesar de que no sea soldable.
- Un SAF corresponde a la mejor alternativa para su uso en la investigación de remoción de fármacos en agua residual en el contexto de América Latina y el Caribe en comparación con el MBR y el MBBR.
- Al emplear una pajilla de acero inoxidable ($\phi=5$ mm) como burbujeador y al aplicar un flujo de aire de $0.09 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ se generan condiciones aerobias en el prototipo de reactor de biopelícula desarrollado ($\text{OD}=7.10 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$).
- A través del proceso de desarrollo descrito en el Apartado 4.1 se puede obtener un prototipo de reactor de biopelícula aerobio costo-efectivo (inversión $<62\,000$ CRC) y funcional en modo continuo, con una capacidad de 400 mL, esterilizable, reutilizable y fácilmente acoplable a un módulo de control automático de bioprocesos.
- La consideración de cafeína, ibuprofeno, difenhidramina, gemfibrozil, dimetilxantina, acetaminofén, naproxeno, lovastatina, risperidona, ketoprofeno, ofloxacino y/o doxiciclina en investigaciones de remoción de fármacos aumentan la representatividad de sus resultados para el contexto de Costa Rica. Estas sustancias son relevantes en el país por su frecuencia, persistencia o por un alto riesgo de efectos adversos al ecosistema por su liberación a través del vertido de agua residual.
- El prototipo de reactor de biopelícula con soporte de esponja vegetal presentó un periodo de arranque menor o igual a 7 días en modo continuo, menor al comúnmente presentado al emplear soportes de biopelícula plásticos. Por lo que esta configuración tiene el potencial de generar ahorros operativos durante este periodo.
- Un reactor de biopelícula aerobio de lecho sumergido con soporte de esponja vegetal tiene potencial para la remoción de DQO en aguas residuales municipales. La remoción promedio de DQO fue de $(91.04 \pm 0.02) \%$ y su efluente tuvo una DQO de $35.4 \pm 9.5 \text{ mg L}^{-1}$.
- No hay remoción considerable de naproxeno, gemfibrozil y ketoprofeno a través del funcionamiento en modo secuencial por lotes de un reactor de biopelícula aerobio de lecho sumergido con soporte de esponja vegetal, la remoción presentada del prototipo fue negativa. Por lo tanto, es necesario la aplicación de un tratamiento terciario adecuado para su remoción.

- El prototipo de reactor de biopelícula aerobio de lecho sumergido con soporte de esponja vegetal desarrollado remueve moderadamente acetaminofén ($50\pm 19\%$) y 1,7-dimetilxantina ($77\pm 33\%$) al operar en modo secuencial por lotes. Además, tiene un alto desempeño en la remoción de doxiciclina ($83\pm 3\%$), lovastatina ($80\pm 7\%$) y cafeína ($97\pm 5\%$).
- Los soportes individuales de biopelícula de esponja vegetal del prototipo desarrollado retienen mayor cantidad de biomasa ($>210 \text{ mg} \cdot \text{soporte}^{-1}$) en comparación a los soportes plásticos empleados en un MBBR, en operación continua.
- El prototipo desarrollado presenta un potencial de ahorro en la inversión de infraestructura para el tratamiento de lodos y disposición de biosólidos y en sus respectivos costos operativos. La cantidad de SST puede ser de tan solo un 1.2% a la usualmente presentada en tecnologías de crecimiento suspendido y a la del MBBR.
- Hubo una inmovilización efectiva de microorganismos de lodo aerobio en las cápsulas de alginato de calcio preparadas.
- Las cápsulas preparadas permiten la transferencia de materia orgánica hacia los microorganismos inmovilizados, se detectó una remoción de DQO de $72.0 \pm 2.0\%$ y un simultáneo y significativo crecimiento de biomasa tras 7 días de incubación.
- El uso de un reactor con microorganismos de lodo aerobio inmovilizados en cápsulas de alginato de calcio suspendidas aumenta la cantidad de materia orgánica soluble del agua residual. Por lo tanto, en comparación con un reactor de lecho de biopelícula sumergido con esponja vegetal como soporte, la DQO del efluente tiende a ser mayor.
- La biodegradación es el principal mecanismo de remoción de DQO al aplicar microorganismos de lodo aerobio inmovilizados en las cápsulas de alginato de calcio. No hubo una remoción considerable por efectos abióticos.
- A través de la aplicación de microorganismos de lodo aerobio inmovilizados en las cápsulas de alginato de calcio hay una baja remoción ($<40\%$) de risperidona, cafeína, ketoprofeno, difenhidramina, gemfibrozil y lovastatina. Mientras que se puede remover moderadamente ($>40\%$) naproxeno, ofloxacina, acetaminofén y 1,7-dimetilxantina.
- La erosión de las cápsulas de alginato de calcio con microorganismos de lodo aerobio inmovilizados es menor a la expansión provocada en su incubación durante 28 días. Su tamaño incrementó significativamente.
- Hay una retención efectiva de los microorganismos de lodo aerobio inmovilizados en las cápsulas de alginato de calcio durante al menos 15 días.

5.2. Recomendaciones

- Ejecutar reuniones de intercambio en las etapas tempranas de diseño con las personas encargadas de la construcción, con el objetivo de identificar soluciones viables de acuerdo a los recursos disponibles y capacidades, y así disminuir el costo de retrocesos.
- Distinguir la vida útil de la esponja vegetal en las condiciones de operación de un reactor de biopelícula antes de su construcción a gran escala.
- Desarrollar un estudio de mercado de esponjas vegetales *Luffa cylindrica* para mejorar la exactitud de la inversión requerida en la implementación a gran escala.

- Diseñar dispositivos que faciliten renovar fácilmente la esponja vegetal empleada como un soporte de biopelícula fijo.
- Calibrar periódicamente las bombas peristálticas en la operación en continuo de un reactor de biopelícula a escala de laboratorio.
- Evaluar el desempeño de la esponja vegetal como soporte de biopelícula en la remoción de fósforo, nitrógeno y sólidos.
- Acoplar un tratamiento terciario al prototipo de reactor de biopelícula desarrollado para mejorar la remoción de ketoprofeno, gemfibrozil y naproxeno.
- Investigar el control del grosor de la biopelícula en soportes de esponja vegetal.
- Cuantificar los residuos de fármacos que puedan estar en el mejorador de suelo (tal como compost) obtenido por el compostaje de la esponja vegetal empleado como soporte de biopelícula en el tratamiento de agua residual.
- Estudiar el desempeño de un reactor anaerobio de biopelícula de lecho fijo sumergido con esponjas vegetales como soportes en la remoción de fármacos en agua residual.
- Evaluar el TRH en el prototipo de reactor de biopelícula desarrollado para la mejora del desempeño del reactor en la remoción de fármacos es recomendable.
- Investigar el desempeño de microorganismos inmovilizados con capacidad degradadora superior de fármacos en aguas residuales en cápsulas de alginato de calcio.
- Estudiar el efecto de variables del proceso de gelación sobre la retención de microorganismos inmovilizados en cápsulas de alginato de calcio y el transporte de nutrientes a través de ellas.
- Correlacionar la señal de absorbancia y conteo de células en placa para la cuantificación de biomasa con células inmovilizadas.

Referencias bibliográficas

- Abdelfattah, A., Hossain, M. I., & Cheng, L. (2020). High-strength wastewater treatment using microbial biofilm reactor: a critical review. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(5), 75. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02853-y>
- Abtahi, S. M., Petermann, M., Juppeau Flambard, A., Beaufort, S., Terrisse, F., Trotouin, T., Joannis Cassan, C., & Albasi, C. (2018). Micropollutants removal in tertiary moving bed biofilm reactors (MBBRs): Contribution of the biofilm and suspended biomass. *Science of The Total Environment*, 643, 1464-1480. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.303>
- Acosta-Rubí, S., Campocosio, A. T., Montes-Horcasitas, M. D. C., Quintanar-Vera, L., Esparza-García, F., & Rodríguez-Vázquez, R. (2017). Production of a halotolerant biofilm from green coffee beans immobilized on loofah fiber (*Luffa cylindrica*) and its effect on phenanthrene degradation in seawater. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 52(7), 632-640. <https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1294965>
- Ahmed, M. B., Zhou, J. L., Ngo, H. H., Guo, W., Thomaidis, N. S., & Xu, J. (2017). Progress in the biological and chemical treatment technologies for emerging contaminant removal from wastewater: A critical review. *Journal of Hazardous Materials*, 323, 274-298. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.045>
- Applikon Biotechnology B.V. (2008). HARDWARE MANUAL: ez-Control for Autoclavable Bioreactors 1 – 20 L. https://archive-resources.coleparmer.com/Manual_pdfs/99206-xx.pdf
- Azizi, S., Valipour, A., & Sithebe, T. (2013). Evaluation of Different Wastewater Treatment Processes and Development of a Modified Attached Growth Bioreactor as a Decentralized Approach for Small Communities. *The Scientific World Journal*, 2013, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2013/156870>
- Barwal, A., & Chaudhary, R. (2015). Impact of carrier filling ratio on oxygen uptake & transfer rate, volumetric oxygen transfer coefficient and energy saving potential in a lab-scale MBBR. *Journal of Water Process Engineering*, 8, 202-208. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2015.10.008>
- Berk, J., & Berk, S. (2000). Quality Function Deployment. En *Quality Management for the Technology Sector*. Butterworth-Heinemann.
- Casas, M. E., Chhetri, R. K., Ooi, G., Hansen, K. M., Litty, K., Christensson, M., Krage-lund, C., Andersen, H. R., & Bester, K. (2015). Biodegradation of pharmaceuticals in hospital wastewater by staged Moving Bed Biofilm Reactors (MBBR). *Water Research*, 83, 293-302. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.06.042>
- Cassidy, M. B., Lee, H., & Trevors, J. T. (1996). Environmental applications of immobilized microbial cells: A review. *Journal of Industrial Microbiology*, 16(2), 79-101. <https://doi.org/10.1007/BF01570068>
- Cervantes, F. J. (Ed.). (2006). *Advanced biological treatment processes for industrial wastewaters: principles and applications* [OCLC: 255736173]. IWA Publ.
- Challen, I., & Moorhouse, R. (2011). Hydrocolloids in Restructured Foods. En T. R. Laaman (Ed.), *Hydrocolloids in Food Processing* (pp. 165-214). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9780813814490.ch8>
- Chaur Bernal, J. (2005). *Diseño conceptual de productos asistido por ordenador : Un estudio analítico sobre aplicaciones y definición de la estructura básica de un nuevo*

- programa* (Tesis doctoral). Universitat Politècnica de Catalunya. España. <http://hdl.handle.net/10803/6837>
- Chen, B.-Y., Chen, C.-Y., Guo, W.-Q., Chang, H.-W., Chen, W.-M., Lee, D.-J., Huang, C.-C., Ren, N.-Q., & Chang, J.-S. (2014). Fixed-bed biosorption of cadmium using immobilized *Scenedesmus obliquus* CNW-N cells on loofa (*Luffa cylindrica*) sponge. *Bioresource Technology*, *160*, 175-181. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.006>
- Chin-Pampillo, J. S., Ruiz-Hidalgo, K., Masís-Mora, M., Carazo-Rojas, E., & Rodríguez-Rodríguez, C. E. (2015). Design of an optimized biomixture for the degradation of carbofuran based on pesticide removal and toxicity reduction of the matrix. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(23), 19184-19193. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5093-3>
- Clarivate. (2023). Web of Science. <https://www.webofscience.com/wos/woscc/basic-search>
- Corporación para la Investigación de la Corrosión, Reyes-Reyes, M. A., Puentes-Cala, E. A., Corporación para la Investigación de la Corrosión, Casanova-Montes, E. L., Corporación para la Investigación de la Corrosión, López-Delunque, F., Corporación para la Investigación de la Corrosión, Panqueva-Alvarez, J. H., Corporación para la Investigación de la Corrosión, Castillo-Villamizar, G. A., & Corporación para la Investigación de la Corrosión. (2018). INMOVILIZACIÓN DE BACTERIAS POTENCIALMENTE DEGRADADORAS DE PETRÓLEO CRUDO EN MATRICES ORGÁNICAS NATURALES Y SINTÉTICAS. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, *34*(4), 597-609. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.04.04>
- Costa, F., Silva, B., & Tavares, T. (2017). Biofilm Bioprocesses. En *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 143-175). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63663-8.00006-9>
- Darabi, K., Azhdarpoor, A., & Dehghani, M. (2022). Evaluation of carbamazepine removal from aqueous medium using a combined method of ozonation and calcium alginate immobilized *Aspergillus niger*. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02539-5>
- Deowan, S., Bouhadjar, S., & Hoinkis, J. (2015). Membrane bioreactors for water treatment. En *Advances in Membrane Technologies for Water Treatment* (pp. 155-184). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-121-4.00005-8>
- Dias, J., Bellingham, M., Hassan, J., Barrett, M., Stephenson, T., & Soares, A. (2018). Impact of carrier media on oxygen transfer and wastewater hydrodynamics on a moving attached growth system. *Chemical Engineering Journal*, *351*, 399-408. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.06.028>
- di Biase, A., Kowalski, M. S., Devlin, T. R., & Oleszkiewicz, J. A. (2019). Moving bed biofilm reactor technology in municipal wastewater treatment: A review. *Journal of Environmental Management*, *247*, 849-866. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.06.053>
- Doran, P. M. (2013a). Mass Transfer. En *Bioprocess Engineering Principles* (pp. 379-444). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-220851-5.00010-1>
- Doran, P. M. (2013b). Reactor Engineering. En *Bioprocess Engineering Principles* (pp. 761-852). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-220851-5.00014-9>
- Drewnowski, J., Remiszewska-Skwarek, A., Duda, S., & Łagód, G. (2019). Aeration Process in Bioreactors as the Main Energy Consumer in a Wastewater Treatment Plant. Review of Solutions and Methods of Process Optimization. *Processes*, *7*(5), 311. <https://doi.org/10.3390/pr7050311>

- Duarte, J. C., Rodrigues, J. A. R., Moran, P. J. S., Valença, G. P., & Nunhez, J. R. (2013). Effect of immobilized cells in calcium alginate beads in alcoholic fermentation. *AMB Express*, 3(1), 31. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-3-31>
- Dudley, J. (1995). Mass transfer in bubble columns: A comparison of correlations. *Water Research*, 29(4), 1129-1138. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00253-4](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00253-4)
- Dzionic, A., Wojcieszynska, D., Hupert-Kocurek, K., Adamczyk-Habrajska, M., & Guzik, U. (2018). Immobilization of *Planococcus* sp. S5 Strain on the Loofah Sponge and Its Application in Naproxen Removal. *Catalysts*, 8(5), 176. <https://doi.org/10.3390/catal8050176>
- El-Shafai, S. A., & Zahid, W. M. (2013). Performance of aerated submerged biofilm reactor packed with local scoria for carbon and nitrogen removal from municipal wastewater. *Bioresource Technology*, 143, 476-482. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.027>
- Eppendorf. (2016). BioFlo®120: Operating Manual.
- Falås, P., Baillon-Dhumez, A., Andersen, H., Ledin, A., & la Cour Jansen, J. (2012). Suspended biofilm carrier and activated sludge removal of acidic pharmaceuticals. *Water Research*, 46(4), 1167-1175. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.003>
- Fatehifar, M., Borghei, S. M., & Ekhlasi nia, A. (2018). Application of moving bed biofilm reactor in the removal of pharmaceutical compounds (diclofenac and ibuprofen). *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(4), 5530-5535. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.08.029>
- Fratamico, P. M., Annous, B. A., & Gunther, N. W. (Eds.). (2009). *Biofilms in the food and beverage industries*. Woodhead Publishing Limited.
- Garrett, T. R., Bhakoo, M., & Zhang, Z. (2008). Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science*, 18(9), 1049-1056. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2008.04.001>
- Goff, H. D., & Guo, Q. (2019). Chapter 1. The Role of Hydrocolloids in the Development of Food Structure. En F. Spyropoulos, A. Lazidis & I. Norton (Eds.), *Food Chemistry, Function and Analysis* (pp. 1-28). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781788016155-00001>
- Gogoi, A., Mazumder, P., Tyagi, V. K., Tushara Chaminda, G., An, A. K., & Kumar, M. (2018). Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundwater for Sustainable Development*, 6, 169-180. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2017.12.009>
- Groves, D., Syme, J., Molina-Pérez, E., Calvo, C., Gallardo, L., Godínez-Zamora, G., Quirós-Tortós, J., De León, F., Saavedra, V., & Vogt-Schilb, A. (2020). Costos y beneficios de la descarbonización de la economía de Costa Rica: evaluación del Plan Nacional de Descarbonización bajo incertidumbre. <https://publications.iadb.org/publications/spanish/document/Costos-y-beneficios-de-la-descarbonizacion-de-la-economia-de-Costa-Rica-Evaluacion-del-Plan-Nacional-de-Descarbonizacion-bajo-incertidumbre.pdf>
- Guzmán-Díaz, G. (1997). *Aspectos técnicos sobre el cultivo de paste (Luffa cylindrica)*. Ministerio de Agricultura y Ganadería.
- Henze, M. (Ed.). (2008). *Biological wastewater treatment: principles, modelling and design* [OCLC: ocn236186544]. IWA Pub.
- Herrero, M., & Stuckey, D. (2015). Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: A review. *Chemosphere*, 140, 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.033>

- Hou, Y., Liu, M., Tan, X., Hou, S., & Yang, P. (2021). Study on COD and nitrogen removal efficiency of domestic sewage by hybrid carrier biofilm reactor. *RSC Advances*, *11*(44), 27322-27332. <https://doi.org/10.1039/D1RA03286K>
- Jiang, Q., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Price, W. E., Zhang, J., Liang, S., Deng, L., & Guo, W. (2018). Effect of hydraulic retention time on the performance of a hybrid moving bed biofilm reactor-membrane bioreactor system for micropollutants removal from municipal wastewater. *Bioresource Technology*, *247*, 1228-1232. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.114>
- Kiran, D. (2017). Quality Function Deployment. En *Total Quality Management* (pp. 425-437). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811035-5.00030-1>
- Kube, M., Fan, L., & Roddick, F. (2021). Alginate-immobilised algal wastewater treatment enhanced by species selection. *Algal Research*, *54*, 102219. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102219>
- Kumar, M., Ngasepam, J., Dhangar, K., Mahlknecht, J., & Manna, S. (2022). Critical review on negative emerging contaminant removal efficiency of wastewater treatment systems: Concept, consistency and consequences. *Bioresource Technology*, *352*, 127054. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127054>
- Lewandowski, Z., & Boltz, J. (2011). Biofilms in Water and Wastewater Treatment. En *Treatise on Water Science* (pp. 529-570). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53199-5.00095-6>
- Luo, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Kang, J., Xia, S., Zhang, Z., & Price, W. E. (2014). Removal and fate of micropollutants in a sponge-based moving bed bioreactor. *Bioresource Technology*, *159*, 311-319. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.107>
- Mandenius, C.-F. (2016). Challenges for Bioreactor Design and Operation. En C.-F. Mandenius (Ed.), *Bioreactors* (pp. 1-34). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/9783527683369.ch1>
- Mara, D. (2003). *Domestic Wastewater Treatment in Developing Countries*. Earthscan.
- Maritan, D. (2015). *Practical Manual of Quality Function Deployment*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-08521-0>
- Natee, S., Low, S. P., & Teo, E. A. L. (2016). *Quality Function Deployment for Buildable and Sustainable Construction*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-287-849-6>
- Oboh, I. O., & Aluyor, E. O. (2009). *Luffa cylindrica* - an emerging cash crop.
- Poder Ejecutivo de la República de Costa Rica. (2007). Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales. http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?nValor1=1&nValor2=59524
- Qiang, X., Guo, X., Quan, Q., Su, H., & Huang, D. (2020). Improving the Adsorption Performance of Loofah Sponge towards Methylene Blue by Coating Ca²⁺ Cross-linked Sodium Alginate Layers on Its Fiber Surface. *Coatings*, *10*(9), 814. <https://doi.org/10.3390/coatings10090814>
- Ramírez-Morales, D., Masís-Mora, M., Montiel-Mora, J. R., Cambronero-Heinrichs, J. C., Briceño-Guevara, S., Rojas-Sánchez, C. E., Méndez-Rivera, M., Arias-Mora, V., Tormo-Budowski, R., Brenes-Alfaro, L., & Rodríguez-Rodríguez, C. E. (2020). Occurrence of pharmaceuticals, hazard assessment and ecotoxicological evaluation of wastewater treatment plants in Costa Rica. *Science of The Total Environment*, *746*, 141200. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141200>
- Rittmann, B. E. (1987). Aerobic biological treatment. *Environmental Science & Technology*, *21*(2), 128-136. <https://doi.org/doi:10.1021/es00156a002>

- Rittmann, B. E. (2018). Biofilms, active substrata, and me. *Water Research*, *132*, 135-145. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.043>
- Royal Society of Chemistry. (2023). ChemSpider. Consultado el 7 de enero de 2023, desde <http://www.chemspider.com/>
- Rusu, L., Grigoraş, C.-G., Simion, A.-I., Suceveanu, E.-M., Istrate, B., & Harja, M. (2022). Biosorption Potential of Microbial and Residual Biomass of *Saccharomyces pastorianus* Immobilized in Calcium Alginate Matrix for Pharmaceuticals Removal from Aqueous Solutions. *Polymers*, *14*(14), 2855. <https://doi.org/10.3390/polym14142855>
- Saeed, A., & Iqbal, M. (2013). Loofa (*Luffa cylindrica*) sponge: Review of development of the biomatrix as a tool for biotechnological applications. *Biotechnology Progress*, *29*(3), 573-600. <https://doi.org/10.1002/btpr.1702>
- Saidulu, D., Majumder, A., & Gupta, A. K. (2021). A systematic review of moving bed biofilm reactor, membrane bioreactor, and moving bed membrane bioreactor for wastewater treatment: Comparison of research trends, removal mechanisms, and performance. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *9*(5), 106112. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106112>
- Samhan, F., Elliethy, M., Hemdan, B., Youssef, M., & El-Taweel, G. (2017). Bioremediation of oil-contaminated water by bacterial consortium immobilized on environment-friendly biocarriers. *Journal of Egyptian Public Health Association*, *92*(1), 44-51. <https://doi.org/10.21608/epx.2017.7009>
- Sartorius Stedim Biotech GmbH. (2022). Univessel®Glass. <https://www.sartorius.com/download/10336/broch-univesselglass-sbi1554-e-data.pdf>
- Saxena, A., Mishra, B., & Tiwari, A. (2021). Development of diatom entrapped alginate beads and application of immobilized cells in aquaculture. *Environmental Technology & Innovation*, *23*, 101736. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101736>
- Shen, J., Min Xie, Y., Huang, X., Zhou, S., & Ruan, D. (2012). Mechanical properties of luffa sponge. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *15*, 141-152. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2012.07.004>
- Siqueira, G., Bras, J., & Dufresne, A. (2010). LUFFA CYLINDRICA AS A LIGNOCELLULOSIC SOURCE OF FIBER, MICROFIBRILLATED CELLULOSE, AND CELLULOSE NANOCRYSTALS.
- Sotoodeh, K. (2021). *A Practical Guide to Piping and Valves for the Oil and Gas industry*. Elsevier.
- Spongberg, A. L., Witter, J. D., Acuña, J., Vargas, J., Murillo, M., Umaña, G., Gómez, E., & Perez, G. (2011). Reconnaissance of selected PPCP compounds in Costa Rican surface waters. *Water Research*, *45*(20), 6709-6717. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.10.004>
- Suzana, C. u. S. M., Claudia, M., a, M., Larissa Guedes Fiuacuta, M. C. o., & ra, T. d. S. (2013). Immobilization of microbial cells: A promising tool for treatment of toxic pollutants in industrial wastewater. *African Journal of Biotechnology*, *12*(28), 4412-4418. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2677>
- Tang, K., Ooi, G. T., Litty, K., Sundmark, K., Kaarsholm, K. M., Sund, C., Kragelund, C., Christensson, M., Bester, K., & Andersen, H. R. (2017). Removal of pharmaceuticals in conventionally treated wastewater by a polishing moving bed biofilm reactor (MBBR) with intermittent feeding. *Bioresource Technology*, *236*, 77-86. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.159>
- Tchobanoglous, G., Burton, F., Stensel, H. D., & Metcalf & Eddy, I. (2003). *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse* (Cuarta edición). McGraw-Hill Education.

- The American Society of Mechanical Engineers. (2019). *An international Code: 2019 ASME Boiler & Pressure Vessel Code* (2019.^a ed.). THE AMERICAN SOCIETY OF MECHANICAL ENGINEERS.
- Torre, M. L., Giunchedi, P., Maggi, L., Stefli, R., Machiste, E. O., & Conte, U. (1998). Formulation and Characterization of Calcium Alginate Beads Containing Ampicillin. *Pharmaceutical Development and Technology*, 3(2), 193-198. <https://doi.org/10.3109/10837459809028495>
- Tran, N. H., Reinhard, M., & Gin, K. Y.-H. (2018). Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions—a review. *Water Research*, 133, 182-207. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.029>
- Treybal, R. E. (1997). *Operaciones de Transferencia de Masa* (A. García-Rodríguez & J. F. Lozano, Trad.; 2.^a ed.). MCGRAW-HILL.
- Vanloosdrecht, M. (1993). Biofilm bioreactors for waste-water treatment. *Trends in Biotechnology*, 11(4), 117-121. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(93\)90085-N](https://doi.org/10.1016/0167-7799(93)90085-N)
- Verlicchi, P., Al Aukidy, M., & Zambello, E. (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment—A review. *Science of The Total Environment*, 429, 123-155. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.028>
- Von Sperling, M. (2007). *Activated Sludge and Aerobic Biofilm Reactors* (Vol. 6). <https://iwaponline.com/ebooks/book/77/>
- Wang, Y. Z., Zhang, S. H., Pang, C. Q., & Li, J. (2012). Comparison of Luffa Cylindrical Sponge and Plastic Sponge as Carriers in Sequencing Batch Biofilm Reactor for Sewage Treatment. *Advanced Materials Research*, 518-523, 2431-2438. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.518-523.2431>
- Watson-Marlow Limited. (2016). 114FDB drive pump. <https://www.wmfts.com/siteassets/catalog/products/corporate/watson-marlow-pumps/panel-mount-pumps/7250/literature/wd-wm-114fdb-en.pdf>
- Willaert, R. (2009). Cell Immobilization: Engineering Aspects. En *Encyclopedia of Industrial Biotechnology* (eib200). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9780470054581.eib200>
- Yang, Y., Ok, Y. S., Kim, K.-H., Kwon, E. E., & Tsang, Y. F. (2017). Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: A review. *Science of The Total Environment*, 596-597, 303-320. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.102>
- Zainab, A., Meraj, S., & Liaquat, R. (2020). Study on Natural Organic Materials as Biofilm Carriers for the Optimization of Anaerobic Digestion. *Waste and Biomass Valorization*, 11(6), 2521-2531. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00628-7>
- Zhao, B., & Collinson, M. M. (2010). Well-Defined Hierarchical Templates for Multimodal Porous Material Fabrication. *Chemistry of Materials*, 22(14), 4312-4319. <https://doi.org/10.1021/cm101146n>
- Zhao, Y., Liu, D., Huang, W., Yang, Y., Ji, M., Nghiem, L. D., Trinh, Q. T., & Tran, N. H. (2019). Insights into biofilm carriers for biological wastewater treatment processes: Current state-of-the-art, challenges, and opportunities. *Bioresour. Technology*, 288, 121619. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121619>
- Zhu, Y., Zhang, Y., Ren, H.-q., Geng, J.-j., Xu, K., Huang, H., & Ding, L.-l. (2015). Physicochemical characteristics and microbial community evolution of biofilms during the start-up period in a moving bed biofilm reactor [tex.ids: zhuPhysicochemicalCharacteristicsMicrobial2015a]. *Bioresour. Technology*, 180, 345-351. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.006>

A Apéndice

A.1. Herramientas de DFC

Casa de la calidad

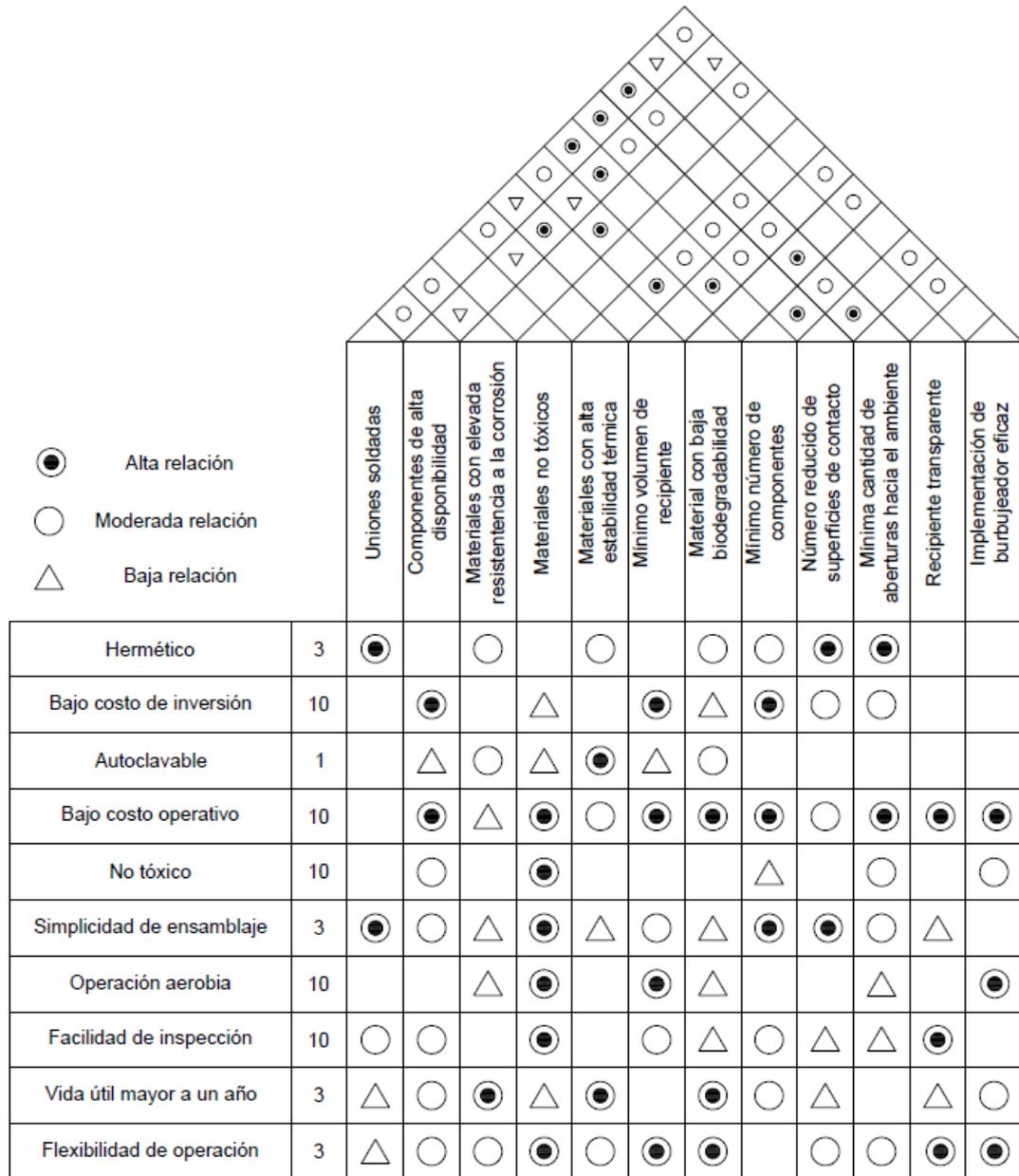


Figura A.1. Casa de la Calidad para el desarrollo de un prototipo de reactor de biopelícula a escala de laboratorio

Matriz de puntuación

En el Cuadro A.1 se indica la puntuación de cada interrelación entre los requerimientos del Cliente y requisitos técnicos, A: Uniones soldadas, B: Componentes con alta disponibilidad, C: Materiales con elevada resistencia a la corrosión, D: Materiales no tóxicos, E: Materiales con alta estabilidad térmica, F: Mínimo volumen de recipiente, G: Material

con baja biodegradabilidad, H: Mínimo número de componentes, I: Número reducido de superficies de contacto, J: Mínima cantidad de aberturas hacia el ambiente, K: Recipiente transparente y L: Implementación de burbujeador eficaz.

Cuadro A.1. Puntuación de la relación entre requerimientos del cliente y requisitos técnicos (10: Alta relación 3:Moderada, 1: Baja relación)

Requerimientos de Cliente	Puntuación de Cliente	Atributos técnicos											
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
Hermético	3	10	0	3	0	3	0	3	3	10	10	0	0
Bajo costo de inversión	10	0	10	0	1	0	10	1	10	3	3	0	0
Autoclavable	1	0	1	3	1	10	1	3	0	0	0	0	0
Bajo costo operativo	10	0	10	1	10	3	10	10	10	3	10	10	10
No tóxico	10	0	3	0	10	0	0	0	1	0	3	0	3
Simplicidad de ensamblaje	3	10	3	1	10	1	3	1	10	10	3	1	0
Operación aerobia	10	0	0	1	10	0	10	1	0	0	1	0	10
Facilidad de inspección	10	3	3	0	10	0	3	1	3	1	1	10	0
Vida útil mayor a un año	3	1	3	10	1	10	0	10	1	3	0	1	3
Flexibilidad de operación	3	1	3	3	10	3	10	10	0	3	3	10	10
Puntaje Total		88	288	74	474	91	370	205	282	148	228	236	269

A.2. Datos experimentales y resultados intermedios

Cuadro A.2. Masa de unidades de soporte de esponja vegetal en forma de disco y aro

Tipo	Masa (± 0.001 g)
Aro	0.264
Aro	0.197
Aro	0.310
Aro	0.180
Aro	0.179
Aro	0.151
Aro	0.135
Aro	0.160
Aro	0.310
Aro	0.220
Aro	0.223
Aro	0.173
Aro	0.181
Aro	0.145
Aro	0.152
Aro	0.345
Aro	0.152
Aro	0.177
Aro	0.120
Aro	0.308

Cuadro A.2 (Continuación desde la página anterior)

Tipo	Masa (± 0.001 g)
Aro	0.171
Aro	0.334
Aro	0.182
Aro	0.136
Aro	0.235
Aro	0.155
Disco	0.195
Disco	0.158
Disco	0.243
Disco	0.220
Disco	0.172
Disco	0.137
Disco	0.239
Disco	0.176
Disco	0.330
Disco	0.158
Disco	0.289
Disco	0.351
Disco	0.289
Disco	0.220
Disco	0.230
Disco	0.163
Disco	0.194
Disco	0.157
Disco	0.334
Disco	0.171
Disco	0.192
Disco	0.189
Disco	0.223
Disco	0.272
Disco	0.143
Disco	0.165
Promedio	0.210

Cuadro A.3. Priorización de fármacos en agua residuales de Costa Rica

Fármaco	Puntuación			Total
	Frecuencia	Frecuencia	Cociente	
	Influyente F_i	Efluyente F_e	de Riesgo HQ	
Caféina	10	10	5	30
Ibuprofeno	10	10	5	30
Difenhidramina	5	5	10	30
Gemfibrozil	5	10	5	25
Dimetilxantina	10	10	1	22
Naproxeno	10	10	1	22

Cuadro A.3 (Continuación desde la página anterior)

Fármaco	Puntuación			Total
	Frecuencia	Frecuencia	Cociente	
	Influyente F_i	Efluente F_e	de Riesgo HQ	
Risperidona	1	1	10	22
Lovastatina	1	1	10	22
Acetaminofén	10	5	1	17
Ketoprofeno	5	10	1	17
Oflaxacino	1	1	5	12
Doxiciclina	1	1	5	12
Albendazol	1	1	5	12
Diclofenaco	1	1	5	12
Trimetropin	1	1	5	12
Azitromicina	1	1	5	12
Claritromicina	1	1	5	12
Fluoxetina	1	1	5	12
Codeína	1	1	5	12
Ciprofloxacino	5	1	1	8
Sulfametoxazol	5	1	1	8
Carbamacepina	1	5	1	8
Pseudofedrina	1	1	1	4
Cefalexina	1	1	1	4
Enrofloxacina	1	1	1	4
Bacitracina	1	1	1	4
Atenolol	1	1	1	4
Metronidazol	1	1	1	4
Clindamicina	1	1	1	4
Sertralina	1	1	1	4
Ácido mefenámico	1	1	1	4
Indometacina	1	1	1	4
Lorazepam	1	1	1	4

Cuadro A.4. Remoción de DQO en modo continuo

Tiempo de operación (d)	DQO (mg/L)		Remoción (%)
	Influyente	Efluente	
7	343 ± 17	35 ± 19	89.80 ± 0.25
11	431 ± 17	<30	>93.04
15	414 ± 17	<30	>92.75
18	383 ± 17	<30	>92.17
21	414 ± 17	52 ± 18	87.44 ± 0.17

Cuadro A.5. Concentración de fármacos para la evaluación de su remoción en modo SBR

Repetición	Elemento	Fármaco	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1	Alimentación	1,7-dimetilxantina	4.80 ± 2.43
1	Descarga	1,7-dimetilxantina	2.91 ± 1.58

Cuadro A.5 (Continuación desde la página anterior)

Repetición	Elemento	Fármaco	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)
2	Alimentación	1,7-dimetilxantina	3.91 ± 2.04
2	Descarga	1,7-dimetilxantina	NC
3	Alimentación	1,7-dimetilxantina	5.02 ± 2.52
3	Descarga	1,7-dimetilxantina	ND
1	Alimentación	Acetaminofén	5.28 ± 2.63
1	Descarga	Acetaminofén	3.79 ± 1.98
2	Alimentación	Acetaminofén	7.47 ± 3.53
2	Descarga	Acetaminofén	2.71 ± 1.49
3	Alimentación	Acetaminofén	7.5 ± 3.55
3	Descarga	Acetaminofén	3.17 ± 1.70
1	Alimentación	Cafeína	43.61 ± 15.81
1	Descarga	Cafeína	3.87 ± 2.02
2	Alimentación	Cafeína	43.37 ± 15.74
2	Descarga	Cafeína	NC
3	Alimentación	Cafeína	47.42 ± 16.98
3	Descarga	Cafeína	NC
1	Alimentación	Doxiciclina	9.33 ± 4.27
1	Descarga	Doxiciclina	1.32 ± 0.81
2	Alimentación	Doxiciclina	13.98 ± 6.01
2	Descarga	Doxiciclina	2.2 ± 1.25
3	Alimentación	Doxiciclina	13.23 ± 5.74
3	Descarga	Doxiciclina	2.68 ± 1.48
1	Alimentación	Gemfibrozil	0.63 ± 0.43
1	Descarga	Gemfibrozil	8.89 ± 4.10
2	Alimentación	Gemfibrozil	0.9 ± 0.59
2	Descarga	Gemfibrozil	13.46 ± 5.83
3	Alimentación	Gemfibrozil	0.95 ± 0.61
3	Descarga	Gemfibrozil	15.66 ± 6.62
1	Alimentación	Ketoprofeno	0.25 ± 0.20
1	Descarga	Ketoprofeno	0.32 ± 0.24
2	Alimentación	Ketoprofeno	0.27 ± 0.21
2	Descarga	Ketoprofeno	0.31 ± 0.24
3	Alimentación	Ketoprofeno	0.25 ± 0.20
3	Descarga	Ketoprofeno	0.36 ± 0.27
1	Alimentación	Lovastatina	1.03 ± 0.66
1	Descarga	Lovastatina	NC
2	Alimentación	Lovastatina	0.81 ± 0.53
2	Descarga	Lovastatina	NC
3	Alimentación	Lovastatina	0.78 ± 0.52
3	Descarga	Lovastatina	0.10 ± 0.27
1	Alimentación	Naproxeno	1.88 ± 1.09
1	Descarga	Naproxeno	2.66 ± 1.47
2	Alimentación	Naproxeno	2.02 ± 1.16
2	Descarga	Naproxeno	2.80 ± 1.54
3	Alimentación	Naproxeno	1.89 ± 1.10
3	Descarga	Naproxeno	3.13 ± 1.69
1	Alimentación	Difenhidramina	NC
1	Descarga	Difenhidramina	ND

Cuadro A.5 (Continuación desde la página anterior)

Repetición	Elemento	Fármaco	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)
2	Alimentación	Difenhidramina	NC
2	Descarga	Difenhidramina	ND
3	Alimentación	Difenhidramina	NC
3	Descarga	Difenhidramina	ND
1	Alimentación	Ofloxacina	ND
1	Descarga	Ofloxacina	ND
2	Alimentación	Ofloxacina	ND
2	Descarga	Ofloxacina	ND
3	Alimentación	Ofloxacina	ND
3	Descarga	Ofloxacina	ND
1	Alimentación	Risperidona	ND
1	Descarga	Risperidona	ND
2	Alimentación	Risperidona	ND
2	Descarga	Risperidona	ND
3	Alimentación	Risperidona	ND
3	Descarga	Risperidona	ND

Cuadro A.6. Remoción de fármacos en modo SBR

Fármaco	Remoción			
	1	2	3	Promedio
1,7-dimetilxantina	39 %	>95 %	>98 %	77 %
Acetaminofén	28 %	64 %	58 %	50 %
Cafeína	91 %	100 %	100 %	97 %
Doxiciclina	86 %	84 %	80 %	83 %
Gemfibrozil	-1311 %	-1396 %	-1548 %	-1418 %
Ketoprofeno	-28 %	-15 %	-44 %	-29 %
Lovastatina	80 %	>74 %	>87 %	80 %
Naproxeno	-41 %	-39 %	-66 %	-49 %

Cuadro A.7. SST en el efluente del prototipo de biopelícula desarrollado (“sólo FBR”) y el mismo acoplado a un reactor con cápsulas de alginato inmovilizadas en suspensión (“En serie”) en modo continuo

Tratamiento	Masa (± 0.0001 g)		Masa de sólidos (g)	SST (mg/L)
	Inicio	Final		
Blanco	38.0041	38.0044	0.0003	3.0
Blanco	35.2700	35.2702	0.0002	2.0
En serie	39.0038	39.0063	0.0025	62.5
En serie	43.4318	43.434	0.0022	55.0
Sólo FBR	35.5859	35.5864	0.0005	12.5

Cuadro A.8. Medición de masa para la determinación de humedad de esponjas vegetales

ID	Masa (± 0.0001 g)		Masa de agua (g)	Humedad H (%)
	Antes	Después		
1	33.9308	33.9167	0.0141	6.7%
2	36.4331	36.4075	0.0256	12.2%

Cuadro A.9. Medición de masa para la determinación de biomasa adherida a esponjas vegetales

Elemento	Masa (g)
Esponjas vegetales tras operación (Masa seca)	7.097 ± 0.001
Esponjas vegetales antes de operación (Masa húmeda)	3.733 ± 0.001
Esponjas vegetales antes de operación (Masa seca)	3.38 ± 0.13
Sólidos adheridos	3.37 ± 0.13

Cuadro A.10. Absorbancia ($\lambda=600$ nm) en ensayo para la determinación de la efectividad de retención de encapsulamiento

Muestra	Inoculación	Tiempo de gelación (h)	Tiempo de incubación (d)	Absorbancia (± 0.0001)		
				1	2	3
Medio	Sí	2	0	0.0033	0.0033	0.0032
Medio	Sí	2	0	0.0105	0.0104	0.0104
Medio	No	2	0	-0.001	-0.001	-0.001
Medio	No	2	0	0.0043	0.0042	0.0043
Medio	Sí	15	0	-0.007	-0.007	-0.007
Medio	Sí	15	0	-0.005	-0.005	-0.005
Medio	No	15	0	-0.002	-0.002	-0.002
Medio	No	15	0	-0.004	-0.004	-0.004
Cápsulas	Sí	2	0	0.0053	0.0053	0.0053
Cápsulas	No	2	0	0.0039	0.0039	0.0039
Cápsulas	Sí	15	0	0.0061	0.0077	0.0084
Cápsulas	No	15	0	0.0047	0.0047	0.0048
Medio	Sí	2	5	0.0000	0.0000	0.0000
Medio	Sí	2	5	0.0024	0.0024	0.0024
Medio	No	2	5	0.0000	0.0000	0.0000
Medio	No	2	5	0.0005	0.0005	0.0004
Medio	Sí	15	5	0.0002	0.0002	0.0002
Medio	Sí	15	5	0.0018	0.0016	0.0016
Medio	No	15	5	0.0017	0.0015	0.0015
Medio	No	15	5	0.0002	0.0003	0.0003
Cápsulas	Sí	2	5	0.0131	0.0130	0.0129
Cápsulas	Sí	2	5	0.0103	0.0104	0.0102
Cápsulas	No	2	5	0.0041	0.0045	0.0045

Cuadro A.10 (Continuación desde la página anterior)

Muestra	Inoculación	Tiempo de gelación(h)	Tiempo de incubación (d)	Absorbancia (± 0.0001)		
				1	2	3
Cápsulas	No	2	5	0.0055	0.0060	0.0059
Cápsulas	Sí	15	5	0.0094	0.0093	0.0092
Cápsulas	Sí	15	5	0.0113	0.0114	0.0114
Cápsulas	No	15	5	0.0059	0.0060	0.0060
Cápsulas	No	15	5	0.0063	0.0063	0.0064

Cuadro A.11. Absorbancia de cápsulas de alginato de calcio disueltas en acético anhídrido 2.5 % y agua residual sintética tras 7 días de incubación en agua residual sintética (=600 nm) en ensayo de remoción de DQO

Tiempo de operación (d)	Inoculación	Absorbancia (± 0.0001)		
		1	2	3
0	No	0.0047	0.0047	0.0046
0	Sí	0.018	0.0181	0.0179
7	No	0.0081	0.008	0.008
7	No	0.0031	0.003	0.0029
7	Sí	0.0495	0.0497	0.0497
7	Sí	0.0469	0.0457	0.0456

Cuadro A.12. DQO en la evaluación de su remoción a través de las cápsulas preparadas

ID	DQO (mg/L)
Alimentación	488
NI1	509
NI2	469
I1	132
I2	146

Cuadro A.13. DQO en la comparación de la remoción del prototipo de reactor de bio-película propuesto (RLFB) y acoplado con un reactor con lodo aerobio inmovilizado en cápsulas preparadas (RIM) en modo continuo

ID	DQO (mg/L)		Remoción DQO
	Influyente	Efluyente	
RLFB1	483	68	86 %
RLFB2	387	8.5	98 %
RLFB+RIM1	503	98	81 %
RLFB+RIM2	379	68	82 %

Cuadro A.14. Concentración de fármacos en agua residual sintética en ensayo de remoción con lodo aerobio inmovilizado en cápsulas de alginato de calcio preparadas (A: Alimentación, DA-A: Abiótico sin adsorción en cápsulas, DA: Abiótico, incluyendo adsorción, DT: Remoción global, incluyendo biodegradación)

Réplica	Tratamiento	Fármaco	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1	DA	1,7-dimetilxantina	81.77 \pm 26.97
2	DA	1,7-dimetilxantina	91.05 \pm 29.55
3	DA	1,7-dimetilxantina	91.89 \pm 29.78
1	DT	1,7-dimetilxantina	45.90 \pm 16.51
2	DT	1,7-dimetilxantina	46.17 \pm 16.60
3	DT	1,7-dimetilxantina	38.53 \pm 14.23
1	DA-A	1,7-dimetilxantina	97.22 \pm 31.24
2	DA-A	1,7-dimetilxantina	115.72 \pm 36.23
3	DA-A	1,7-dimetilxantina	115.27 \pm 36.11
1	A	1,7-dimetilxantina	93.36 \pm 30.19
2	A	1,7-dimetilxantina	98.32 \pm 31.54
1	DA	Acetaminofén	149.22 \pm 44.96
2	DA	Acetaminofén	138.75 \pm 42.26
3	DA	Acetaminofén	137.69 \pm 41.99
1	DT	Acetaminofén	92.55 \pm 29.96
2	DT	Acetaminofén	94.78 \pm 30.58
3	DT	Acetaminofén	93.67 \pm 30.27
1	DA-A	Acetaminofén	248.86 \pm 69.42
2	DA-A	Acetaminofén	195.97 \pm 56.67
3	DA-A	Acetaminofén	196.28 \pm 56.75
1	A	Acetaminofén	159.84 \pm 47.66
2	A	Acetaminofén	240.91 \pm 67.54
1	DA	Cafeína	120.75 \pm 37.56
2	DA	Cafeína	113.20 \pm 35.56
3	DA	Cafeína	112.42 \pm 35.35
1	DT	Cafeína	107.68 \pm 34.08
2	DT	Cafeína	105.33 \pm 33.44
3	DT	Cafeína	101.83 \pm 32.50
1	DA-A	Cafeína	148.63 \pm 44.81
2	DA-A	Cafeína	139.13 \pm 42.36
3	DA-A	Cafeína	141.72 \pm 43.03
1	A	Cafeína	117.10 \pm 36.59
2	A	Cafeína	146.39 \pm 44.23
1	DA	Difenhidramina	149.94 \pm 45.14
2	DA	Difenhidramina	140.89 \pm 42.82
3	DA	Difenhidramina	139.79 \pm 42.53
1	DT	Difenhidramina	125.98 \pm 38.94
2	DT	Difenhidramina	132.18 \pm 40.56
3	DT	Difenhidramina	122.96 \pm 38.14
1	DA-A	Difenhidramina	163.06 \pm 48.48
2	DA-A	Difenhidramina	174.06 \pm 51.24
3	DA-A	Difenhidramina	176.62 \pm 51.88
1	A	Difenhidramina	145.81 \pm 44.09
2	A	Difenhidramina	192.08 \pm 55.71

Cuadro A.14 (Continuación desde la página anterior)

Réplica	Tratamiento	Fármaco	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1	DA	Gemfibrozil	203.69 \pm 58.56
2	DA	Gemfibrozil	189.92 \pm 55.18
3	DA	Gemfibrozil	191.55 \pm 55.58
1	DT	Gemfibrozil	155.54 \pm 46.57
2	DT	Gemfibrozil	156.47 \pm 46.81
3	DT	Gemfibrozil	161.61 \pm 48.11
1	DA-A	Gemfibrozil	226.33 \pm 64.05
2	DA-A	Gemfibrozil	234.84 \pm 66.09
3	DA-A	Gemfibrozil	246.03 \pm 68.75
1	A	Gemfibrozil	186.64 \pm 54.37
2	A	Gemfibrozil	247.43 \pm 69.09
1	DA	Ketoprofeno	205.10 \pm 58.91
2	DA	Ketoprofeno	193.73 \pm 56.12
3	DA	Ketoprofeno	189.89 \pm 55.17
1	DT	Ketoprofeno	171.39 \pm 50.57
2	DT	Ketoprofeno	179.21 \pm 52.53
3	DT	Ketoprofeno	177.91 \pm 52.20
1	DA-A	Ketoprofeno	206.59 \pm 59.27
2	DA-A	Ketoprofeno	222.27 \pm 63.07
3	DA-A	Ketoprofeno	214.77 \pm 61.26
1	A	Ketoprofeno	190.30 \pm 55.28
2	A	Ketoprofeno	254.04 \pm 70.65
1	DA	Lovastatina	138.86 \pm 42.29
2	DA	Lovastatina	141.07 \pm 42.86
3	DA	Lovastatina	126.42 \pm 39.05
1	DT	Lovastatina	137.00 \pm 41.81
2	DT	Lovastatina	141.94 \pm 43.09
3	DT	Lovastatina	127.14 \pm 39.24
1	DA-A	Lovastatina	156.06 \pm 46.70
2	DA-A	Lovastatina	65.14 \pm 22.23
3	DA-A	Lovastatina	157.62 \pm 47.10
1	A	Lovastatina	174.79 \pm 51.42
2	A	Lovastatina	248.70 \pm 69.39
1	DA	Naproxeno	137.30 \pm 41.89
2	DA	Naproxeno	130.79 \pm 40.20
3	DA	Naproxeno	127.23 \pm 39.26
1	DT	Naproxeno	98.91 \pm 31.70
2	DT	Naproxeno	106.59 \pm 33.78
3	DT	Naproxeno	46.57 \pm 16.72
1	DA-A	Naproxeno	145.36 \pm 43.97
2	DA-A	Naproxeno	148.11 \pm 44.67
3	DA-A	Naproxeno	151.10 \pm 45.44
1	A	Naproxeno	124.57 \pm 38.57
2	A	Naproxeno	165.03 \pm 48.97
1	DA	Ofloxacina	278.24 \pm 76.33
2	DA	Ofloxacina	302.66 \pm 81.98
3	DA	Ofloxacina	292.65 \pm 79.67
1	DT	Ofloxacina	185.22 \pm 54.02

Cuadro A.14 (Continuación desde la página anterior)

Réplica	Tratamiento	Fármaco	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)
2	DT	Ofloxacina	187.96 \pm 54.70
3	DT	Ofloxacina	186.61 \pm 54.36
1	DA-A	Ofloxacina	342.34 \pm 91.02
2	DA-A	Ofloxacina	339.76 \pm 90.44
3	DA-A	Ofloxacina	356.70 \pm 94.26
1	A	Ofloxacina	383.78 \pm 100.30
2	A	Ofloxacina	398.25 \pm 103.51
1	DA	Risperidona	88.40 \pm 28.82
2	DA	Risperidona	62.12 \pm 21.36
3	DA	Risperidona	41.60 \pm 15.19
1	DT	Risperidona	92.94 \pm 30.07
2	DT	Risperidona	100.64 \pm 32.17
3	DT	Risperidona	96.42 \pm 31.02
1	DA-A	Risperidona	93.94 \pm 30.35
2	DA-A	Risperidona	89.12 \pm 29.02
3	DA-A	Risperidona	86.25 \pm 28.22
1	A	Risperidona	71.15 \pm 23.97
2	A	Risperidona	107.47 \pm 34.02

Cuadro A.15. Tamaño de cápsulas de alginato de calcio preparadas durante 4 semanas

Semana	ID	Tipo	Diámetro (± 0.001 cm)
0	I0	Inoculado	0.420
0	I0	Inoculado	0.350
0	I0	Inoculado	0.300
0	I0	Inoculado	0.300
0	I0	Inoculado	0.300
0	I0	Inoculado	0.270
0	I0	Inoculado	0.300
0	I0	Inoculado	0.270
0	I0	Inoculado	0.300
0	I0	Inoculado	0.300
0	I0	Inoculado	0.325
0	I0	Inoculado	0.300
0	I0	Inoculado	0.300
0	NIO	No inoculado	0.245
0	NIO	No inoculado	0.270
0	NIO	No inoculado	0.340
0	NIO	No inoculado	0.240
0	NIO	No inoculado	0.310
0	NIO	No inoculado	0.290
0	NIO	No inoculado	0.300
0	NIO	No inoculado	0.320
0	NIO	No inoculado	0.300
0	NIO	No inoculado	0.320
0	NIO	No inoculado	0.300

Cuadro A.15 (Continuación desde la página anterior)

Semana	ID	Tipo	Diámetro (± 0.001 cm)
0	NI0	No inoculado	0.360
0	NI0	No inoculado	0.320
1	I1A	Inoculado	0.320
1	I1A	Inoculado	0.325
1	I1A	Inoculado	0.300
1	I1A	Inoculado	0.330
1	I1A	Inoculado	0.300
1	I1A	Inoculado	0.310
1	I1A	Inoculado	0.330
1	I1B	Inoculado	0.300
1	I1B	Inoculado	0.330
1	I1B	Inoculado	0.345
1	I1B	Inoculado	0.290
1	I1B	Inoculado	0.300
1	I1B	Inoculado	0.365
1	I1B	Inoculado	0.350
1	I1B	Inoculado	0.315
1	NI1A	No inoculado	0.360
1	NI1A	No inoculado	0.300
1	NI1A	No inoculado	0.300
1	NI1A	No inoculado	0.310
1	NI1A	No inoculado	0.340
1	NI1A	No inoculado	0.330
1	NI1A	No inoculado	0.310
1	NI1A	No inoculado	0.375
1	NI1A	No inoculado	0.360
1	NI1B	No inoculado	0.350
1	NI1B	No inoculado	0.310
1	NI1B	No inoculado	0.300
1	NI1B	No inoculado	0.350
1	NI1B	No inoculado	0.310
1	NI1B	No inoculado	0.350
1	NI1B	No inoculado	0.355
2	I2A	Inoculado	0.330
2	I2A	Inoculado	0.355
2	I2A	Inoculado	0.300
2	I2A	Inoculado	0.330
2	I2A	Inoculado	0.320
2	I2A	Inoculado	0.300
2	I2A	Inoculado	0.300
2	I2A	Inoculado	0.340
2	I2A	Inoculado	0.310
2	I2B	Inoculado	0.320
2	I2B	Inoculado	0.340
2	I2B	Inoculado	0.290
2	I2B	Inoculado	0.350
2	I2B	Inoculado	0.335

Cuadro A.15 (Continuación desde la página anterior)

Semana	ID	Tipo	Diámetro (±0.001 cm)
2	I2B	Inoculado	0.325
2	I2B	Inoculado	0.425
3	I3A	Inoculado	0.380
3	I3A	Inoculado	0.365
3	I3A	Inoculado	0.310
3	I3A	Inoculado	0.380
3	I3A	Inoculado	0.375
3	I3A	Inoculado	0.300
3	I3A	Inoculado	0.405
3	I3A	Inoculado	0.320
3	I3A	Inoculado	0.365
3	I3B	Inoculado	0.340
3	I3B	Inoculado	0.425
3	I3B	Inoculado	0.350
3	I3B	Inoculado	0.305
3	I3B	Inoculado	0.365
3	I3B	Inoculado	0.340
3	I3B	Inoculado	0.350
3	I3B	Inoculado	0.350
3	I3B	Inoculado	0.310
4	NI4B	No inoculado	0.390
4	NI4B	No inoculado	0.400
4	NI4B	No inoculado	0.350
4	NI4B	No inoculado	0.355
4	NI4B	No inoculado	0.330
4	NI4B	No inoculado	0.400
4	NI4B	No inoculado	0.380
4	NI4B	No inoculado	0.350
4	I4A	Inoculado	0.380
4	I4A	Inoculado	0.365
4	I4A	Inoculado	0.385
4	I4A	Inoculado	0.300
4	I4A	Inoculado	0.330
4	I4A	Inoculado	0.345
4	I4A	Inoculado	0.360
4	I4B	Inoculado	0.375
4	I4B	Inoculado	0.380
4	I4B	Inoculado	0.400
4	I4B	Inoculado	0.315
4	I4B	Inoculado	0.300
4	I4B	Inoculado	0.310
4	I4B	Inoculado	0.360

Cuadro A.16. Absorbancia de cápsulas de alginato de calcio disueltas en acético anhidrido 2.5 % y agua residual sintética durante 4 semanas de incubación ($\lambda=600$ nm)

Semana	Elemento	Tipo	ID	Absorbancia (± 0.0001)		
				1	2	3
0	Cápsulas	Inoculadas	I0	0.0179	0.0181	0.0179
0	Cápsulas	No inoculadas	NI0	0.0104	0.0103	0.0103
0	Cápsulas	No inoculadas	NI0	0.0091	0.0081	0.0082
0	Cápsulas	Inoculadas	I0	0.0169	0.0169	0.0168
0	Cápsulas	Inoculadas	I0	0.0209	0.0212	0.0216
0	Cápsulas	No inoculadas	NI0	0.0141	0.0145	0.0145
0	Cápsulas	No inoculadas	NI0	0.0095	0.0095	0.0092
0	Cápsulas	Inoculadas	I0	0.0146	0.0144	0.0142
0	Cápsulas	No inoculadas	NI0	0.0223	0.0226	0.0226
0	Cápsulas	No inoculadas	NI0	0.0513	0.0517	0.0525
1	Líquido	No inoculadas	LNI1A	0.0143	0.0142	0.0143
1	Líquido	No inoculadas	LNI1B	0.0189	0.018	0.0175
1	Líquido	Inoculadas	LI1A	0.1603	0.1612	0.1615
1	Líquido	Inoculadas	LI1B	0.2816	0.2827	0.2839
1	Cápsulas	No inoculadas	NI1A	0.0149	0.0148	0.0151
1	Cápsulas	No inoculadas	NI1B	0.0123	0.0123	0.0121
1	Cápsulas	Inoculadas	I1A	0.0654	0.0655	0.0655
1	Cápsulas	Inoculadas	I1B	0.0621	0.0622	0.0624
2	Líquido	Inoculadas	LI2A	0.0902	0.0900	0.0896
2	Líquido	Inoculadas	LI2B	0.1490	0.1487	0.1470
2	Cápsulas	Inoculadas	I2A	0.0409	0.0408	0.041
2	Cápsulas	Inoculadas	I2B	0.0393	0.0393	0.0393
3	Líquido	Inoculadas	LI3A	0.0777	0.0778	0.0780
3	Líquido	Inoculadas	LI3B	0.0835	0.0836	0.0836
3	Cápsulas	Inoculadas	I3A	0.0388	0.0388	0.0386
3	Cápsulas	Inoculadas	I3B	0.0442	0.0447	0.0443
4	Líquido	No inoculadas	LNI4A	0.1518	0.1519	0.1525
4	Líquido	No inoculadas	LNI4B	0.0097	0.0095	0.0100
4	Líquido	Inoculadas	LI4A	0.0648	0.0654	0.0659
4	Líquido	Inoculadas	LI4B	0.0986	0.0983	0.0988
4	Cápsulas	No inoculadas	NI4A	0.0133	0.0129	0.0129
4	Cápsulas	No inoculadas	NI4B	0.0111	0.0115	0.0112
4	Cápsulas	Inoculadas	I4A	0.0329	0.0328	0.0331
4	Cápsulas	Inoculadas	I4B	0.0378	0.0394	0.0409

Cuadro A.17. Medición de volumen y tiempo en la calibración del flujo entregada por una bomba peristáltica

Punto de ajuste (mL/min)	Tiempo (min)	Volumen (mL)	Flujo medido (mL/min)	Error absoluto (mL)
0.8	3.92	4.0	1.02	0.22
0.6	5.17	4.0	0.77	0.17
0.4	3.67	2.0	0.55	0.15

Cuadro A.17 (Continuación desde la página anterior)

Punto de ajuste (mL/min)	Tiempo (min)	Volumen (mL)	Flujo medido (mL/min)	Error absoluto (mL)
0.3	4.57	2.1	0.46	0.16
0.2	5.70	2.0	0.35	0.15

A.3. Muestra de cálculo

Estimación del espesor de una tapa plana

El espesor de una tapa plana para el prototipo de reactor se estimó al aplicar la ecuación (4.1), tal y como se indica a continuación:

$$t = 115\text{mm} \cdot \left(\frac{0.25 \cdot 0.334 \text{ N mm}^{-2}}{103 \text{ N mm}^{-2} \cdot 0.85} \right)^{1/2}$$

La presión de diseño incluyó un 10 % de factor de seguridad y el material es acero inoxidable AISI 304. Por lo tanto, se obtiene:

$$t = 3.55\text{mm}$$

Adicionalmente se emplean 0.45 mm de factor de corrosión, por lo que el espesor final mínimo recomendado es de 4.00 mm.

Determinación de la remoción de contaminantes

La remoción de contaminantes por la aplicación de alguna tecnología se determinó a través de la ecuación (3.2). Por lo tanto, al emplear los datos del Cuadro A.13, fila 3, columnas 2 y 3, se obtiene:

$$R = \frac{483 - 68}{483} \cdot 100 \%$$

$$R = 86 \%$$

Cuantificación de biomasa adherida

En primer lugar se calculó la humedad de los soportes de esponja vegetal a través de la ecuación (3.4). De este modo, al emplear los datos de la fila 3, columnas 2 y 3, y la masa promedio de una unidad de soporte de esponja vegetal, se obtiene:

$$H = \frac{33.9308 - 33.9167}{0.210}$$

$$H = 0.067$$

Se repite para la otra otra réplica, y se obtiene un promedio de humedad de 0.095 g/g. De este modo, al aplicar la ecuación (3.3) con los datos indicados en el Cuadro A.9, columna 2, se obtiene:

$$M = \frac{7.097 - 3.733 \cdot (1 - 0.095)}{3.733 \cdot (1 - 0.095)}$$

$$M = 1.10 \text{ g/g}$$

A.4. Código de Matlab: Aireación

```
clc; clear all
format long;
%Propiedades de recipiente
V_l=350; % Volumen del líquido, mL
Nivel_l=0.065; % Nivel del líquido con respecto al fondo, m
D_r= 0.088; % Diámetro del recipiente, m
A_t_r= (pi/4)*(D_r)^2; %Área transversal del recipiente, m^2

%Propiedades del entorno
T_C=20; %Temperatura ambiente, °C
T_K= 273.15+T_C; %Temperatura ambiente, K
P_mmHg = 677.3825775; %Presión atmosférica, mm Hg
P_Pa = (P_mmHg)*(101325/760); %Presión atmosférica, Pa
g=9.81; %aceleración gravitacional, m/s^2

%Características del burbujeador
l_b=0.1; %Longitud de burbujeador, m
Z_o= 0.02; %Posición del orificio con respecto al fondo, m
d_o=5e-03; %Diámetro de orificio, m
A_o= (pi/4)*(d_o)^2; %Área transversal del agujero, m^2
r_b= 4.6e-05; %Rugosidad el burbujeador (acero inoxidable), m

%Características de manguera flexible
l_m=1; %Longitud de manguera, m
r_m=3e-07; %Rugosidad de manguera, m

%Propiedades del líquido
rho_L=998; %Densidad del líquido, kg/m^3
mu_L=1e-03; %Viscosidad del líquido, Pa s
lambda_L=7.28E-02; %Tensión superficial, N/m
Z_s=0.065; %Nivel de la superficie del líquido, m

%Propiedades del aire
P_o=(Nivel_l-Z_o)*(rho_L)*g+P_Pa; %Presión en el orificio de salida, Pa
MM_a= 28.97; % Masa molar del aire a la presión y temperatura de trabajo,
g/mol
R=8.314; %Constante del gas ideal, J/mol K
rho_a= (P_o)*(MM_a)*(1/(R*T_K))*(1/1000); % Densidad del aire dentro del
tanque, kg/m^3
rho_e= (P_Pa)*(MM_a)*(1/(R*T_K))*(1/1000); % Densidad del aire dentro del
tanque, kg/m^3
mu_a=0.000018; % Viscosidad del aire, Pa s
Dif_o2w_cm2s=2.00E-05; %Difusividad de oxígeno en agua, cm^2/s
Dif_o2w_m2s=(Dif_o2w_cm2s)*1e-04; %Difusividad de oxígeno en agua, cm^2/s
Exad=1.4; %Exponente adiabático, adim
gamma_a= rho_a*g; % Peso específico del aire dentro del recipiente, N m^-3
gamma_e= rho_e*g; % Peso específico del aire dentro del ambiente, N m^-3
```

```

%Díámetro de burbuja
Crit_reg=(20*((lambda_L)*(d_o))^5/(((g)*(rho_L-rho_a))^2*(rho_L)^3))^(1/6);
%Criterio de regimen de flujo
qG_i_m3h=0.02;% Valor inicial de rango del caudal de aire, m^3/h
%qG_i_m3s=(qG_i_m3h)*(1/60)*(1/60); % Valor inicial de rango del caudal de
aire, m^3/s
qG_f_m3h=0.1;% Valor final de rango del caudal de aire, m^3/h
%qG_f_m3s=(qG_f_m3h)*(1/60)*(1/60); % Valor final de rango del caudal de
aire, m^3/s
i=0; %Inicialización del contador

for qG_m3h= qG_i_m3h:0.005:qG_f_m3h
    qG_m3s=(qG_m3h)*(1/60)*(1/60); % Valor del caudal de aire, m^3/s
    v_G= (qG_m3s)/A_o; %Velocidad del gas a través del orificio, m/s
    Re_o= ((d_o)*(rho_a)*(v_G))/(mu_a); %Reynolds del gas por el orificio,
    adim
    if qG_m3s < Crit_reg %Para flujo de gas muy lento
        if mu_L > 1 %Para viscosidad del líquido mayores a 1
            d_b=2.312*((mu_L*qG_m3s)/(rho_L*g));
        else %Para viscosidades del líquido menores a 1
            d_b=((6*(d_o)*(lambda_L))/(g*(rho_L-rho_a)));
        end
    elseif qG_m3s >= Crit_reg && Re_o<=2100 % Para flujo intermedio
        d_b=0.0287*((d_o)^(1/2))*(Re_o)^(1/3);
    elseif (10000<=Re_o) && (Re_o<=50000) %Para flujos altos
        d_b=0.0071*(Re_o)^(-0.05);
    elseif (2100<Re_o) && (Re_o<10000) %En la zona de transición
        a=0.0287*((d_o)^(1/2))*(2100)^(1/3);
        b=0.0071*(10000)^(-0.05);
        m=log10(b/a)/log10(10000/2100);
        d_b=a*(Re_o/2100)^(m);
    else
        disp('No hay correlaciones disponibles para el Re correspondiente')
    end

    vG_s=qG_m3s/A_t_r; %Velocidad superficial del gas, m/s

    %Retención del gas
    eG=(vG_s)/(0.3+2*vG_s); %Correlación de Joshi, adim

    %Velocidad de deslizamiento
    qL=0; %Flujo volumétrico ascendente del líquido, m^3/s
    vL_s=qL/A_t_r; %Velocidad superficial del líquido, m/s
    vs=(vG_s/eG)-(vL_s/(1-eG)); %Velocidad de deslizamiento, flujo de aire
    y agua paralelos

    %Coeficiente de transferencia de masa

```

```

kL=2*((Dif_o2w_m2s/pi)*(vG_s*g/mu_L)^(0.5))^(0.5); %Correlación de
Kawase
ai=(6*eG)/(d_b); %Área interfacial específica, m^2/m^3
kLa=kL*ai; %Coeficiente de transferencia de masa, s

%Potencia de mezclado
W_mez=((v_G^2)/(2))+((P_o/rho_a)*log(P_o/P_Pa)+(Z_s-Z_o)*g); %Energía
transmitida al fluido dentro del recipiente, J/kg aire
P_mez=W_mez*rho_a*qG_m3s; %Potencia de mezclado, W

%Cálculo de pérdidas

if Re_o < 2000 %Para régimen laminar
    f_darcy_b=64/Re_o;
    f_darcy_m=64/Re_o;
elseif (5000<=Re_o) && (Re_o<=1e8) %Ecuación Swamee-Jain, para régimen
turbulento
    f_darcy_b=(0.25)*(log10((1/((3.7)*(d_o/r_b)))+(5.74)*(Re_o)^(-0.9))))^(-2);
    f_darcy_m=(0.25)*(log10((1/((3.7)*(d_o/r_m)))+(5.74)*(Re_o)^(-0.9))))^(-2);
else
    disp('No hay correlaciones disponibles para el Re correspondiente')
end

hL_b=f_darcy_b*(l_b/d_o)*((v_G^2)/(2*g)); %Pérdidas por fricción en
burbujeador, m
hL_m=f_darcy_m*(l_m/d_o)*((v_G^2)/(2*g)); %Pérdidas por fricción en
manguera flexible, m
he=1*((v_G^2)/(2*g)); %Pérdida a la entrada del soplador, m
hs=1*((v_G^2)/(2*g)); %Pérdida a la salida del soplador, m
hT=hL_b+hL_m+he+hs; %Pérdidas totales, m

%Potencia de soplador
w_min=((v_G^2)/(2))+((P_Pa/rho_e)*log(P_o/P_Pa)+g*hT); %Energía forzada
mínima requerida, J/kg
e_bw=0.50; %Eficiencia del soplador, adim
P_bw=(w_min/e_bw)*rho_a*qG_m3s*1000; %Potencia de soplador, mW

i=i+1;
mAireacion(i,1)=i;
mAireacion(i,2)=qG_m3h;
mAireacion(i,3)=Re_o;
mAireacion(i,4)=d_b*1000; %En mm
mAireacion(i,5)=eG;
mAireacion(i,6)=kLa*60*60; %En h^-1
mAireacion(i,7)=P_bw; %En mW
end

subplot(2,2,1),plot(mAireacion(:,2), mAireacion(:,4), '*-');
xlabel('Flujo de aire (m^3/h)')

```

```

ylabel('Diámetro de burbuja (mm)')

subplot(2,2,2),plot(mAireacion(:,2), mAireacion(:,5), '*-');
xlabel('Flujo de aire (m3/h)')
ylabel('Retención del gas (adim)')

subplot(2,2,3),plot(mAireacion(:,2), mAireacion(:,6), '*-');
xlabel('Flujo de aire (m3/h)')
ylabel('\it kLa \rm (h-1)')

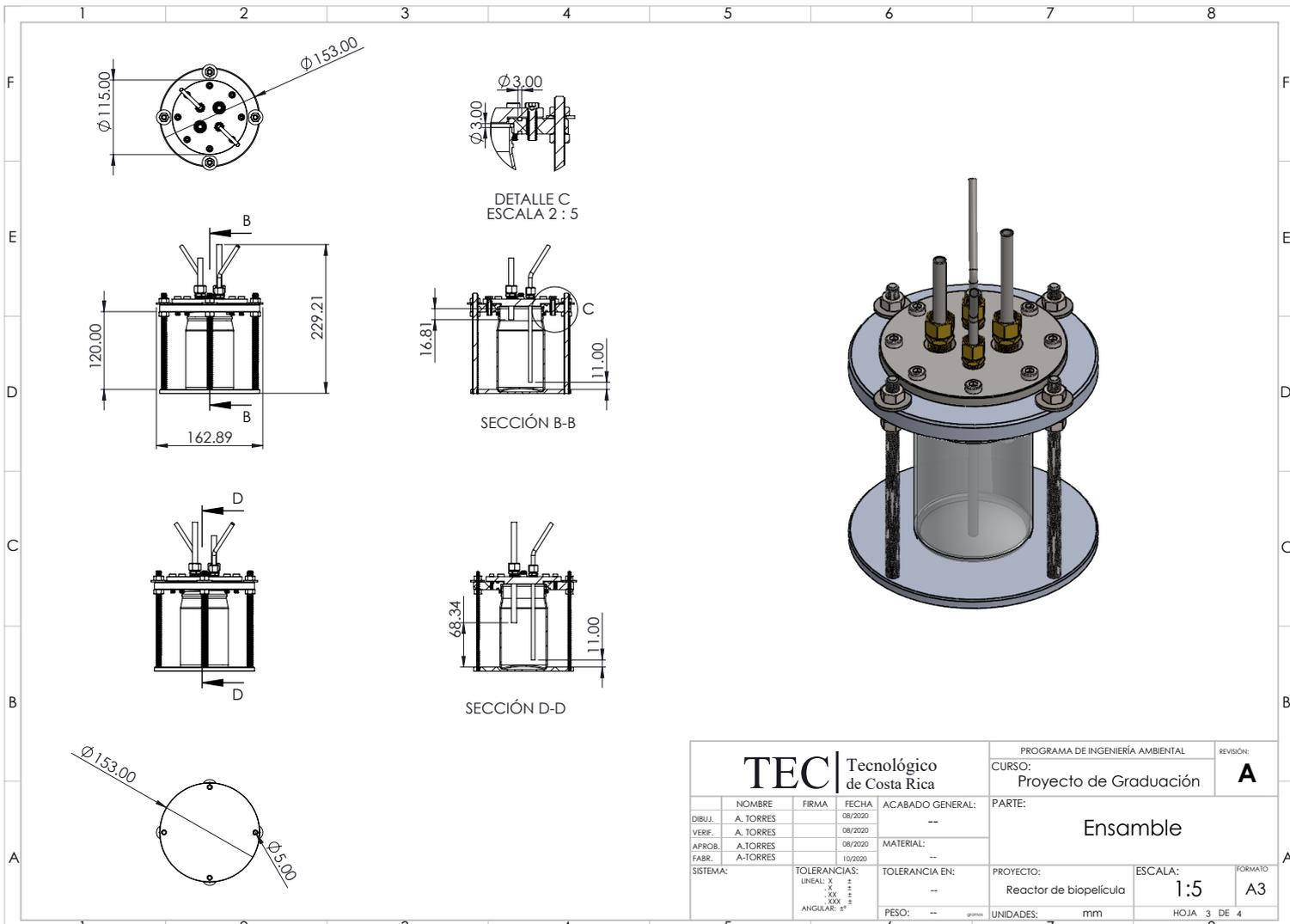
subplot(2,2,4),plot(mAireacion(:,2), mAireacion(:,7), '*-');
xlabel('Flujo de aire (m3/h)')
ylabel('Potencia de soplador (mW)')

```

A.5. Planos de detalle

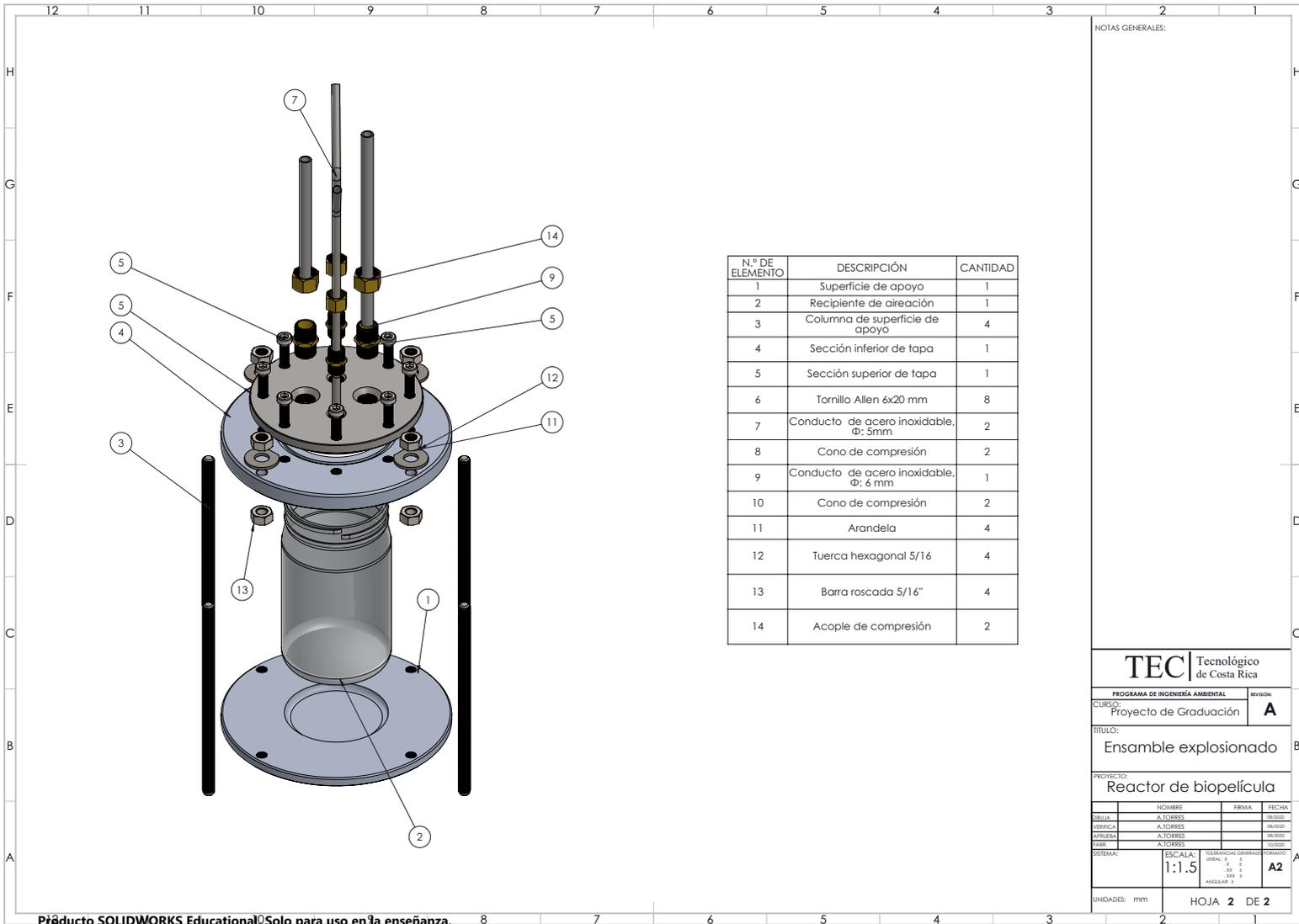
A continuación se adjuntan los siguientes planos:

- Ensamble - General
- Ensamble - Explosionado
- Superficie de apoyo
- Recipiente de aireación
- Tapa: Sección superior
- Tapa: Sección inferior



Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.

TEC Tecnológico de Costa Rica				PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL		REVISIÓN:	
				CURSO: Proyecto de Graduación		A	
PARTE: Ensamble				PROYECTO: Reactor de biopelícula		ESCALA: 1:5	FORMATO: A3
DIBUJ.	A. TORRES	FIRMA	FECHA	ACABADO GENERAL:	UNIDADES: mm		HOJA 3 DE 4
VERIF.	A. TORRES		08/2020	MATERIAL:	PESO: -- gramos		8
APROB.	A. TORRES		08/2020	TOLERANCIA EN:	UNIDADES: mm		8
FABR.	A. TORRES		10/2020	TOLERANCIA EN:	UNIDADES: mm		8
SISTEMA:			TOLERANCIAS:	UNIDADES: mm		8	8
			LINEAL: ±	UNIDADES: mm		8	8
			XX	UNIDADES: mm		8	8
			XXX	UNIDADES: mm		8	8
			ANGULAR: ±	UNIDADES: mm		8	8



N.º DE ELEMENTO	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD
1	Superficie de apoyo	1
2	Recipiente de aireación	1
3	Columna de superficie de apoyo	4
4	Sección inferior de tapa	1
5	Sección superior de tapa	1
6	Tornillo Allen 6x20 mm	8
7	Conducto de acero inoxidable, Φ : 5mm	2
8	Cono de compresión	2
9	Conducto de acero inoxidable, Φ : 6 mm	1
10	Cono de compresión	2
11	Arandela	4
12	Tuerca hexagonal 5/16	4
13	Barra roscada 5/16"	4
14	Acople de compresión	2

NOTAS GENERALES:

TEC Tecnológico de Costa Rica

PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL revisión: **A**
 CURSO: Proyecto de Graduación

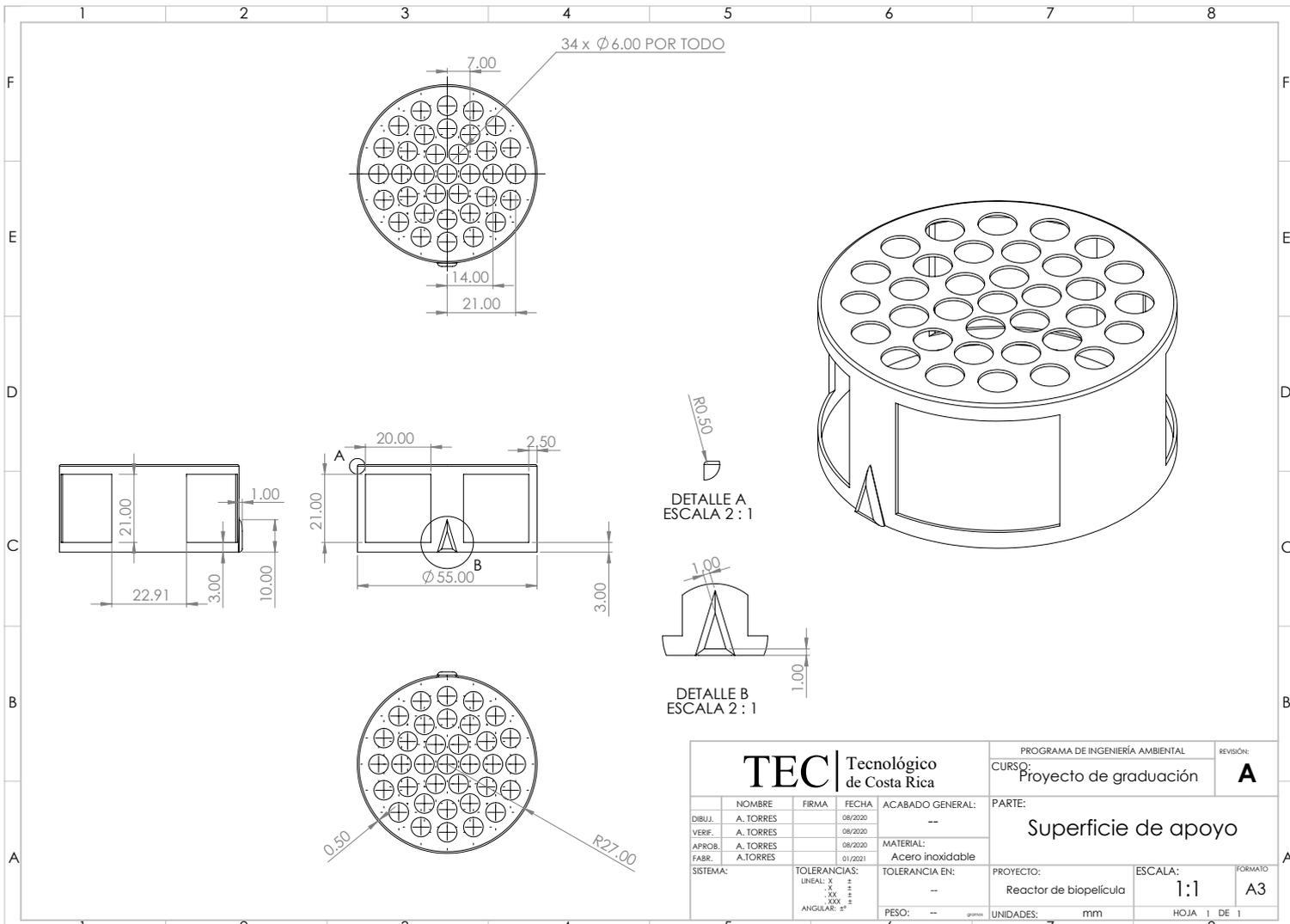
TÍTULO: Ensamble explosionado

PROYECTO: Reactor de biopelícula

NOMBRE	FIRMA	FECHA
DESIGNA: A. TORRES		08/2020
VERIFICA: A. TORRES		08/2020
APRUEBA: A. TORRES		08/2020
PABE: A. TORRES		10/2020

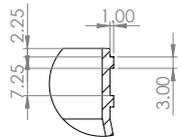
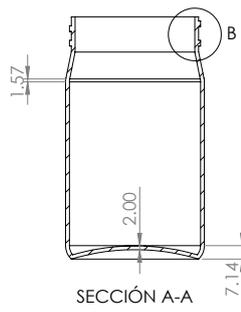
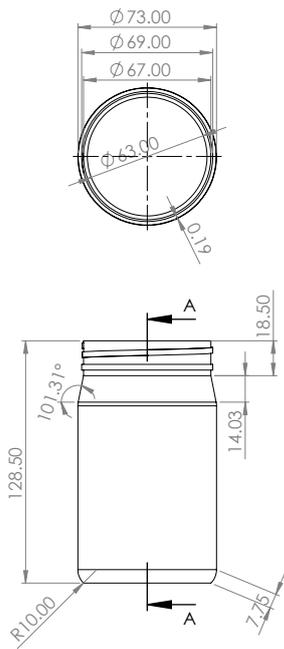
ESCALA:	ESCALA:	ESCALAS GENERALES:	FORMATO:
1:1.5		LINEAL: X 1 Y 1 Z 1 ANGULAR: 2	A2

UNIDADES: mm HOJA 2 DE 2

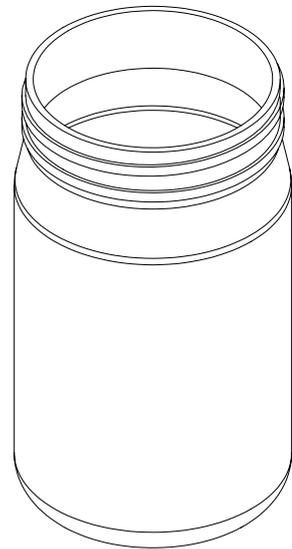


Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.

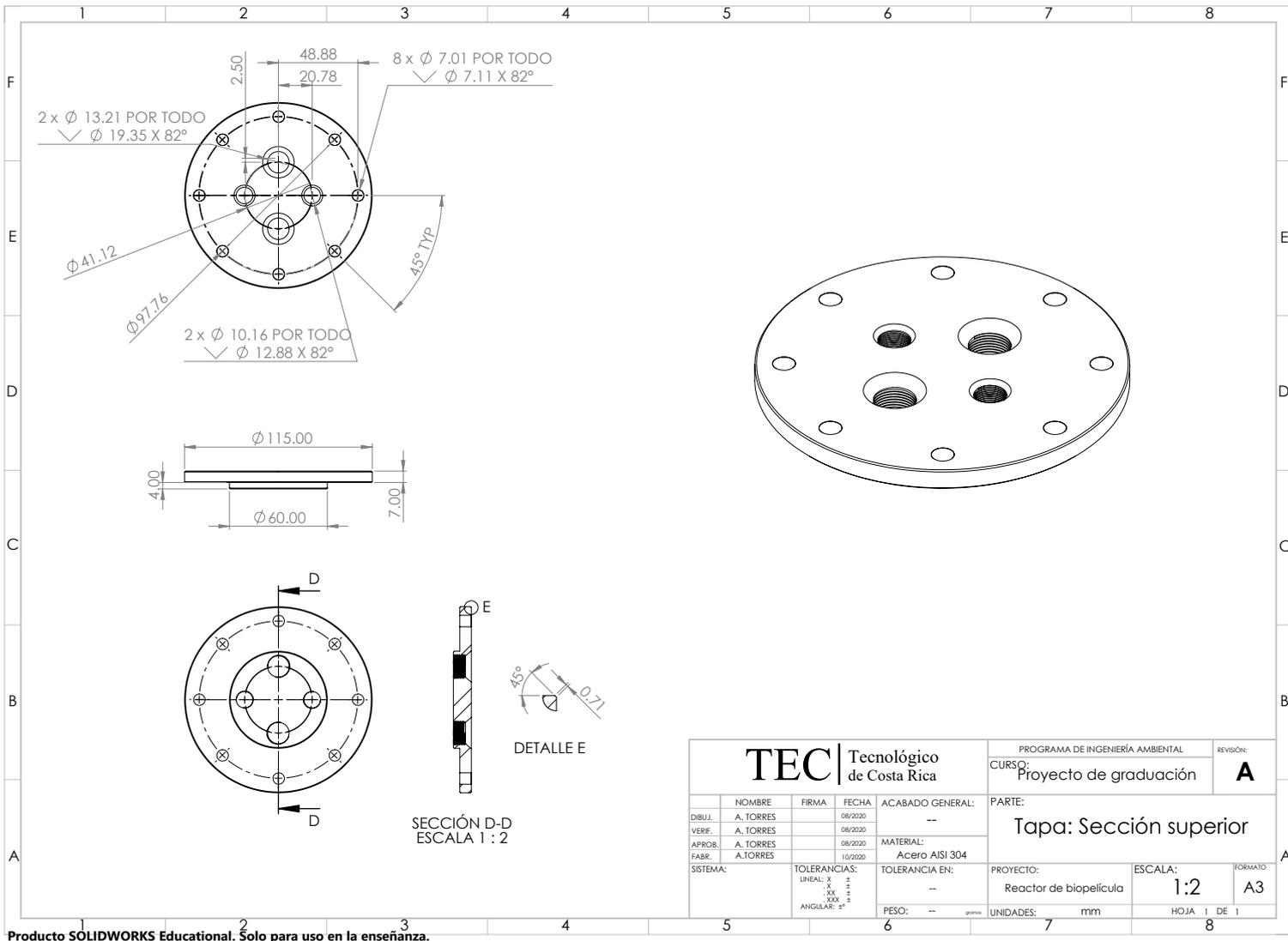
TEC Tecnológico de Costa Rica				PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL		REVISIÓN:
				CORSO: Proyecto de graduación		A
DIBUJ. A. TORRES VERIF. A. TORRES APROB. A. TORRES FABR. A. TORRES				ACABADO GENERAL: -- MATERIAL: Acero inoxidable		PARTE: Superficie de apoyo
SISTEMA:				TOLERANCIA EN: --		PROYECTO: Reactor de biopelícula
TOLERANCIAS: LINEAL: ± .X .XX .XXX ANGULAR: ±				PESO: -- gramos		ESCALA: 1:1 HOJA 1 DE 1
				UNIDADES: mm		FORMATO: A3



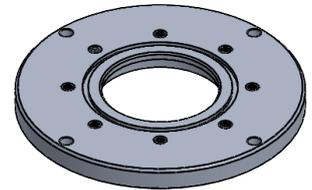
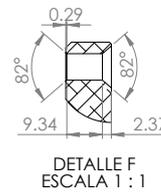
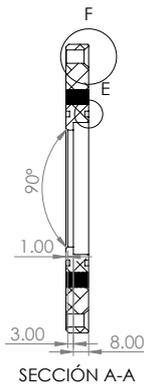
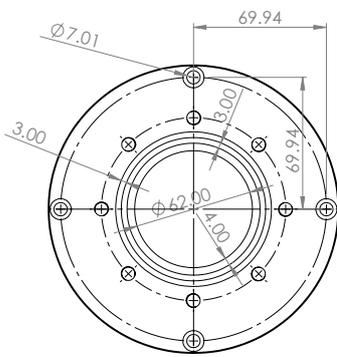
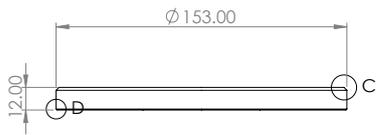
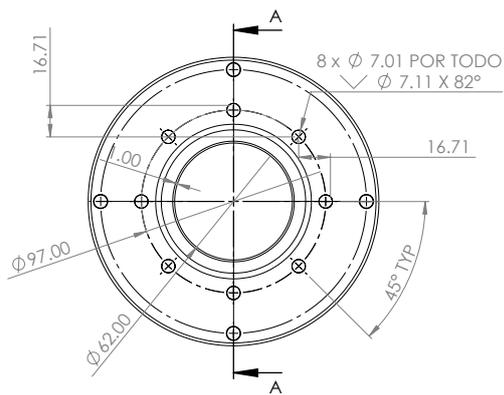
DETALLE B
ESCALA 1 : 1



TEC Tecnológico de Costa Rica				PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL		REVISIÓN:
				CURSO: Proyecto de graduación		A
DIBUJ. A. TORRES VERIF. A. TORRES APROB. A. TORRES FABR. --				ACABADO GENERAL: --		PARTE: Recipiente de aireación
SISTEMA:				MATERIAL: Borosilicato 3.3		PROYECTO: Reactor de biopelícula ESCALA: 1:2 FORMATO: A3
TOLERANCIAS: LINEAL: X .X .XX .XXX ANGULAR: ±				TOLERANCIA EN: --		UNIDADES: mm HOJA 2 DE 2
PESO: -- gramos				UNIDADES: mm		8



TEC Tecnológico de Costa Rica				PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL		REVISIÓN:
				CURSO: Proyecto de graduación		A
DIBUJ. A. TORRES VERIF. A. TORRES APROB. A. TORRES FABR. A. TORRES				ACABADO GENERAL: --		PARTE: Tapa: Sección superior
SISTEMA:				MATERIAL: Acero AISI 304		
TOLERANCIAS: LINEAL: ± 0.1 .XX .XXX ANGULAR: ± 0.1				TOLERANCIA EN: --		PROYECTO: Reactor de biopelícula ESCALA: 1:2 UNIDADES: mm
				PESO: -- gramos		FORMATO: A3 HOJA 1 DE 1



TEC Tecnológico de Costa Rica				PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL		REVISIÓN:
				CURSO: Proyecto de Graduación		A
DIBUJ. A.TORRES VERIF. A.TORRES APROB. A.TORRES FABR. A.TORRES				ACABADO GENERAL: -- MATERIAL: Aluminio 6061		PARTE: Tapa: Sección Inferior
SISTEMA:				TOLERANCIAS: LINEAL: ± 0.05 ± 0.10 ± 0.20 ± 0.30 ± 0.50 ANGULAR: ± 0.10		PROYECTO: Reactor de Biopelícula ESCALA: 1:2 PESO: -- gramos UNIDADES: mm
				HOJA 1 DE 1		FORMATO: A3