

Estudi de la degradació anaeròbia de tres contaminants emergents: àcid clofíbric, carbamazepina i ibuprofè

Mauro Rodríguez Rey

Treball dirigit per: Raquel Barrena^a i Teresa Vicent^a

a) departament d'Enginyeria química. Universitat Autònoma de Barcelona. Setembre 2009.

Resum:

En el present estudi s'ha fet un seguiment baromètric de la producció de biogàs de tres compostos farmacèutics mitjançant tests de degradació anaeròbia. El llot del digestor anaerobi de l'estació depuradora d'aigües residuals (EDAR) de Granollers s'ha emprat com a inòcul. En un primer experiment, s'ha fet l'estudi de l'etapa metanogènica, amb metanol com a substrat i les concentracions de 5, 10 i 20 mg·L⁻¹ d'àcid clofíbric (CLOFI, regulador lípid), ibuprofè (IBU, anti-inflamatori) i carbamazepina (CARBA, antiepilèptic/analgèsic). En un segon experiment, s'ha estudiat l'etapa acetogènica, amb àcid propiònic com a substrat i amb concentracions de 20 i 100 mg·L⁻¹ dels mateixos fàrmacs. Per una banda, en el primer experiment, no s'ha observat degradació dels fàrmacs i cap d'ells presenta toxicitat pel llot anaerobi. CARBA i IBU s'adsorbeixen majoritàriament a la fase sòlida. Per altra banda, en l'etapa acetogènica ni CARBA ni IBU s'han degradat i tampoc presenten toxicitat en cap de les concentracions provades. Com en el cas anterior, la majoria d'aquests fàrmacs queda adsorbit en el llot. En canvi, CLOFI es degrada en 100 mg·L⁻¹ de concentració donant com a producte intermedi un metabòlit.

Paraules clau: àcid clofíbric, ibuprofè, carbamazepina, degradació anaeròbia, toxicitat.

Resumen:

En el presente estudio se ha hecho un seguimiento barométrico de la producción de biogás de tres compuestos farmacéuticos mediante test de degradación anaerobia. El lodo del digestor anaerobio de la estación depuradora de aguas residuales (EDAR) de Granollers se ha utilizado como inóculo. En un primer experimento, se ha hecho el estudio de la etapa metanogénica, con metanol como sustrato y las concentraciones de 5, 10 y 20 mg·L⁻¹ de ácido clofíbrico (CLOFI, regulador lípido), ibuprofeno (IBU, anti-inflamatorio) y carbamazepina (CARBA, antiepiléptico/analgésico). En un segundo experimento, se ha estudiado la etapa acetogénica, con ácido propiónico como sustrato y con concentraciones de 20 y 100 mg·L⁻¹ de los mismos fármacos. Por un lado, en el primer experimento, no se ha observado degradación de los fármacos y ninguno de ellos presenta toxicidad para el lodo anaerobio. CARBA e IBU se adsorben mayoritariamente en la fase sólida. Por otro lado, en la etapa acetogénica ni CARBA ni IBU se han degradado y tampoco presentan toxicidad en ninguna de las concentraciones probadas. Como en el caso anterior, la mayoría de estos fármacos queda adsorbida en el lodo. En cambio, CLOFI, se degrada en 100 mg·L⁻¹ de concentración dando como producto intermedio un metabolito.

Palabras clave: ácido clofíbrico, ibuprofeno, carbamazepina, degradación anaerobia, toxicidad.

Abstract:

During the present work the biogas production has been monitored from three pharmaceutical compounds by anaerobic degradation test. Anaerobic digester sludge of the wastewater treatment plant (WWTP) of Granollers was used as inoculum. In the first experiment, the methanogenic phase has been studied using methanol as substrate and 5, 10 and 20 mg·L⁻¹ of clofibrac acid (CLOFI, lipid regulator), ibuprofen (IBU, anti-inflammatory) and carbamazepine (CARBA, antiepileptic/analgesic). In the second experiment acetogenic phase has been studied using propionic acid as substrate and 20 and 100 mg·L⁻¹ of the same drugs. In one hand, in the first experiment, there was no degradation of added drugs observed and none of them were toxic for anaerobic sludge. CARBA and IBU were mostly adsorbed in solid phase. In the other hand, in the acetogenic phase, CARBA and IBU have not been degraded and do not show toxicity at all tested concentrations. As in the previous case, most of these drugs are adsorbed on the sludge. CLOFI is degraded in 100 mg·L⁻¹ given as an intermediate product as a metabolite.

Keywords: clofibrac acid, ibuprofen, carbamazepine, anaerobic degradation, toxicity.

1. Introducció

Actualment, un dels problemes ambientals més comuns en el camp del medi ambient és la qualitat de l'aigua. Durant les últimes tres dècades, els contaminants orgànics més monitoritzats en el medi aquàtic han estat principalment els pesticides, hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs) i els bifenils policlorats (Santos et al., 2009). Darrerament però, s'està donant una especial atenció a la presència de compostos farmacèutics en el medi aquàtic ja que el seu efecte tòxic potencial pot afectar directament a l'ecosistema aquàtic i indirectament a l'ésser humà i a la resta d'ecosistemes. Això pot esdevenir perquè els fàrmacs han estat dissenyats per interferir en la funció biològica dels elements del cos humà. Per tant, es podria anticipar que els compostos farmacèutics podrien interferir en el funcionament normal dels bacteris implicats en el procés de digestió anaeròbia, especialment en aquells grups de microorganismes que han estat caracteritzats com els més sensibles com són els bacteris metanogens. (Fountoulakis et al., 2008). La principal font d'aportació de fàrmacs a l'ambient és la descàrrega de les aigües residuals provinents de les (EDAR) on els productes químics arriben del sistema de clavegueram (Santos et al., 2009; Gartiser et al., 2007). Els medicaments no es metabolitzen completament pel cos humà i es vessen contínuament a la xarxa de clavegueram a través de l'orina i els excrements. Més concretament, un 70% dels productes excretats està a l'orina i un 30% als excrements (Marsalek, 2008). Aquests compostos no només es detecten en les aigües residuals, sinó també en rius i aqüífers. És per

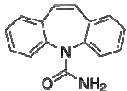
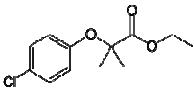
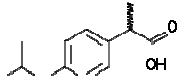
aquest motiu, que les aigües residuals municipals són la principal ruta d'exposició pels fàrmacs utilitzats als centres mèdics. (Gartiser et al., 2007).

A la majoria de països europeus el tractament de les aigües residuals ha millorat força en els últims 10 o 15 anys, incorporant el tractament secundari a països menys potents econòmicament, i el tractament terciari als més desenvolupats. Malgrat aquestes millores, hi ha compostos com els Productes farmacèutics i de la cura personal (PPCPs) d'ús generalitzat i baix poder de degradació que romanen en els efluent escapant molts d'ells del tractament secundari (CONAMA). Seguint en aquesta línia, s'el·limina un 10% aproximadament dels PPCPs amb tractament primari, un 50% amb el secundari i fins a un 99% en el terciari (Marsalek, 2008).

En aquest estudi s'han triat tres PPCPs d'ús generalitzat com són CLOFI, CARBA i IBU (Informació detallada dels fàrmacs estudiats a la Taula 1.1.) pel seu extens consum a Europa i Nord Amèrica amb la consegüent presència a les EDAR (Marco-Urrea et al., 2009). La concentració mitjana dels fàrmacs testats als efluent de les EDAR està entre 0,1 - 1 ng·L⁻¹ (Marco-Urrea et al., 2009).

L'objectiu de la recerca és estudiar l'efecte de la presència dels fàrmacs escollits en la degradació anaeròbia, és a dir, comprovar si els fàrmacs comporten toxicitat per l'inòcul segons la concentració afegida o observar si el fàrmac es degrada. En cas de que es degradi, comprovar si es converteix en un metabòlit o producte de la degradació. Per dur-ho a terme es farà un test de degradació anaeròbia amb seguiment baromètric de la producció de biogàs.

Taula 1. Propietats físico-químiques i informació sobre l'us terapèutic dels fàrmacs estudiats.

Compost	Estructura	Us terapèutic	Solubilitat aigua (mg·L ⁻¹)	Log K _{ow}
Carbamazepina		Antiepilèptic	17,7	2,4
Àcid Clofíbric		Metabòlit d'un regulador de lípids.	582,5	2,6
Ibuprofè		Analgèsic / antiinflamatori	0,08	4,0

2. Materials i mètodes

2.1. Productes químics

CLOFI, CARBA i IBU s'han obtingut de SIGMA-ALDRICH Co. (St Louis, MO) amb la màxima puresa. Tanmateix, tots els productes químics emprats han estat de la màxima puresa.

2.2. Inòcul

L'inòcul s'ha obtingut del digestor de l'EDAR de Granollers. La primera presa va ser al Novembre de 2008 i la segona al gener de 2009 emmagatzemant-se a la cambra calenta a 37°C.

2.3. Procediment experimental

Per l'estudi de degradació anaeròbia s'han seguit tres etapes. En primer lloc el disseny de l'experiment, on es fan els diferents muntatges dels reactors i les analítiques prèvies. Tots els experiments s'han dut a terme amb ampolles de 350 mL de capacitat segellades amb taps de goma. Es tracta d'ampolles opaques per evitar la fotodegradació (Marco-Urrea et al., 2009). S'afegeixen 175mL d'inòcul, 125mL d'aigua (s'empra aquesta proporció per tenir la concentració de sòlids adequada) i els nutrients necessaris, així com bicarbonat de sodi per estabilitzar el pH. Per l'estudi metanogènic el substrat emprat ha estat el metanol i les concentracions estudiades 5, 10 i 20 mg·L⁻¹. Per a l'estudi acetogènic el substrat utilitzat ha estat àcid propiònic dissolt a 7,5 g·L⁻¹ i les concentracions estudiades han estat 20 i 100 mg·L⁻¹ (Fountoulakis et al., 2008). També es prepara el blanc, per saber la producció de l'inòcul, i el control, per saber la producció del substrat. Tots els reactors anteriors es preparen per triplicat. A més, es munten reactors amb l'inòcul esterilitzat per saber a quina fase s'adsorbeix el fàrmac en cas de no existir degradació. Aquests es munten per duplicat. Per últim, es purguen els reactors amb N₂ gas per evitar que hi hagi O₂ a l'interior. Un cop fet això, s'agiten els reactors per homogeneïtzar bé el contingut i es deixen a la cambra de 37°C per a que segueixin el procés de digestió.

En segon lloc, es procedeix al seguiment baromètric. Aquest consisteix en mesurar periòdicament la pressió de biogàs per, d'aquesta manera, estimar els mL produïts diàriament. En tercer i últim lloc, es

procedeix al desmuntatge dels reactors on s'ha realitzat la pressa de mostra final i les respectives analítiques finals. El pretractament de la mostra per a la quantificació a l'HPLC consisteix en centrifugar a 6000 rpm a 25°C durant 15 min. Seguidament, es filtra el sobrenedant amb un filtre de 0,45NYL, depositant el filtrat a un vial d' HPLC. Aquesta operació es fa per duplicat: un dels vials es congela a -20°C per si calgués fer anàlisis futures i l'altre el deixem a la nevera a -5°C preparat per l'anàlisi cromatogràfica a l'HPLC.

El pretractament per l'anàlisi del llot consisteix en liofilitzar la mostra per assecar-la completament. Seguidament, s'agafa una quantitat coneguda i es pesa (≈0,6 g ja que més quantitat fa saturar el sistema extractor). Es barreja bé la mostra liofilitzada amb una sorra inert, i es fa l'extracció mitjançant l'extractor en fase sòlida. Es realitzen 3 cicles d'extracció a 103 bar de pressió i 100°C de temperatura. L'eluent utilitzat és metanol-aigua (1/2) (v/v). L'extracte aconseguit s'enrasa en un volum conegut amb el mateix eluent utilitzat per l'extracció anterior, s'agafa una alíquota que es filtra de la mateixa manera que en l'apartat del pretractament del sobrenedant, i es col·loca en un vial d'HPLC.

2.4 Mètodes analítics

La quantificació es fa mitjançant l'HPLC Dionex 3000 ULTIMATE equipat amb un detector d'UV a 230 nm i a una temperatura de 30 °C. El volum d'injecció és de 20µL, i es fa mitjançant l'automostrejador DIONEX. La separació cromatogràfica s'aconsegueix amb una columna GraceSmart RP18 (250mm x 4.6mm, 5µm), segons el mètode descrit per Stafiej et al. (2007). Els eluents utilitzats per l'anàlisi són àcid acètic 6.9 mmol·L⁻¹(A), preparat amb 394 µL en 1 L d'aigua MilliQ i ajustat a pH 4, i acetonitril (B). El mètode utilitzat és isocràtic, utilitza un 65% i 35% dels eluents A i B respectivament amb un flux d'1 mL·min⁻¹. Els límits de detecció són de <0,5mg·L⁻¹per l'ibuprofè i de <0,2mg·L⁻¹per la carbamazepina i l'àcid clofíbric.

La caracterització del biogàs es fa mitjançant l'equip de GC HP 5890. La columna cromatogràfica utilitzada és una PORAPAK. El volum de mostra injectada és de 100µL, i es fa de forma manual mitjançant una xeringa. La temperatura de l'injector és de 150 °C, la del detector és de 180°C i la de la columna és de 130°C. El detector utilitzat és de flama ionitzant (FID). El gas portador emprat és l'heli.

3. Resultats i discussió

3.1. Activitat metanogènica

En primer lloc a la Fig. 1 es presenten els gràfics de la producció de biogàs per als diferents fàrmacs estudiats amb les concentracions provades i metanol com a substrat.

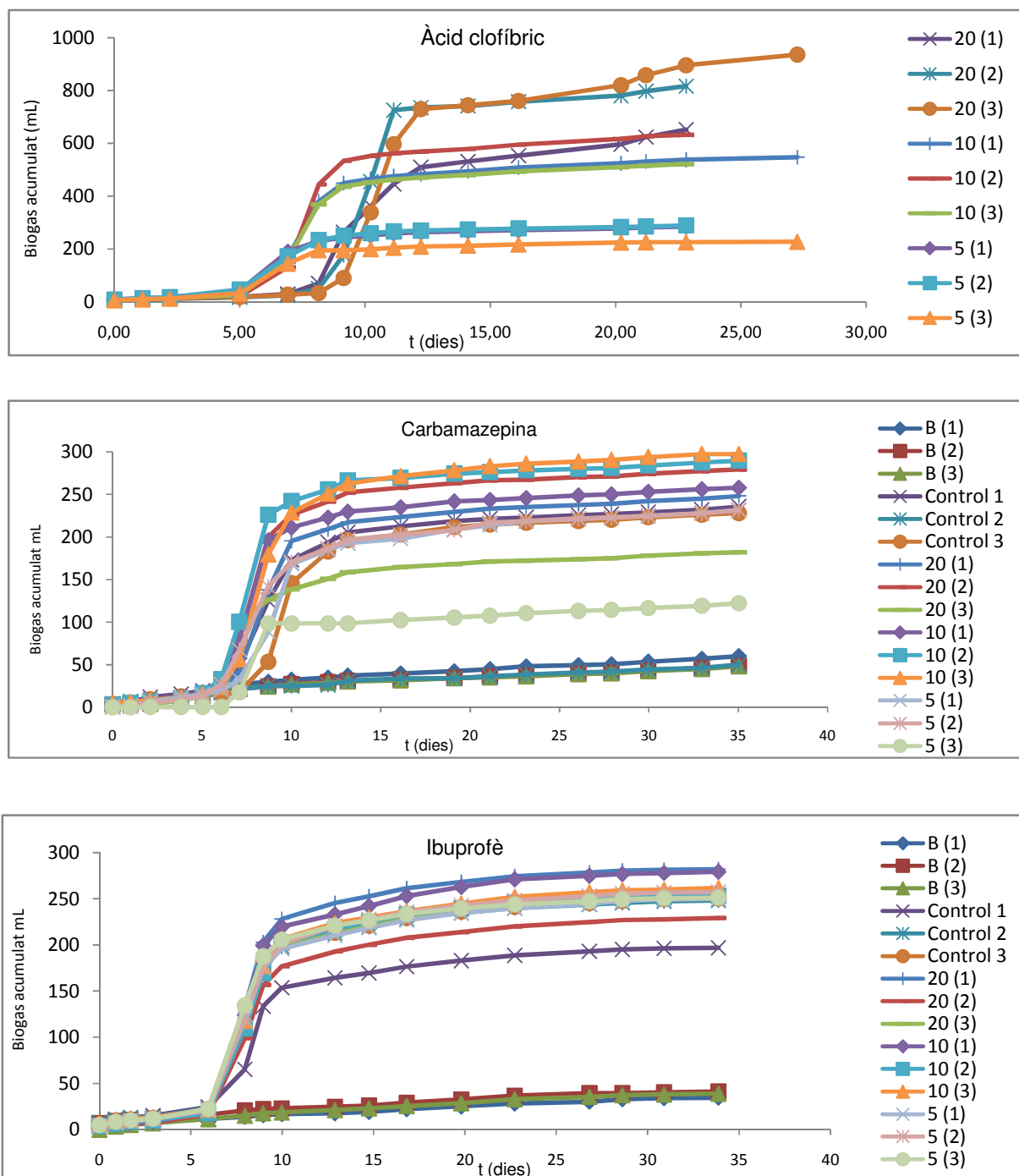


Fig 1. Influència dels fàrmacs estudiats en les diferents corbes de producció de biogàs dels bacteris metanògens. Concentracions de fàrmac de 5, 10 i 20 ppm dissoltes en metanol. B=producció de l'inòcul. Control=producció inòcul+metanol. Activitat de l'inòcul restada.

En segon lloc, a la Taula 2, es presenta un resum amb els resultats obtinguts en el test de degradació anaeròbia. Per una banda, a la columna de l'esquerra es mostren les taules amb els mL de biogàs total produït en els diferents reactors. Per altra banda, a la columna de la dreta, es mostra l'anàlisi estadística

per veure si hi ha diferències significatives entre els diferents tractaments realitzats (mitjana del F-test i t-student amb nivell de probabilitat del 5%). També es mostra la recuperació de fàrmac en el sobrenedant dels reactors quantificada amb HPLC.

Taula 2. Sumatori del biogàs produït i nivell de significància per als diferents fàrmacs i reactors en la metanogènesi amb l'activitat de l'inòcul restada. Anàlisi quantitatiu amb HPLC on es mostra la concentració final de fàrmac en els reactors. Concentracions de fàrmac de 5, 10 i 20 ppm dissoltes en metanol. E= inocul esterilitzat.

- Àcid clofíbric

Reactor	1	2	3	Promig	Desv. Est.
20 ppm	583,5	747,9	826,8	719,4	124,1
Control 20	886,0	523,5	x	704,7	256,3
10 ppm	469,3	564,0	452,6	495,3	60,1
Control 10	501,9	x	x	501,9	-
5 ppm	215,8	220,2	157,0	197,7	35,3
Control 5	151,1	202,6	203,9	185,8	30,1

	Cont 20 ppm	Cont 10 ppm	Cont 5 ppm
20 ppm	0,934		
10 ppm		0,933	
5 ppm			0,682

- Carbamazepina

Reactor	1	2	3	Promig	Desv. Est.
Control	183,3	x	175,8	179,5	5,4
20 ppm	195,8	227,0	x	211,4	22,0
10 ppm	205,6	237,4	245,2	229,4	21,0
5 ppm	179,4	179,0	x	179,2	0,3

	Control	20 ppm	10 ppm	5 ppm
Control	1	0,194	0,046	0,799
20 ppm		1	0,411	0,180
10 ppm			1	0,047
5 ppm				1

- Ibuprofè

Reactor	1	2	3	Promig	Desv. Est.
Control	158,6	210,1	212,2	193,6	30,4
20 ppm	243,8	191,0	214,4	216,4	26,4
10 ppm	241,2	215,3	223,5	226,7	13,3
5 ppm	211,8	219,2	213,1	214,7	3,9

	Control	20 ppm	10 ppm	5 ppm
Control	1	0,390	0,165	0,294
20 ppm		1	0,594	0,947
10 ppm			1	0,240
5 ppm				1

- Anàlisi quantitatiu.

Reactor	Carbamazepina (ppm)
5.1 (5 ppm)	5,09
5.3 (5 ppm)	0,85
10.2 (10 ppm)	6,77
10.3 (10 ppm)	4,67
20.1 (20 ppm)	11,59
20.2 (20 ppm)	10,95
E5.2 (5 ppm)	2,83
E10.1 (10 ppm)	6,01
E20.1 (20 ppm)	11,57

Reactor	Ibuprofè (ppm)
5.1 (5 ppm)	1,97
5.3 (5 ppm)	0,09
10.1 (10 ppm)	0,23
10.3 (10 ppm)	1,24
20.1 (20 ppm)	2,24
20.3 (20 ppm)	2,62
E5.1 (5 ppm)	1,98
E10 (10 ppm)	4,37
E20 (20 ppm)	8,52

3.2. Activitat acetogènica

A la Fig. 2 es presenten els gràfics de la producció de biogàs per als diferents fàrmacs estudiats amb les concentracions provades i àcid propiònic com a substrat.

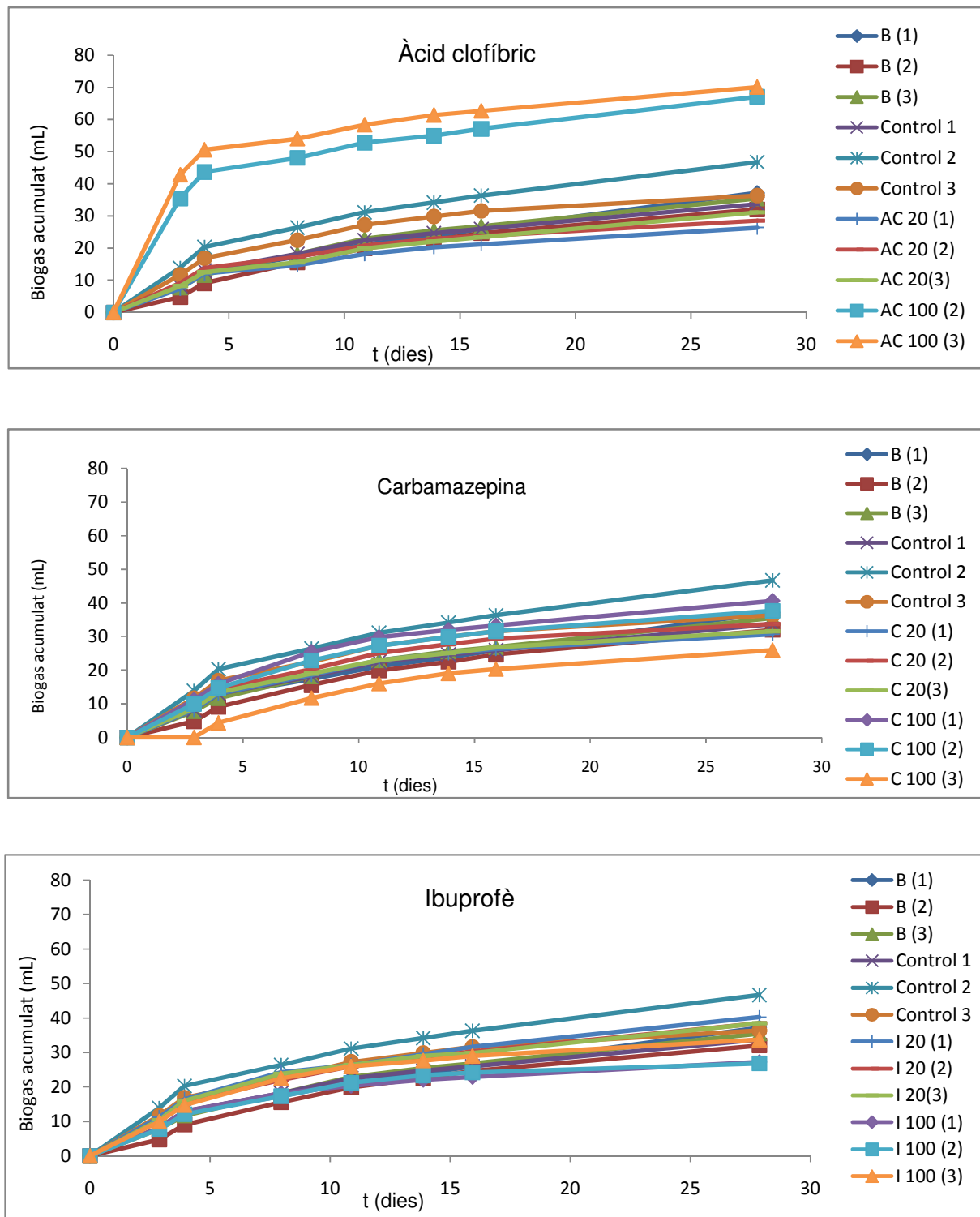


Fig 2. Influència dels fàrmacs estudiats en les diferents corbes de producció de biogàs dels bacteris acetògens. Concentracions de fàrmac de 20 i 100 ppm dissoltes en àcid propiònic. B=producció de l'inòcul. Control=producció inòcul+propiònic. Activitat de l'inòcul restada.

Seguidament es presenten les taules on es resumeix el test de degradació anaeròbia. Com en el cas anterior, a la columna de l'esquerra es mostren les taules amb els mL de biogàs total produït en els

diferents reactors. Per altra banda, a la columna de la dreta, es mostra l'anàlisi. També es mostra la recuperació de fàrmac en el sobrenedant dels reactors quantificada amb HPLC.

Taula 3. Sumatori del biogàs produït i nivell de significància per als diferents fàrmacs i reactors en l'acetogènesi amb l'activitat de l'inòcul restada.

- Àcid clofíbric.

Reactor	1	2	3	Promig	Desv. Est.
Control	-1,2	11,8	1,4	4,0	6,9
20 ppm	-8,5	-6,3	-3,7	-6,2	2,4
100 ppm	x	32,2	35,2	33,7	2,1

	Control	20 ppm	100 ppm
Control	1	0,111	0,011
20 ppm		1	0,010
100 ppm			1

- Carbamazepina

Reactor	1	2	3	Promig	Desv. Est.
Control	-1,2	11,8	1,4	4,0	6,9
20 ppm	-4,2	-1,2	-3,3	-2,9	1,6
100 ppm	5,8	2,7	-8,9	-0,1	7,8

	Control	20 ppm	100 ppm
Control	1	0,219	0,524
20 ppm		1	0,606
100 ppm			1

- Ibuprofè

Reactor	1	2	3	Promig	Desv. Est.
Control	-1,2	11,8	1,4	4,0	6,9
20 ppm	5,3	3,6	3,6	4,2	1,0
100 ppm	-7,6	-8,1	-1,2	-5,6	3,9

	Control	20 ppm	100 ppm
Control	1	0,974	0,119
20 ppm		1	0,41
100 ppm			1

- Anàlisi quantitatiu.

Reactor	Ibuprofè (ppm)
I 20.1 (20 ppm)	7,78
I 100.1 (100 ppm)	57,05

Reactor	Carbamazepina (ppm)
C 20.1 (20 ppm)	11,49
C 100.1 (100 ppm)	66,99

Reactor	Àcid clofíbric (ppm)
20.1 (20 ppm)	1,01
100.1 (100 ppm)	2,99
100.2 (100 ppm)	3,81

5.CONCLUSIONS

A la vista dels resultats anteriors, per una banda, en l'experiment de la fase metanogènica, es pot observar la tendència en la producció de biogàs dels bacteris metanogens (Veure Fig. 1.). El gràfic representa un primer període de latència, on es produeix l'activació de la població a les noves condicions. A partir d'aquí, una fase de creixement exponencial on està el major increment de producció de biogàs ja que hi ha més bacteris i els nutrients abunden. Per últim, una fase d'estancament, on els nutrients comencen a ser un factor limitant.

En primer lloc, amb els resultats de les produccions de biogàs totals per CLOFI (Veure Taula 2), es pot veure que no hi ha diferències significatives entre cap reactor i el seu control. És per aquesta raó que pels resultats obtinguts es pot dir que CLOFI no afecta a la producció de biogàs d'un llot en condicions anaeròbies. No és tòxic en aquestes concentracions ni sembla degradar-se.

En segon i tercer lloc, la CARBA i l'IBU tenen resultats similars. No es troben diferències significatives entre cap reactor i el seu control, per tant, cap de les concentracions provades sembla degradar-se ni inhibir el bon funcionament d'un llot anaerobi.

Per corroborar aquesta conclusió, es fa una anàlisi del sobrenedant amb HPLC tal i com es mostra a la Taula 2 juntament amb l'anàlisi del llot esterilitzat. Amb aquestes dades, es pot dir que la quantitat de CARBA recuperada en el sobrenedant del llot esterilitzat és aproximadament d'un 50% i que la quantitat d'IBU recuperat en el reactor autoclavat és d'un 40%. Tenint en compte que en el llot esterilitzat no pot haver-hi degradació, es dedueix que en aquests reactors autoclavats el que no s'ha recuperat en el sobrenedant ha d'estar adsorbit en el llot.

Als reactors anaerobis no autoclavats de 10 i 20 ppm de CARBA es recuperen valors similars als autoclavats ($\approx 50\%$). Per a l'IBU en canvi, les recuperacions són més baixes als reactors no esterilitzats que pels esterilitzats.

Aquests fets corroboren que, com segons el test de biogàs no hi ha degradació, la CARBA i l'IBU que no s'han quantificat en el sobrenedant estaran adsorbits al llot.

Per altra banda, el seguiment de la fase acetogènica es pot veure a la Fig 2 i a la Taula 3. En primer lloc, per CLOFI, les produccions de biogàs dels reactors de 20 ppm són molt semblants al control, per tant, per aquesta concentració es pot dir que no hi ha cap mena de toxicitat ni afectació alguna. En canvi, per a la concentració de 100ppm, es veu al gràfic (Fig. 2) que hi ha dues corbes marcadament per sobre de la resta. Per aquesta concentració es donen produccions significativament més elevades respecte al control (veure Taula 3), per tant, es pot dir que CLOFI en aquesta concentració sembla que es degrada en condicions anaeròbies. Respecte a la quantificació de CLOFI en els reactors es veu que del reactor de 20 ppm quasi no es recupera gens. Això pot indicar que la majoria d'aquest fàrmac queda adsorbit al llot, ja que a aquesta concentració no s'aprecia degradació en el test de biogàs.

En canvi, per als reactor de 100 ppm, igualment es recupera molt poc ($\approx 3\%$). Però en aquest cas, si que sembla que hagi existit degradació en les corbes de producció de biogàs. Un fet que corrobora aquesta degradació és el cromatograma del reactor de CLOFI de 100 ppm obtingut amb l'HPLC (Fig. 3).

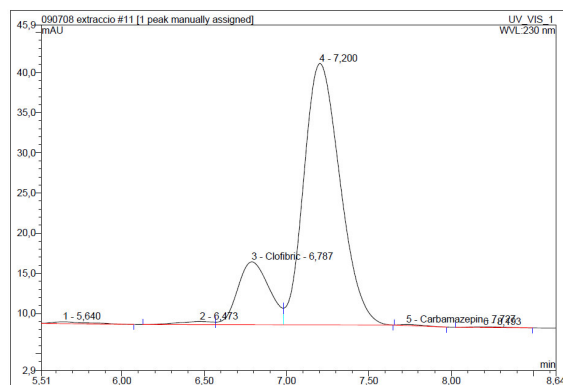


Fig 3. Cromatograma HPLC de CLOFI en concentració de 100 ppm al final de l'assaig.

S'observa que part del CLOFI surt en un primer pic als 6,7 minuts. Just després hi ha un segon pic no quantificat ni determinat que surt als 7,2 minuts. Es pot deduir que el CLOFI que no s'ha recuperat, s'ha degradat donant un metabòlit o producte de la degradació desconegut que és el que mostra el segon pic. En canvi, els resultats obtinguts per la CARBA i l'IBU no donen els mateixos indicis que els obtinguts amb el CLOFI. Els valors negatius indiquen

que en alguns casos la producció de biogàs deguda al fàrmac ha estat inferior a la de l'inòcul. Això pot ser causat perquè el propiònic s'ha pogut degradar fins a àcid acètic però no fins a metà, per tant, no es veu un increment de pressió ja que no es produeix biogàs en l'etapa acetogènica. No obstant, com les diferències no són significatives (veure Taula 3), no es pot dir que la CARBA ni l'IBU en aquestes dues concentracions siguin tòxics per als bacteris acetogènics..

Respecte a la quantificació dels dos fàrmacs en el sobrenedant dels reactors al final de l'experiment (Taula 3), es veu que es recupera aproximadament la meitat. Amb el test de biogàs es veu que no hi ha més producció que en els controls. Per tant, el que no s'ha recuperat al sobrenedant del reactor és d'esperar que estigui adsorbit en el llot, ja que per a cap concentració s'observa degradació.

4. Conclusions

Per a l'estudi de la metanogènesi, per a les concentracions de 5, 10 i 20 ppm dels següents fàrmacs es pot concloure que:

CLOFI no afecta a la producció de biogàs d'un llot en condicions anaeròbies. No és tòxic en les concentracions provades ni es degrada.

La CARBA no influeix en la producció de biogàs d'un llot en condicions anaeròbies. Per tant es conclou que la CARBA no es degrada anaeròbiament ni presenta toxicitat. Aproximadament un 50% d'aquest fàrmac es queda adsorbit en el llot, ja que no es recupera en el sobrenedant d'un reactor esterilitzat.

L'IBU tampoc no genera cap mena de toxicitat o inhibició sobre l'activitat metanogènica del llot ni es degrada. La recuperació del fàrmac és força baixa, per tant, l'IBU majoritàriament passa a la fase sòlida.

La quantitat de substrat utilitzat, en aquest cas metanol, condiciona molt la producció de biogàs futura.

Per a l'estudi de l'acetogènesi, per a les concentracions de 20 i 100 ppm es pot concloure que:

La CARBA no presenta toxicitat ni es veu degradació alguna. Es donen produccions de biogàs més baixes que l'inòcul tot i no haver-hi diferències significatives. No obstant, això ha pogut ser causat perquè el propiònic s'hagi degradat fins a àcid acètic però no

arribar a metà, per tant, no s'aprecia un increment de pressió ja que a l'etapa acetogènica no hi ha producció de biogàs. En quant a la recuperació del fàrmac, es repeteixen els valors del test metanogènic, recuperant-se la meitat en

les 20 ppm, i 2/3 parts en les 100 ppm. Això indica que gran part queda adsorbit al llot també.

L'IBU tampoc suposa cap inconvenient per al bon funcionament d'un llot anaerobi, és a dir, cap de les dues concentracions provades no presenten toxicitat. Per altra banda tampoc s'aprecia degradació. Com en casos anteriors, aproximadament la meitat del fàrmac s'adsorbeix al llot.

CLOFI en la concentració de 20 ppm no es degrada ni presenta inhibició per als microorganismes del llot. En la quantificació, quasi no es recupera gens, per tant, la immensa majoria queda adsorbit en el llot. En canvi, per 100 ppm es donen produccions de biogàs significativament més elevades que pel control, per tant es dedueix que existeix degradació. Igual que per les 20 ppm, es recupera molt poca quantitat en la quantificació, en aquest cas però, perquè s'ha degradat el fàrmac donant un metabòlit.

Agraïments

Aquest treball ha estat recolzat pel Departament d'Enginyeria Química de la Universitat Autònoma de Barcelona, dut a terme al grup de Recerca de Tòxics.

Bibliografia

- ACEBES MARTÍNEZ, J. 2008. BIODEGRADACIÓN DE FÁRMACOS B-BLOQUEANTES POR HONGOS LIGNINOLÍTICOS. TREBALL DE RECERCA DE MÀSTER OFICIAL EN BIOTECNOLOGIA. ETSE, UAB.
- ANGELIDAKI, I. ET AL. ANAEROBIC BIODEGRADATION, ACTIVITY AND INHIBITION (ABAI) TASK GROUP MEETING 9TH TO 10TH OCTOBER 2006. PRAGUE.
- BARCELÓ, D., PETROVIC, M. 2007. PHARMACEUTICALS AND PERSONAL CARE PRODUCTS (PPCPs) IN THE ENVIRONMENT. ANAL BIOANAL CHEM 387:1141 1142
- BENITO QUINTANA, J., WEISS, S., REEMTSMA, T. 2005. PATHWAYS AND METABOLITES OF MICROBIAL DEGRADATION OF SELECTED ACIDIC PHARMACEUTICAL AND THEIR OCCURRENCE IN MUNICIPAL WASTEWATER TREATED BY A MEMBRANE BIOREACTOR. WATER RESEARCH 39 2642-2664
- CAMPOS, A.E. 2001. OPTIMIZACIÓN DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE PURINES DE CERDO MEDIANTE CODIGESTIÓN CON RESIDUOS

5.CONCLUSIONS

- ORGÁNICOS DE LA INDUSTRIA AGROALIMENTARIA. TESIS DOCTORAL. UNIVERSITAT DE LLEIDA.
- CARBALLA, M., OMIL, F., LEMA, J.M., LLOMPART, M., GARCIA-JARES, C., RODRÍGUEZ, I., GOMEZ, M., TERNES, T. 2004. BEHAVIOR OF PHARMACEUTICALS, COSMETICS AND HORMONES IN A SEWAGE TREATMENT PLANT. *WATER RES.* 38, 2918-2926.
- CARRILLO, LEONOR. 2003. MICROBIOLOGÍA AGRÍCOLA.
- CHANG-PING, Y., KUNG-HUI, C. 2009. OCURRENCE OF PHARMACEUTICAL AND CARE PRODUCTS ALONG THE WEST PRONG LITTLE PIGEON RIVER IN EAST TENNESSEE, USA. *CHEMOSPHERE* 75 1281-1286.
- CLARA, M., STRENN, B., GANS, O., MARTINEZ, E., KREUZINGER, N., KROISS, H. 2005. REMOVAL OF SELECTED PHARMACEUTICALS, FRAGRANCES AND ENDOCRINE DISRUPTING COMPOUNDS IN A MEMBRANE BIOREACTOR AND CONVENTIONAL WASTEWATER TREATMENT PLANTS. *WATER RESEARCH* 39, 4797-4807.
- DAUGHTON, C.G., TERNES, T.A. 1999. PHARMACEUTICAL AND PERSONAL CARE PRODUCTS IN THE ENVIRONMENT: AGENTS O SUBTLE CHANGE? *ENVIRON. HEALTH PERSPECT.* 107 907-938.
- FIELD, J., ALVAREZ, R. S., LETTINGA, G. ENSAYOS ANAEROBIOS.
- FOUNTOLAKIS, M.S., STAMATELATOU, K., LYBERATOS, G. 2008. THE EFFECT OF PHARMACEUTICALS ON THE KINETICS OF METHANOGENESIS AND ACETOGENESIS. *BIORESOURCE TECHNOLOGY* 99 7083-7090.
- GARTISER, S., URICH, E., ALEX, R., KÜMMERER, K. 2006. ANAEROBIC INHIBITION AND BIODEGRADATION OF ANTIBIOTICS IN ISO TEST SCHEMES. *CHEMOSPHERE* 66 1839-1848.
- ILHO, K., IROAKI, T. 2009. PHOTODEGRADATION CHARACTERISTICS OF PPCPs IN WATER WITH UV TREATMENT. *ENVIRON. INT.* 35 793-802.
- KUSTER, M., LÓPEZ DE ALDA, M.J., HERNANDO, M.D., PETROVIC, M., MARTIN-ALONSO, J., BARCELÓ, D. 2008. ANALYSIS AND OCCURRENCE OF PHARMACEUTICALS, ESTROGENS, PROGESTOGENS AND POLAR PESTICIDES IN SEWAGE TREATMENT PLANT EFFLUENTS, RIVER WATER AND DRINKING WATER IN THE LLOBREGAT RIVER BASIN (BARCELONA, SPAIN). *JOURNAL OF HYDROLOGY* 358, 112-123.
- LARSON, D.G., DE PEDRO, C., PAXEUS, N. 2007. EFFLUENT FROM DRUG MANUFACTURES CONTAINS EXTREMELY HIGH LEVELS OF PHARMACEUTICALS. *J. HAZARD. MATER.* 148,751-755.
- LIEBIG, M., MOLTMANN, J. F., KNACKER, T. 2006. EVALUATION OF MEASURED AND PREDICTED ENVIRONMENTAL CONCENTRATIONS OF SELECTED HUMANS PHARMACEUTICAL AND PERSONAL CARE PRODUCTS. *ENVIRON SCI & POLLUT RES* 12(2) 110-119.
- MARCO-URREA, E., PÉREZ-TRUJILLO, M., VICENT, T., CAMINAL, G. 2008. ABILITY OF WHITE-ROT FUNGI TO REMOVE SELECTED PHARMACEUTICALS AND IDENTIFICATION OF DEGRADATION PRODUCTS OF IBUPROFEN BY *TRAMETES VERSICOLOR*. *CHEMOSPHERE* 74, 765-722.
- MARSALEK, J. 2008. PHARMACEUTICALS AND PERSONAL CARE PRODUCTS (PPCP) IN CANADIAN URBAN WATERS: A MANAGEMENT PERSPECTIVE. DANGEROUS POLLUTANTS IN URBAN WATER CYCLE 117-130.
- MIÈGE, C., CHOUBERT, J.M., RIBEIRO, L., EUSÈBE, M., COQUERY, M. 2009. FATE OF PHARMACEUTICAL AND PERSONAL CARE PRODUCTS IN WASTEWATER TREATMENT PLANTS- CONCEPTION OF A DATABASE AND FIRST RESULTS. *ENVIRON POLLUTION* 157 1721-1756.
- MORENO BENITO, M. 2007. CAPACITAT DEL FONG LIGNONILÍTC TRAMETES VERSICOLOR PER DEGRADAR EL CONTAMINANT EMERGENT 17 B-ESTRADIOL. TREBALL DE RECERCA DE MÀSTER OFICIAL EN TECNOLOGIA AMBIENTAL. ETSE, UAB.
- MUÑOZ VALERO, J.A., ORTÍZ-GAÑAVATE, J., VÁZQUEZ MINGUELA, J. 1987. TÉCNICA Y APLICACIONES AGRÍCOLAS DE LA BIOMETANIZACIÓN. MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN . SECRETARIA GENERAL TÉCNICA.
- RATLEDGE, C., KRISTIANSEN, B. 2001. BASIC BIOTECHNOLOGY. CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS.
- PAN, B., NING, P., XING, B. 2009. PART V-SORPTION OF PHARMACEUTICALS AND PERSONAL CARE PRODUCTS. *ENVIRON SCI POLLUT RES* 16:106-116.
- SANTOS, J.L., APARICIO, I., CALLEJÓN, M., ALONSO, E. 2009. OCCURRENCE OF PHARMACEUTICALLY ACTIVE COMPOUNDS DURING 1-YEAR PERIOD IN WASTEWATERS FROM FOUR WASTEWATER TREATMENT PLANTS IN SEVILLE (SPAIN). *JOURNAL OF HAZARDOUS MATERIALS* 164 1509-1516.
- SCHINK, B. 2000. STRUCTURE AND FUNCTION RELATIONSHIPS IN NATURAL MICROBIAL COMMUNITIES. PUBLICACIÓ AMSTERDAM : ELSEVIER.
- SOLERA DEL RÍO, R. 1999. CUANTIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS RESPONSABLES DE LA DEGRADACIÓN ANAEROBIA. APLICACIÓN AL ANÁLISIS DEL FUNCIONAMIENTO DE REACTORES ANAEROBIOS. TESIS DOCTORALES. SERVICIO DE PUBLICACIONES, UNIVERSIDAD DE CÁDIZ.
- SREEKANTH, D., SIVARAMAKRISHNA, D., HIMABINDU, V., ANJANEYULU, Y. 2009. THERMOPHILIC TREATMENT OF BULK DRUG PHARMACEUTICAL INDUSTRIAL WASTEWATERS BY USING HYBRID UP FLOW ANAEROBIC SLUDGE BLANKET REACTOR. *BIORESOURCE TECHNOLOGY* 100, 2534-2539.
- STRONACH, S.M., RUDD, T., LESTER, J.N. 1986. ANAEROBIC DIGESTION PROCESSES IN INDUSTRIAL WASTEWATER TREATMENT. SPRINGER-VERLAG. BIOTECHNOLOGY MONOGRAPHS.
- SUÁREZ, S., CARBALLA, M., OMIL, F., LEMA, J. 2008. HOW ARE PHARMACEUTICAL AND PERSONAL CARE PRODUCTS (PPCPs) REMOVED FROM URBAN WASTEWATERS? *ENVIRON. SCI. BIOTECH.* 7:125-138.
- VIENO, N. TUHKANEN, T., KRONBERG, L. 2007. ELIMINATION OF PHARMACEUTICALS IN SEWAGE TREATMENT PLANTS IN FINLAND. *WATER RES.* 41, 1001-1012.
- ZHANG, Y., GEIBEN, S.U., GAL, C.2008. CARBAMAZEPINE AND DICLOFENAC: REMOVAL IN WASTEWATER TREATMENT PLANTS AND OCCURRENCE IN WATER BODIES. *CHEMOSPHERE* 73 1151-1161.