



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
INGENIERÍA**

FACULTAD DE INGENIERÍA
CAMPUS MORELOS

**REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y TOXICIDAD
DE AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA
COSMÉTICO - FARMACÉUTICA CON UN
VERMIFILTRO**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL - CAMPO DISCIPLINARIO AGUA

P R E S E N T A:
BIOL. FABRICIO RACIEL CERVANTES DACASA

TUTOR:
M.I. MERCEDES ESPERANZA RAMÍREZ CAMPEROS



2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Pedro Martínez Pereda

Secretario: Dr. Iván Moreno Andrade

Vocal: M.I. Mercedes Esperanza Ramírez Camperos

1er. Suplente: Dr. Marco Antonio Garzón Zúñiga

2do. Suplente: Dr. Oscar González Barceló

Lugar o lugares donde se realizó la tesis:

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA)

Paseo Cuauhnáhuac No.8532

Col. Progreso

Jiutepec, Morelos, México

CP. 62550

TUTOR DE TESIS:


M.I. Mercedes Esperanza Ramírez Camperos

INDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Industria cosmética	2
1.2 Industria farmacéutica.....	3
1.3 Problemática de la industria farmacéutica y cosmética.....	7
1.4 Tecnologías utilizadas para la remoción de contaminantes de la industria farmacéutica.....	9
1.5 Vermifiltración como nueva tecnología de tratamiento.....	16
1.6 Vermicultura.....	19
1.7 Toxicidad como herramienta para evaluar el tratamiento y la calidad del efluente	21
1.7.1 <i>Vibrio fischeri</i>	24
1.7.2 <i>Daphnia magna</i>	25
1.7.3 <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	26
2. JUSTIFICACIÓN	28
3. OBJETIVO.....	29
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
5. METAS DE TRABAJO.....	29
6. METODOLOGÍA.....	30
6.1 Caracterización del agua residual industrial.....	30
6.2 Sistema experimental.....	31
6.3 Preparación del material de empaque	33
6.4 Metodología de las pruebas de vaciado para determinar la porosidad	35
6.5 Determinación de la hidrodinámica del vermifiltro.....	36
6.5.1 Determinación de los espacios vacíos en el vermifiltro con respecto al flujo de salida	36
6.5.2 Determinación de la carga hidráulica volumétrica	37
6.5.3 Determinación del tiempo de residencia hidráulica (TRH).....	37
6.5.4 Determinación de la capacidad de adsorción de la vermicomposta	37

6.6 Seguimiento del vermifiltro	38
6.7 Método de análisis	38
7. RESULTADOS	41
7.1 Características del agua residual	41
7.2 Características de los materiales empacados.....	43
7.2.1 Curvas de adsorción.....	44
7.2.2 Comportamiento de la lombriz en el vermifiltro.....	46
7.2.2 Comportamiento del pH en el vermifiltro.....	48
7.2.3 Comportamiento de la conductividad en el vermifiltro	49
7.3 Características físico-químicas del influente y efluente del vermifiltro	50
7.3.1 Comportamiento del pH.....	50
7.3.2 Comportamiento de la temperatura	51
7.3.3 Comportamiento de la conductividad	52
7.3.4 Carga orgánica	53
7.3.5 Comportamiento de la DQO	53
7.3.6 Comportamiento de nitrógeno amoniacal (N-NH ₄)	55
7.3.7 Comportamiento de nitritos (N-NO ₂ ⁻).....	56
7.3.8 Comportamiento de nitratos (N-NO ₃ ⁻).....	57
7.3.9 Toxicidad	58
8. CONCLUSIONES.....	65
9. RECOMENDACIONES	66
REFERENCIAS.....	67
ANEXO I.....	78
ANEXO II.....	81
ANEXO III.....	83

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Eisenia foetida</i>	20
Figura 2. Sistema Microtox empleado para realizar bioensayos con <i>Vibrio fischeri</i>	25
Figura 3. <i>Daphnia magna</i>	26
Figura 4. <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	27
Figura 5. Esquema del vermifiltro empacado con grava, tezontle, viruta, tierra y vermicomposta.	32
Figura 6. Esquema de vermifiltro empacado con grava y vermicomposta.	32
Figura 7. Extractor de tierra de 422 cm ³	33
Figura 8. Análisis de sobrevivencia de lombrices.....	34
Figura 9. Curva teórica de espacios vacíos.....	36
Figura 10. Curva de adsorción del N-NH ₄ en la composta.....	44
Figura 11. Curva de adsorción de la materia orgánica medida en DQO en la composta.....	45
Figura 12. Comportamiento de las lombrices en el vermifiltro. La línea vertical en el día 67 indica el remplazo de vermicomposta.....	47
Figura 13. Velocidades de decaimiento de cocones, lombrices adultas y juveniles con cargas ≤ 200 g DQO/m ³ d.....	47
Figura 14. Comportamiento de pH en la vermicomposta.....	49
Figura 15. Comportamiento de la conductividad en la vermicomposta.....	50
Figura 16. Comportamiento de pH.....	51
Figura 17. Comportamiento de temperatura (°C).....	51
Figura 18. Comportamiento de la conductividad (μS/cm).....	52
Figura 19. Variación de la carga orgánicas volumétrica durante el experimento.....	53
Figura 20. Comportamiento de la DQO.....	55
Figura 21. Comportamiento del nitrógeno amoniacal (N-NH ₄).....	56
Figura 22. Comportamiento de nitritos (N-NO ₂ ⁻).....	57
Figura 23. Comportamiento de nitratos (N-NO ₃ ⁻).....	58

Figura 24. Comportamiento de la toxicidad con <i>V. fischeri</i>	60
Figura 25. Comportamiento de la toxicidad con <i>D. magna</i>	61
Figura 26. Comportamiento de la toxicidad con <i>P. subcapitata</i>	62

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Estudios de tratamiento biológico en efluentes de la industria farmacéutica.....	12
Tabla 2. Comparación de vermifiltro contra otras tecnologías. *	18
Tabla 3. Bioensayos más utilizados	22
Tabla 4. Pruebas de toxicidad disponibles en el mercado.....	24
Tabla 5. Programa de seguimiento.	38
Tabla 6. Técnicas utilizadas.	39
Tabla 7. Métodos utilizados en cada bioensayo.....	39
Tabla 8. Clasificación del nivel de toxicidad según los resultados obtenidos empleando la batería de bioensayos (Bulich, 1982).....	39
Tabla 9. Lista de los principales productos de consumo.	41
Tabla 10. Efectos tóxicos de los ingredientes activos utilizados en la industria.....	41
Tabla 11. Características del agua residual industrial.	43
Tabla 12. Características del material empacado.	43
Tabla 13. Constante de decaimiento y tiempo de vida media de lombrices adultas y juveniles y cocones.	48
Tabla 14. Resultados de toxicidad con <i>Vibrio fischeri</i>	59
Tabla 15. Resultados de toxicidad con <i>Daphnia magna</i>	60
Tabla 16. Resultados de toxicidad con <i>P. subcapitata</i>	62

RESUMEN

El vertido de efluentes industriales líquidos sin tratar, a los cuerpos de agua, ocasiona serios riesgos ambientales. La industria farmacéutica y cosmética no evita a dicha problemática, ya que sus efluentes poseen contaminantes que deben ser eliminados o disminuidos. El objetivo del presente trabajo fue: a) caracterizar el agua residual de la industria cosmético-farmacéutica, b) estudiar el comportamiento de los contaminantes en un vermifiltro y c) estudiar el efecto del tratamiento del agua residual con respecto a los compuestos que generan toxicidad utilizando organismos indicadores. El reactor operó en régimen continuo por un período de 150 días con una carga orgánica volumétrica entre 60 y 500 g de DQO/m³d. El agua de la industria presentó las siguientes características promedio: pH de 6.25 ±0.44; ausencia de oxígeno disuelto (O₂); demanda química de oxígeno (DQO) 8071 ±3685 mg/L; Nitrógeno amoniacal (N-NH₃) 72 ± 36 y toxicidad en concentraciones efectivas media (CE_{50%}) con *Pseudokirchneriella subcapitata* de 0.66 ±0.37, *Vibrio fischeri* 27.47 ±14.50 y *Daphnia magna* 44.54 ±17.47. Los resultados muestran buen desempeño del biofiltro y las remociones obtenidas para los diferentes parámetros fueron: DQO (84-98%) y N-NH₃ (84-97%). Con respecto a la toxicidad el tratamiento eliminó el afecto agudo detectado por *D. magna* y disminuyó para *V. fischeri*. Con *P. subcapitata* se detecta reducción de toxicidad pero persiste un efecto crónico de 7.14 UT. El efluente presentó pH neutro y 3.0 mg/L de O₂ que permitió la nitrificación del agua. El incremento de carga orgánica volumétrica disminuyó la eficiencia del tratamiento para cargas mayores a 200 g de DQO/m³d. El crecimiento y reproducción de las lombrices también se afectó por el incremento en la carga.

ABSTRACT

Industrial wastewater discharge causes serious environmental problems, like pharmaceutical and cosmetic industry. The aim of this study was: a) characterize the wastewater from cosmetic and pharmaceutical industry, b) study the behavior of contaminants in a vermifilter c) study the wastewater treatment effects with regard to the compounds that generate toxicity using indicator organisms. The reactor was operated in continuous for 150 days with a volumetric organic loading between 60 and 500 g COD/m³d. The industrial wastewater showed the following characteristics: pH of 6.25 ±0.44; dissolved oxygen absence (O₂), chemical oxygen demand (COD) 8071 ±3685 mg/L, ammonia nitrogen (N-NH₃) 72 ±36 and toxicity in half effective concentrations (EC_{50%}) with *Pseudokirchneriella subcapitata* of 0.66 ±0.37, 27.47 ±14.50 *Vibrio fischeri* and *Daphnia magna* 44.54 ±17.47. High performance and removals were obtained for the different parameters treated in the biofilter: COD (84-98%) and N-NH₃ (84-97%). The acute toxicity detected was eliminated by *D. magna* and decreased for *V. fischeri*. The reduction of chronic toxicity (*P. subcapitata*) was detected but remains an effect with 7.14 UT. The effluent showed neutral pH and 3.0 mg/L O₂ allowing nitrification. The increase of organic volumetric load, decreased efficiency of treatment for organic loading rates higher than 200 gCOD/m³d. The growth and reproduction of earthworms also were affected by increasing the organic load.

1. INTRODUCCIÓN

El incremento de la población mundial y el creciente desarrollo urbano-industrial y tecnológico ha traído como consecuencia el aumento de la contaminación ambiental, principalmente de los recursos hídricos existentes en el planeta, siendo las principales fuentes de contaminación las aguas residuales tanto urbanas como industriales. Esto hace necesario medidas de gestión ambiental como la investigación e implementación de mecanismos para depurar o tratar aguas residuales, a fin de minimizar el impacto que puedan causar en el ambiente. Entre estas medidas de gestión, podemos mencionar la utilización de tecnologías que combinan aspectos químicos, físicos y biológicos, en la implementación de plantas de tratamiento, como las lagunas de estabilización, biofiltros, entre otros.

Actualmente existen en el mundo sistemas de tratamiento que han sido utilizados por mucho tiempo, denominados sistemas convencionales, donde sus características, ventajas y desventajas son muy conocidas, fruto de muchos años de estudio y seguimiento. Sin embargo las plantas de tratamiento convencionales son muy caras de construir, tienen altos costos de operación (especialmente eléctrica) y mantenimiento, requieren de personal calificado y generan subproductos indeseables (lodos) (Robinson *et al.*, 2001).

Bajo este contexto surge la necesidad de buscar algún método alternativo al convencional, que lo haga económicamente factible y auto sustentable su utilización para poder cumplir con las normas de emisión, protegiendo la salud de las personas y el medio ambiente.

El sistema de vermifiltración es una alternativa para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales en el cual se obtienen remociones de DQO entre 80 y 90%, de sólidos suspendidos totales entre 90 a 95% por medio del consorcio lombriz-microorganismos. (Sinha *et al.*, 2008).

1.1 Industria cosmética

Los cosméticos y el cuidado corporal han sido una industria de gran importancia para México; no obstante, el país ocupa una posición muy discreta en el mercado, ubicándose en los últimos lugares. (Bernández, 2005).

En el mercado global, la industria cosmética puede tener diversos tipos de divisiones; una de estas puede ser: los aceites esenciales, las mezclas de sustancias odoríferas, perfumes y aguas de tocador, preparaciones de belleza que incluye el maquillaje y polvos para el rostro, preparaciones capilares como champús y lacas, preparaciones para higiene bucal o dental, y por último las preparaciones para afeitar, los desodorantes y baño. A nivel mundial, los cosméticos más importantes son los maquillajes, los protectores solares y los perfumes. Por su parte, los países que más importan cosméticos son los Estados Unidos, el Reino Unido y Alemania, de distribuidores como Canadá, Francia y Suiza, que son los potenciales exportadores en este tipo de industria; a pesar de que Estados Unidos y el Reino Unido son grandes importadores, también se incluyen entre las potencias más importantes en exportación de productos.

En México, la mayor parte de la producción se centra en el Distrito Federal, y a pesar de no ser una potencia importante en producción y exportación, en el año 2003 la industria cosmética mexicana generaba 27.000 empleos directos en industria y 1,800,000 empleos en ventas (Bernández, 2005).

Entre las principales fortalezas del sector cosmético se destacan:

- El incremento del mercado debido a la demanda del consumidor.
- Los hombres se han preocupado por un consumo mayor de cosméticos, preocupándose por su aspecto personal.
- Las nuevas tecnologías exigen productos mucho más elaborados y avanzados.
- Los productos tienen presentaciones muy atractivas para el público en general.

-
- Los productos para bebé eran considerados de lujo hace unos años; esto ya ha cambiado.

Este panorama muestra una amplia gama de posibilidades de crecimiento, aunque se deben superar algunas dificultades como son la falta de investigación y desarrollo de nuevos productos, la dificultad en conseguir precios de insumos competitivos y alcance de instrumentos financieros. Además, la competencia es fuerte con las multinacionales, dejando a las empresas nativas la comercialización de productos de carácter popular. La tendencia en el uso de productos naturales genera nuevos retos para la cadena productiva.

Las aguas residuales procedentes de la fabricación de cosméticos, se caracterizan por la presencia fragancias (por ejemplo, almizcles), los bloqueadores de rayos UV (por ejemplo, el alcanfor y el metilbencilideno) y conservantes (por ejemplo, parabenos y derivados de isotiazolin) que se incluyen en formulaciones para la estabilización química y biológica (Siegrist *et al.*, 2004).

El tratamiento de este tipo de efluentes tradicionalmente se ha llevado a cabo mediante procesos de flotación y coagulación-floculación con diversos agentes, como FeCl_3 o $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. En ocasiones estos tratamientos se han combinado con el empleo de carbón activado para la remoción de color. En general, se han alcanzado reducciones de la DQO del 40%. (Torres *et al.*, 1994)

1.2 Industria farmacéutica

La industria farmacéutica es un importante sector de los sistemas de asistencia sanitaria de todo el mundo; está constituida por numerosas organizaciones públicas y privadas dedicadas al descubrimiento, desarrollo, fabricación y comercialización de medicamentos para la salud humana y animal (Gennaro, 1990). Su fundamento es la investigación y desarrollo de medicamentos para prevenir o tratar las diversas enfermedades y alteraciones.

Los principios activos que se utilizan en los medicamentos representan una gran variedad de actividades farmacológicas y propiedades toxicológicas (Hardman *et al.*, 1996; Reynolds, 1989). Los avances científicos y tecnológicos aceleran el descubrimiento y el desarrollo de productos farmacéuticos innovadores dotados de mejor actividad terapéutica y menos efectos secundarios.

Son muchos factores científicos, sociales y económicos que configuran la industria farmacéutica. Algunas compañías farmacéuticas trabajan tanto en los mercados nacionales como en los internacionales. Sus actividades están sometidas a leyes, reglamentos y políticas aplicadas al desarrollo y aprobación de fármacos, la fabricación y el control de calidad, la comercialización y las ventas (Spilker, 1994).

La generación de agua residual de la industria farmacéutica es muy diversa debido a los diferentes productos, procesos y materiales utilizados. De acuerdo al proceso de manufactura se han considerado varias áreas: fermentación, síntesis química y extracción biológica y natural (Theodore y McGuinn, 1992). Estas operaciones pueden ser discontinuas, continuas o una combinación de ambas. Los antibióticos, los esteroides y las vitaminas se producen por fermentación, mientras que muchos principios activos nuevos se producen por síntesis orgánica. Históricamente, la mayor parte de los principios activos derivan de fuentes naturales, como plantas, animales, hongos y otros organismos. Las medicinas naturales son farmacológicamente muy diversas y difíciles de producir comercialmente debido a su complejidad química y actividad limitada.

La fermentación es un proceso bioquímico en el que se utilizan microorganismos seleccionados y técnicas microbiológicas para obtener un producto químico. El fármaco, después de un proceso, se recupera en varias etapas, como las de extracción en solventes, precipitación, intercambio iónico y absorción (Theodore y McGuinn, 1992).

En general se pueden recuperar los disolventes utilizados para la extracción del producto, no obstante, en el agua residual pueden quedar pequeñas porciones en función de su solubilidad y del diseño del equipo. La precipitación es un método para separar el fármaco del caldo acuoso. El producto se separa del caldo por filtración y se extrae de los residuos sólidos; el cobre y el zinc que son agentes precipitantes comunes en este proceso. El intercambio iónico y la adsorción retiran el producto del caldo mediante una reacción química con materiales sólidos, como resinas o carbón activado. El principio activo se recupera de la fase sólida mediante un disolvente que se puede recuperar por evaporación.

El caldo de fermentación utilizado contiene azúcares, almidones, proteínas, nitrógeno, fosfatos y otros nutrientes con demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO) y sólidos suspendidos totales (SST) altos y valores de pH entre 4 y 8. Se pueden tratar los caldos de fermentación mediante sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales después de homogeneizar el efluente para promover la operación estable del sistema de tratamiento. El vapor y pequeñas cantidades de productos químicos industriales (por ejemplo: fenoles, detergentes y desinfectantes) mantienen la esterilidad del equipo y de los productos durante la fermentación (Theodore y McGuinn 1992).

Los procesos de síntesis química utilizan productos químicos orgánicos e inorgánicos en operaciones discontinuas para producir principios activos dotados de determinadas propiedades físicas y farmacológicas. Por lo general se realiza una serie de reacciones químicas, aislándose los productos por extracción, cristalización y filtración (Kroschwitz,1992). Los productos terminados se secan, trituran y mezclan. Las plantas de síntesis orgánica, los equipos de proceso y los servicios son comparables en la industria farmacéutica y en la de productos químicos muy puros.

Los residuos procedentes de la síntesis química son complejos debido a la variedad de materiales, reacciones y operaciones peligrosas (Kroschwitz 1992; Theodore y McGuinn, 1992). Los procesos de síntesis orgánica pueden generar ácidos, bases, licores acuosos o disolventes, cianuros y residuos metálicos en forma líquida o en suspensión. Los disolventes residuales de la síntesis orgánica se recuperan por destilación y extracción. De esta forma se pueden reutilizar en otros procesos y se reduce el volumen de residuos líquidos peligrosos a eliminar. Los residuos de la destilación requieren un tratamiento antes de su eliminación. Uno de los sistemas típicos de tratamiento es el burbujeo de vapor para eliminar los disolventes, seguido del tratamiento microbiológico de otras sustancias orgánicas. Se deben controlar las emisiones de sustancias volátiles orgánicas y peligrosas durante las operaciones de síntesis orgánica mediante dispositivos de control de la contaminación del aire.

El agua residual de las operaciones de síntesis puede contener licores acuosos, aguas de lavado, descargas de bombas, purificadores y sistemas de refrigeración, y fugas y vertidos (EPA, 1995); esto es, muchas sustancias orgánicas e inorgánicas con distintas composiciones químicas, toxicidad y biodegradabilidad. En las aguas madre acuosas de cristalizaciones y aguas de lavado de las extracciones y de la limpieza del equipo pueden estar presentes cantidades traza de materias primas, disolventes y subproductos. Estas aguas residuales contienen DBO, DQO y SST altos, con acidez o alcalinidad variables y valores de pH de 1 a 11.

En la extracción biológica y natural se procesan grandes volúmenes de materiales naturales, tales como sustancias vegetales y animales, para extraer sustancias farmacológicamente activas (Gennaro, 1990; Swarbick y Boylan, 1996). En cada etapa se reducen los volúmenes mediante una serie de procesos discontinuos, hasta obtener el fármaco final. Los procesos se suelen realizar en campañas de algunas semanas de duración, hasta conseguir la cantidad deseada de producto terminado. Los disolventes se utilizan para eliminar grasas y aceites insolubles, extrayendo así el principio activo

terminado. El pH (acidez) de la solución de extracción y los productos de desecho se puede ajustar neutralizándolos con ácidos y bases fuertes. Los compuestos metálicos sirven con frecuencia de agentes precipitantes, y los compuestos fenólicos como desinfectantes.

Las materias primas y los disolventes utilizados, las aguas de lavado y los vertidos son las fuentes principales de residuos sólidos y líquidos (Theodore y MacGuinn, 1992). En estos flujos residuales pueden estar presentes como residuos productos químicos orgánicos e inorgánicos. En general, las aguas residuales tienen DBO, DQO y SST bajos, con valores de pH entre 6 y 8.

1.3 Problemática de la industria farmacéutica y cosmética

La principal vía de entrada de productos farmacéuticos en el ambiente ha sido por medio de los efluentes de las aguas residuales de la industria farmacéutica (Jones *et al.*, 2001). Estos efluentes son generados en un volumen considerablemente inferior al de los efluentes urbanos, pero la amenaza que constituyen para el ambiente es superior, debido no a la concentración de los contaminantes, sino sobre todo, a la mayor toxicidad de cada uno de ellos. En el caso de los efluentes generados en las industrias químicas, petroquímicas o farmacéuticas generalmente tienen asociadas elevadas cargas orgánicas no biodegradables.

El mayor impacto ambiental de la industria farmacéutica es el producido sobre el medio acuático. Tanto el impacto sobre la atmósfera y el de los residuos sólidos son secundarios (Gennaro, 1990), si bien no deben ser olvidados con base en conseguir el fin de la minimización máxima de estos residuos, como medio para evitar la contaminación y para conferir mayor viabilidad a los procesos a través de una reducción en la utilización de las materias primas.

En una clasificación de residuos líquidos generados en las plantas de fabricación de principios activos se presentan (Ramos, 2005):

-
- Aguas contaminadas, como son: aguas de proceso, caldos de fermentación, de limpieza de equipos, de lavado de gases, etc.
 - Aguas contaminadas de manera accidental o debido a fallos de proceso. Son las aguas resultantes de goteos en bombas y válvulas, derrames accidentales durante almacenamiento, operaciones de carga y descarga (de camiones, reactores, etc.) o transporte, contaminación de aguas de refrigeración en caso de rotura de equipos, aguas de extinción de incendios, etc.
 - Otras aguas (no contaminadas con las aguas residuales de la producción). Son las aguas sanitarias y de lluvia. Deben mantenerse aisladas de otras aguas para evitar su contaminación. Dentro de este grupo también pueden considerarse las aguas de refrigeración indirecta (sin contacto entre las mismas y el material a enfriar), cuya única problemática estriba en un aumento de la concentración de sales disueltas debido a la evaporación.

Los contaminantes generados en la fabricación de principios activos tienen un impacto ambiental muy diferente de una industria a otra, ya que son específicos de los procesos utilizados y de la naturaleza de los productos fabricados en cada instalación industrial. Debido al carácter no biodegradable de algunos compuestos farmacéuticos como quinolonas, nitroimidazoles o sulfonamidas (Yu *et al.*, 2006; Joss *et al.*, 2006), es necesario el estudio de la aplicación de técnicas emergentes de degradación distintas de los métodos convencionales, ya que algunos estudios indican su presencia a la salida de las plantas de tratamiento convencionales (Boyd *et al.*, 2005; Isidori *et al.*, 2005; Vieno *et al.*, 2005).

Por otra parte, hay que tener siempre en cuenta que la mayoría de las instalaciones también se dedican a formulación, por lo que no siempre es fácil distinguir qué porción de los residuos y emisiones generados corresponde a cada actividad, si bien el mayor potencial contaminante se encuentra del lado de la fabricación de los principios activos (Ramos *et al.*, 2005).

La industria cosmética se caracteriza por la innovación y las altas tasas de desarrollo de productos. La innovación es esencial para mejorar el rendimiento, la seguridad y el impacto medioambiental de los productos. Las empresas están experimentando con ingredientes naturales, alejándose de productos químicos sintéticos sin embargo las aguas residuales se caracterizan por sus altos niveles de DQO, sólidos suspendidos, grasas y aceites y SAAM. (Bautista, *et al.*, 2007).

Sin embargo, en los últimos 10-15 años se han desarrollado métodos analíticos para la detección de contaminantes de este sector en concentraciones traza en el ambiente (Ternes y Joss, 2006). Kolpin *et al.*, (2002) demostraron que el 80 % de los 139 ríos de Estados Unidos estuvieron contaminados por contaminantes orgánicos de las aguas residuales de este sector.

Debido a que ya se sabe la presencia de estos microcontaminantes en presentes en el ambiente y que podrían causar que los impactos ecológicos adversos y la salud, se está estudiando para la eliminación de estos contaminantes (Onesios *et al.*, 2009).

1.4 Tecnologías utilizadas para la remoción de contaminantes de la industria farmacéutica

Métodos fisicoquímicos como la precipitación química, la filtración y adsorción con zeolita, la adsorción con carbón activado, la desinfección con cloro, se han utilizado en el tratamiento de aguas residuales industriales para remover la materia orgánica coloidal no biodegradable.

Linares-Hernandez *et al.*, (2010) implementaron un sistema electroquímico, mediante tratamientos de electrocoagulación, empleando electrodos de hierro y oxidación anódica directa (OAD), empleando electrodos de diamante dopados con boro (DDB), los resultados de estos tratamientos, indicaron una remoción del 99% de la DQO, 99% de color y 97% de turbidez, en un tiempo de 2 h. En

el sistema acoplado, la electrocoagulación removió las partículas coloidales y suspendidas y la OAD, permitió la degradación de materia orgánica coloidal. Liu *et al.*, (2011), estudiaron la adsorción de Cu^{2+} del agua residual de la industria farmacéutica por medio de zeolita donde tuvo eficiencias de remoción de hasta 99%. Martínez *et al.*, (2003), reportan la disminución de 362,000 mg/L de DQO en un 56.4 % por medio de oxidación por fenton. Actualmente se sabe que un proceso de tratamiento de aguas residuales más eficiente requiere la combinación de uno o más métodos (biotecnológico y/o físico-químico), ya que un solo tipo de proceso difícilmente logra la descontaminación completa (Ramos *et al.*, 2005).

Debido a lo anterior, el establecimiento de un sistema de tratamiento de agua residual que tienda a disminuir el efecto causado por el uso de esta agua es de suma importancia, sin embargo, la mayoría de los esquemas de tratamiento contemplan procesos que requieren de una gran inversión así como personal especializado para su operación por lo cual no pueden fácilmente ser aplicables a las condiciones de este país.

Con el objetivo de dar solución a este problema, el cual no es exclusivo del país, se han estudiado y desarrollado diversas alternativas de tratamiento físico, químico y biológico. Cada una de las tecnologías poseen eficiencia, pero no existe una que permita el tratamiento de todos los tipos y combinaciones posibles de contaminantes, para la reducción en volumen y/o toxicidad de estos para obtener un residuo final que sea apropiado para manejo y/o desecho (Parker y Corbitt, 1992). Por lo antes mencionado, es muy importante evaluar cada situación en particular para seleccionar un esquema de tratamiento o combinación de tecnologías para proporcionar la mejor solución costo-beneficio (Biotech Support Service, 1999).

Respecto a estas tecnologías para el tratamiento de aguas residuales, los sistemas biológicos están ganando popularidad a nivel mundial, sobre todo aquellos sistemas biológicos compactos como son los biorreactores de lecho

fijo, y que están siendo una alternativa a los sistemas tradicionales de lodos activados. El diseño y operación de estos biorreactores ha avanzado significativamente hasta desarrollar sistemas biotecnológicos más sofisticados como son reactores de membrana, reactores discontinuos secuenciales, reactor de flujo ascendente, entre otros (Chang et al., 2008; Altaf y Ali 2010, Gülmez *et al.* 1998). Además, las aplicaciones prácticas tanto en el tratamiento de agua potable como de aguas residuales cada vez va en aumento (Harremoës, 1996).

La diversidad de tecnologías y sus principios, respecto al tratamiento de aguas residuales hace necesario la evaluación de la pertinencia de una u otra tecnología-principio de operación de los biorreactores. En la Tabla 1 se resumen algunas investigaciones de tratamiento biológico para efluentes de la industria farmacéutica.

Tabla 1. Estudios de tratamiento biológico en efluentes de la industria farmacéutica.

Referencia	Tipo de reactor	% DQO removido	Resumen
Jennet y Dennis (1975)	Filtro anaerobio	94-98	El AR estudiada contenía pocos sólidos suspendidos y tuvo un promedio de DQO de 16,000 mg/L. Los reactores se llenaron de 1.0 a 1.5 pulgadas de grava, y tenía un volumen de 14 litros cama vacía. TRH de 12 h a 48 h a 37 °C y se aplicaron cargas orgánicas de DQO que van desde 0.2 a 3.5 g/L.día.
Hamdy <i>et al.</i> (1992)	Filtro anaerobio	82-88	Dos reactores anaeróbios de película fija que se operaron a 30 °C y 55 °C respectivamente con agua residual farmacéutica real, se observaron los efectos de la velocidad de carga orgánica (VCO) y la altura del reactor sobre la remoción de DQO. Los reactores fueron operados con VCO de 0.53, 0.85, 1.17 y 1.49 kg DQO/m ³ d y un TRH de 4.7 días. El reactor de película fija mesofílica mostró mejor rendimiento que el reactor de película fija termofílica en términos de remoción de DQO, y la altura fue efectiva en el rango de 30-90 cm
El-Gohary <i>et al.</i> (1995)	Lodos activados (LA)	89-95	El AR estudiada contenía una concentración de DQO de 1488-6818 mg/L. Se compone de tres sistemas de tratamiento, lodos activados con un TRH de 6 h, filtro biológico y un tratamiento combinado con periodo de aireación de 11 h. Los estudios demostraron que se puede obtener buena calidad en el efluente, utilizando cualquiera proceso con una aireación prolongada (20 h) o un reactor de película fija seguida de lodos activados con tiempo de retención de 11 h.
	Filtro biológico (FB)	43-88	
	LA + FB	90-96	
Gülmez <i>et al.</i> (1998)	(Reactor anaerobio de flujo ascendente) RAFA	62-71	El estudio experimental se llevó durante 333 días. La DQO del influente fue de 10,000 mg/L. El estudio demostró que después de realizar una extracción con solvente y una pre-aireación para la eliminación de sustancias tóxicas como alcaloides y compuestos volátiles. El tratamiento anaeróbico común se puede aplicar a las aguas residuales de la industria farmacéutica

Referencia	Tipo de reactor	% DQO removido	Resumen
Inanc <i>et al.</i> (2002)	RAFA + LA	70-80	El estudio consta de dos etapas: anaerobia y aerobia. La anaerobia es también un sistema de dos fases: fase de ácido y la fase de producción de metano. La segunda etapa fue diseñada y operada con un sistema de lodos activados prolongada. Las pruebas de la actividad metanogénica anaerobios y el acetato como sustrato confirmaron la toxicidad mientras que con 30 minutos de aireación o la coagulación de alumbre de 300 mg/L es suficiente para reducir la toxicidad casi completamente. El carbón activado en polvo, cal y (100-1,000 mg/L) no tuvo ningún efecto sobre la reducción de toxicidad.
Buitrón <i>et al.</i> (2003)	Biofiltro Secuencial Batch (BSB)	95-97	El estudio presenta los datos obtenidos al tratar un efluente farmacéutica por medio de un reactor secuencia anaerobia y aerobia probaron diferentes tiempos de reacción para la fase anaerobia de 1 h, y para la aerobia de 4 a 12h. El volumen de intercambio de agua fue de 1 a 12 h. El influente contenía una DQO que varía de 28,400 a 72,260 mg/L de N-NH ₄ , y 430 a 650 mg SST/L. La carga orgánica incrementó progresivamente desde 1 hasta 7.7 Kg DQO/m ³ día. La eliminación de color fue del 80% en unidades de Pt-C. El reactor es capaz de tratar concentraciones iniciales de hasta 100 mg DQO/L con una remoción de hasta 85 %
Rodríguez <i>et al.</i> (2005)	RAFA	90	Se trabajó con un agua que contenía 3.2 g/L de sulfato y un período de aclimatación de 120 días, la eficiencia de remoción fue más del 90%. La eliminación de sulfato fue alrededor del 90%. El rendimiento del reactor se afectó cuando la carga orgánica aumentó a 2.09 g DQO/L.d. La acumulación de sulfuros, combinada con la disminución en el pH, afectó el desempeño del reactor. La producción de metano comenzó después de la iniciación del consumo de sulfato. La actividad metanogénica se afectó por la presencia de metano y sulfato.

Referencia	Tipo de reactor	% DQO removido	Resumen
Zhou <i>et al.</i> (2006)	Reactor bafleado anaerobio y reactor con biopelícula suspendida	>97	En este estudio se trató un agua residual farmacéutica que contenía 9,736 a 19,862 mg/L de DQO utilizando dos sistemas de reactor bafleado anaerobio y uno de biopelícula suspendida. Durante el período de funcionamiento estable, la DQO del efluente del reactor bafleado anaerobio vario entre 1,432 a 2,397 mg/L con un TRH de 2.5 días; 979 a 1,749 mg/L con un TRH de 2.5 día. La DQO del reactor de biopelícula suspendida vario entre 256 y 355 mg/L con un TRH de 5.0 a 12.5 h. Aunque es eficaz en la eliminación de la mayoría de los antibióticos como ampicilina y aureomicina, con el reactor bafleado anaerobio suspendido y hasta 42% con el reactor bafleado anaerobio.
Chang <i>et al.</i> , (2008)	Reactor de membrana	>95 %	Trabajaron con un agua residual farmacéutica real que contenía 11,800 mg/L de DQO, sólidos suspendidos de 60 a 360 mg/L. El reactor fue alimentado con una carga orgánica de 0.099 a 6.844 kg DQO/m ³ día operado por 140 días obteniéndose una remoción de DQO del 95%.
Altaf y Ali (2010)	Reactor discontinuo secuencial	66 %	Diseñaron un reactor discontinuo secuencial para tratar un efluente de la industria farmacéutica con una DQO promedio de 400 mg/L. Después de 21 días de tratamiento removieron el 66 % de DQO y el 66 % de SST. El porcentaje de remoción no es alto, sin embargo, el estándar de calidad de Pakistán el cual es de 400 mg/L.

Los reactores biológicos han sido usados en un gran número de efluentes domésticos e industrias a gran escala (Rogalla y Bourbigot, 1990). Tienen la característica de poder concentrar la masa microbiana que degrada el material contaminante en tanques de poco volumen. El proceso de tratamiento de aguas residuales a través de este proceso se puede realizar de forma más económica y en menores terrenos que con procesos convencionales. Esto es de especial interés para plantas de tamaños relativamente pequeñas (Valdivia *et al.*, 1997).

Para el tratamiento de efluentes farmacéuticos, los filtros anaerobios han demostrado ser efectivos. Jennet y Dennis (1975) reportan eficiencias mayores de 90 % para estos sistemas de tratamiento. El-Gohary *et al.*, (1995) evaluaron algunas de las tecnologías biológicas para el tratamiento de aguas residuales de la industria farmacéutica, en donde se compara las eficiencias que tiene el proceso de lodos activados, un reactor de película fija y un proceso con ambos sistemas. Reportan eficiencias de hasta un 96 % de remoción de DQO con el proceso de reactor de película fija seguido de lodos activados.

Gülmez *et al.*, (1998) trabajó con un reactor anaerobio de flujo ascendente de 10.35 L por 333 días y demostró que los tratamientos anaerobios son eficientes si existe un pre-tratamiento de aireación para la extracción de solventes.

Buitrón *et al.* (2003) sugiere que la mineralización de muchos contaminantes recalcitrantes es posible mediante la integración de un tratamiento anaerobio/aerobio secuencial. En este sentido, algunos compuestos son parcialmente degradados por el proceso anaerobio, generando productos derivados, que a su vez, pueden ser fácilmente mineralizada por microorganismos aerobios. Así, la mineralización de algunos contaminantes recalcitrantes ha sido posible mediante los tratamientos anaerobios/aerobios secuenciales.

Por lo general, los tratamientos combinados se llevan a cabo en dos reactores distintos conectados en serie. Una alternativa es el uso de un único reactor en el que la fase aerobia y anaerobia son operados secuencialmente. Este procedimiento puede ofrecer la ventaja de un intercambio permanente de entre el metabolito los microorganismos aerobios y anaerobios, que favorecen al establecimiento de las cadenas tróficas.

1.5 Vermifiltración como nueva tecnología de tratamiento

La vermifiltración consiste en que la materia orgánica del agua residual es degradada por una población de microorganismos y lombrices. El biofiltro se empaca con diferentes capas que actúa como un filtro percolador. La materia orgánica es consumida por las lombrices, transformándola, por oxidación, en anhídrido carbónico y agua. Un tercio de la materia orgánica pasa a constituir masa corporal de las lombrices y las excreciones constituyen el humus de lombriz.

En el sistema de vermifiltración se efectúan los siguientes procesos: filtración, adsorción, reacciones aerobias y anaerobias específicas como la nitrificación-desnitrificación y amonificación (Sinha *et al.*, 2008).

Desde 1990, se han realizado algunos estudios sobre la tecnología de vermifiltración a escala piloto. El proceso de vermifiltración experimental de Sinha *et al.*, (2008) mostró alta eficiencia en el tratamiento de aguas residuales domésticas, en la remoción de la demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno y sólidos suspendidos (SS), así como la capacidad de eliminar nitrógeno y fósforo. Algunos de los factores químicos (por ejemplo, pH y amonio) que puede afectar la supervivencia de lombrices y el efecto del tratamiento también se han estudiado. El pH en las aguas residuales puede ser casi neutralizado por las lombrices de tierra (Hughes *et al.*, 2007; Sinha *et al.*, 2008).

Bajsa *et al.*, (2003), describen cómo los vermifiltros se pueden utilizar para tratar residuos orgánicos y estabilizar los lodos procedentes de depuradoras de aguas residuales. Xing *et al.*, (2005) afirman que los procesos de tratamiento biológico son una opción para el tratamiento de aguas residuales, además, el proceso es económico debido al bajo consumo de energía. Ramírez *et al.*, (2007) trataron un agua residual domestica con una DQO promedio de 609 mg/L y en el efluente 198 mg/L, reportando una remoción promedio de 78%.

En el estudio que realizaron Li *et al.*, (2008) con agua residual porcícola observaron una disminución de materia orgánica hasta 50%, de N-NH₄ obtuvieron una remoción de 60%, de nitrógeno total 50%, de fosforo un 30% y de carbón orgánico 50%. El trabajo realizado por Sinha *et al.*, (2008) muestra una eliminación de DBO₅ de 98%, mientras que de DQO solo un promedio de 45%, también fueron eliminados patógenos como coliformes fecales (*E. coli*), *Salmonella spp.*, virus entéricos y huevos de helmintos. Otro estudio realizado por Li *et al.*, (2009) con agua residual doméstica reportan una remoción de 93.5% de DQO, 96.8% de DBO₅, 97% de SST 56.7% de nitrógeno total y 65.2% de fosforo total.

Froehner *et al.*, (2010) reportan 56.7 % de remoción de hormonas. Hashmi (2008) trató un agua residual domestica con un sistema de lodos activados que contenía 1160 mg/L de DQO removiendo 86 %, N-NH₃ 20.54 mg/L y removi6 29%. Xing *et al.*, (2010) utilizaron un vermifiltro para tratar agua residual doméstica y operaron con cargas hidráulicas 2.4 a 6.7 m³/m²d, removiendo DQO (47.26 a 57.55%), DBO₅ (54.78 a 60.89%), SST (62.06 a 77.9%) y N-NH₄ (21,01 a 62,31%).

En la tabla 2 se hace una comparación de un vermifiltro contra las lagunas de estabilización y los lodos activados (Sinha *et al.*, 2008).

Tabla 2. Comparación de vermifiltro contra otras tecnologías.*

Características	Lagunas de estabilización	Lodos activados	Vermifiltro
Superficie	Requiere grandes superficies para retener el agua de una población por 20 días o más.	Requiere menor superficie que las lagunas, pero mayores que el biofiltro.	Requiere muy poca superficie dado que el agua es tratada en minutos.
Costos de inversión	Costo moderado.	Alto costo.	Costos muy bajos.
Equipos de control	Sencillos, ya que el sistema funciona por gravedad.	Complejos, dado que inyecta aire u oxígeno a presión.	Sencillos, ya que el sistema funciona a nivel de terreno.
Costos de operación y mantenimiento	Para cumplir las normas de calidad y evitar la producción de malos olores se utilizan elementos químicos	Para cumplir las normas de calidad y evitar la producción de malos olores se utilizan elementos químicos (cloro). Tiene un gasto energético importante por los equipos que inyectan oxígeno (aire).	No utiliza elementos químicos que dañen el ambiente. Su gasto energético es mínimo.
Eficiencia de tratamiento	Requiere una importante radiación solar. Por lo general las reducciones oscilan en torno al 60%.	Es posible alcanzar la norma de agua apta para riego.	Muy eficiente en la remoción de los contaminantes y microorganismos patógenos. Reducciones superiores al 90%. Cumple la norma de agua apta para riego y de descarga a cursos de aguas.
Remoción de contaminantes	Ramírez <i>et al.</i> , (2007) trataron un agua residual domestica con una DQO promedio de 609 mg/L y en el efluente 198 mg/L, reportando una remoción promedio de 78%. Froehner <i>et al.</i> , (2010) reportan 56.7 % de remoción de hormonas.	Hashmi (2008) trató un agua residual domestica con un sistema de lodos activados que contenía 1160 mg/L de DQO removiendo 86 %, N-NH ₃ 20.54 mg/L y removió 29%. Froehner <i>et al.</i> , (2010) reportan 73.1 % de remoción de hormonas.	Xing <i>et al.</i> , (2010) utilizaron un vermifiltro para tratar agua residual domestica y operaron con cargas hidráulicas 2.4 a 6.7 m ³ /m ² d, removiendo DQO (47.26 a 57.55%), DBO ₅ (54.78 a 60.89%), SST (62.06 a 77.9%) y N-NH ₄ (21,01 a 62,31%).

*Tomado y modificado de Sinha *et al.*, (2008).

Hughes *et al.* (2008) estudiaron el efecto que pueden tener el amoníaco/amonio sobre la lombriz del proceso de vermifiltración, concluyendo que el funcionamiento del proceso biológico no se ve afectado por la presencia de 545 mg/Kg de NH_4 , permitiendo así, la utilización de este desarrollo en el tratamiento de aguas residuales con presencia de amoníaco.

Sin embargo, casi ningún proceso de vermifiltración ha sido ampliamente aplicado, debido a la falta de madurez en la técnica. Todos los estudios se han realizado en el laboratorio o en el lugar por un corto plazo y en pequeña escala.

1.6 Vermicultura

Una respuesta a los problemas de contaminación orgánica es justamente la vermicultura, simple, racional y económica. Es una biotecnología que utiliza, a una especie domesticada de lombriz, *Eisenia foetida* o lombriz roja californiana; la cual recicla todo tipo de materia orgánica y genera *humus*; un fertilizante orgánico de primer orden, que es la excreta de la lombriz que se utiliza fundamentalmente para mejorar los suelos.

Estas lombrices consumen la materia orgánica de los afluentes residuales, transformando una tercera parte en masa corporal y la restante en humus, por lo tanto no se generan lodos residuales. Además, en este sistema de tratamiento de agua residual industrial se origina una gran flora bacteriana que contribuye a la degradación de la materia orgánica existente (Sihna *et al.*, 2008).

Esta lombriz es autosuficiente, vive en cautiverio un promedio de 15 años, alcanza el estado adulto entre los 7 y 9 meses llegando a medir 10 centímetros de largo, su cuerpo alcanza un diámetro promedio de 4 milímetros por lo que pesa de 0.24 hasta 1.4 gramos (Figura 1). Es una especie rústica, sin embargo no soporta la luz solar directa. Su pequeño tamaño favorece la calidad de su defecación que elimina en calidad de humus. Posee ambos sexos pero es

incapaz de autofecundarse, se aparean cada 7 días y de la unión se deposita una cápsula con 2 a 20 nuevas lombrices que germinan después de 2 a 3 semanas (Basaure, 1993).



Figura 1. *Eisenia foetida*

Las condiciones ideales del hábitat de la lombriz corresponden a una temperatura que oscila entre los 15° y 24° C, siendo óptima aquella que se acerque lo más posible a la de su propio cuerpo (aproximadamente 20° C); un pH neutro entre 6.5 y 7.5; oxígeno libre; materia orgánica; baja luminosidad ya que los rayos ultravioleta las matan y humedad disponible. Esta última es un factor de mucha importancia que influye en la reproducción, una humedad superior al 85% hace que las lombrices entren en un periodo de latencia, afectando en la producción de humus y en la reproducción de éstas. Las condiciones más favorables para que la lombriz produzca y se reproduzca se presentan a una humedad entre el 70 y 80%. Debajo de 70% de humedad es una condición desfavorable, por otro lado niveles de humedad inferiores al 55% son mortales para las lombrices.

La temperatura es otro de los factores que influyen en la reproducción, producción de humus o vermicomposta. Si la temperatura desciende por debajo de 15° C las lombrices entran en un periodo de latencia, disminuyendo su actividad, dejando de reproducirse, crecer y producir humus. Además,

alargan el ciclo reproductivo, puesto que los cocones (huevos) no eclosionan hasta que se presenten las condiciones ambientales favorables (Basaure, 1993).

1.7 Toxicidad como herramienta para evaluar el tratamiento y la calidad del efluente

Las aguas residuales de la industria cosmético-farmacéutica, debido a su composición compleja y específica, presentan un riesgo potencial para el ambiente. Tradicionalmente, la calidad del agua se ha basado en aproximaciones físico-químicas y microbiológicas, sin embargo, los avances en la investigación toxicológica proporcionan la herramienta para detectar efectos tóxicos en un organismo, por lo cual, el empleo de pruebas de toxicidad se ha incrementado.

El efecto de los contaminantes en los organismos se valora mediante pruebas controladas de laboratorio conocidas como ensayos biológicos o "bioensayos", los cuales consisten en medir la toxicidad de los contaminantes ya sea en forma individual o en mezcla, sometiendo deliberadamente a algún ser vivo a distintas concentraciones de éstos (Eissa *et al.*, 2003; Moreno, 2003).

La evaluación de los efectos de los contaminantes a nivel biológico, es difícil de estimar directamente en un ecosistema, debido a que éstos son complejos, multivariados y simultáneamente expuestos a una gran variedad de estresores con efectos acumulativos que son escasamente entendidos debido a su difícil reproducción en pruebas con animales de laboratorio, para determinar la calidad del ambiente con diferentes procedencias.

Además, se debe apoyar forzosamente con análisis químicos cuantitativos y cualitativos, que permitan correlacionar la concentración y movilidad de los contaminantes con los efectos biológicos (Fernícola, 1992a; Butterworth *et al.*, 1995 y Figueroa y Pinzón, 2000).

En cambio, el uso de organismos en la evaluación del efecto biológico es más sencillo, debido a que son organismos sensibles a los cambios ambientales, permitiendo la cuantificación de la magnitud del estrés (Fernícola, 1992a).

En diversos países, el uso de indicadores biológicos es empleado en la evaluación de la salud del ecosistema y en la determinación del impacto potencial en el humano, a través de la estimación de la evaluación de riesgo y efecto de los mismos (Fernícola, 1992b).

Un indicador biológico, es un organismo seleccionado por el grado de su sensibilidad o tolerancia a diversos tipos de contaminación o sus efectos. Según Cairns y Dickson (1971) el uso de indicadores biológicos brinda dos beneficios para la evaluación de la calidad ambiental: 1.) Los datos biológicos son fácilmente accesibles como los físicos y químicos; 2.) La información será expresada numéricamente, para que facilite la evaluación con métodos estadísticos.

Una serie de bioensayos estandarizados de toxicidad se ha desarrollado para establecer el nivel de toxicidad de las aguas residuales contra diferentes organismos, como bacterias, protozoarios, hongos, algas, plantas, invertebrados y peces (Carballo *et al.*, 2002) (Tabla 3).

Tabla 3. Bioensayos más utilizados

Nombre del Ensayo	Duración del ensayo
Bioluminiscencia <i>Vibrio fischeri</i>	Horas
Toxicidad aguda <i>Paramecium caudatum</i>	Horas
Toxicidad aguda <i>Daphnia magna</i>	48 horas
Toxicidad aguda <i>Danio rerio</i>	48 horas
Toxicidad aguda <i>Allium sp</i>	72 horas
Toxicidad aguda <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	72 horas
Toxicidad aguda <i>Lactuca sativa</i>	120 horas

Los bioensayos se utilizan para detectar dos tipos de toxicidad:

a) Toxicidad aguda: esta prueba determina la concentración de una muestra (compuesto específico, efluente o aguas receptoras), que producen un efecto adverso en un grupo de organismos de prueba durante un tiempo de exposición corto (24 o 48 horas). (Encina y Díaz, 2001).

b) Toxicidad crónica: esta prueba determina efectos subletales a largo plazo (por ejemplo reducción de crecimiento o reproducción). (EPA, 1998). Los organismos son expuestos durante un ciclo completo o parcial de vida.

La toxicidad se determina usando procedimientos estadísticos y se expresa como concentración efectiva a la que produce la disminución del 50% de la población expuesta ($CE_{50\%}$) o unidades de toxicidad (UT). Cuando una muestra sin dilución tenga un efecto menor del 50% sobre la población expuesta, se expresa como “toxicidad mayor al 100%” (EPA, 1999a).

El principal problema de utilizar las pruebas de toxicidad es el mantenimiento del cultivo de las especies de prueba en buena salud y en número suficiente, además, se requiere de personal calificado y la disponibilidad de equipos específicos y cuartos con temperatura controlada (Persoone, 1992).

Por ello, se han desarrollado “kits de prueba” para evitar problemas inherentes o relacionados con el mantenimiento de los cultivos. En la Tabla 4 se presentan algunos de los kits de bioensayos disponibles en el mercado (Blaise, 1991)

Tabla 4. Pruebas de toxicidad disponibles en el mercado.

Kit de prueba	Organismo de ensayo y el proceso de prueba
Bacterias	
BioTox Kit	<i>Vibrio fischeri</i> , luminiscencia
Microtox	<i>Vibrio fischeri</i> , luminiscencia
ECHA Biocide Monitor	<i>Bacillus sp.</i> , inhibición de la actividad de la deshidrogenasa
MetPAD	<i>E. coli</i> , cepa mutante, inhibición de la actividad β -galactosidasa
MetPLATE Kit	<i>E. coli</i> , inhibición de la actividad β -galactosidasa
Toxi-Chromotest Kit	<i>E. coli</i> cepa mutante, inhibición de la actividad β -galactosidasa
MetSoil	<i>E. coli</i> cepa mutante, inhibición de la actividad β -galactosidasa
Toxi-ChromoPad Kit	<i>E. coli</i> , la inhibición de la síntesis de novo de β -galactosidasa
Polytox	Mezcla de cepas bacterianas aisladas originalmente de las aguas residuales, la reducción de la actividad respiratoria
Muta-Chromoplate Kit	Versión modificada de la prueba de Ames
Mutatox	Cepa mutante oscuro de <i>Photobacterium phosphoreum</i> (<i>V. fisheri</i>), genotoxicidad
SOS-Chromotest Kit E	Cepa mutante de <i>E. coli</i> , genotoxicidad
Invertebrados	
Daphnotoxlit F magna	Cladóceros crustáceos, <i>Daphnia magna</i>
Daphnotoxkit F pulex	Cladóceros crustáceos, <i>Daphnia pulex</i>
IQ Toxicity Test Kit	<i>Daphnia magna</i>
Artoxkit F	<i>Artemia franciscana</i> (anteriormente <i>A. salina</i>)
Thamnotoxkit F	Crustáceos, <i>Thamnocephalus platyurus</i>
Rotoxkit F	Rotíferos, <i>Branchionus calyciflorus</i>
Protozoarios	
Protoxkit F	Ciliado, <i>Tetrachymena thermophila</i>
Algas	
Algaltoxkit F	Prueba el crecimiento de algas, <i>Selenastrum capricornutum</i>

1.7.1 *Vibrio fischeri*

Un gran esfuerzo se ha hecho para elaborar los métodos de aplicación de pruebas de toxicidad con bacterias basado en la medición de la inhibición de bioluminiscencia. Como es el caso de *Vibrio fischeri* que es una bacteria marina luminiscente, gram-negativa, anaerobia facultativa.

La prueba se basa en la medición de la luminiscencia emitida por las bacterias *V. fischeri* después de su exposición a una muestra problema por un periodo de

5 a 30 minutos. La intensidad de la luz emitida por las bacterias expuestas a la muestra problema se compara con la emitida por bacterias que permanecen en las condiciones óptimas del sistema control (Bullich, 1988). Para este bioensayo se emplea el equipo Microtox® (Figura 2).



Figura 2. Sistema Microtox empleado para realizar bioensayos con *Vibrio fischeri*.

Ante la presencia de sustancias tóxicas, la luminiscencia de *V. fischeri* disminuye de forma proporcional a la carga tóxica en la muestra problema. Este decaimiento se produce como resultado del daño ocasionado a los procesos metabólicos asociados con la respiración bacteriana.

La realización de bioensayos con *V. fischeri* presenta una alta sensibilidad a un amplio rango de sustancias químicas, además de ser un procedimiento estandarizado reconocido en numerosos países. Su respuesta ha sido establecida para más de 1200 sustancias (Kaiser y Palabrica, 1991).

1.7.2 *Daphnia magna*

Daphnia magna Strauss 1820 (Crustácea: Daphniidae) es una especie partenogenética usada extensivamente en pruebas de toxicidad para evaluar sustancias químicas puras, aguas residuales domésticas e industriales, aguas superficiales o subterráneas, agua potable, y lixiviados entre otros (Figura 3). Esto es debido a: 1) amplia distribución geográfica, 2) importante papel en la

comunidad zooplanctónica, 3) facilidad de cultivo, 4) corto ciclo de vida con la producción de un alto número de crías (Reynaldi *et al.*, 2006).

Particularmente *Daphnia magna* es considerada como especie de referencia internacional en la mayoría de los protocolos de evaluación existentes, publicados por entidades como la Organización Alemana de Estandarización (DIN, por sus siglas en inglés), la Organización Internacional de Estandarización (ISO, por sus siglas en Inglés), la Sociedad Norteamericana de Pruebas y Materiales (ASTM, por sus siglas en inglés) y la Agencia de Protección Ambiental, de los Estados Unidos de Norteamérica (U.S. EPA por sus siglas en inglés). En el Anexo III se presentan algunas metodologías estandarizadas.



Figura 3. *Daphnia magna*

1.7.3 *Pseudokirchneriella subcapitata*

Antes Selenastrum capricornutum, es una alga verde unicelular con forma de media luna (Figura 4) y un volumen aproximado de entre 40 y 60 μm^3 , que puede encontrarse en sistemas acuáticos epicontinentales eutróficos u oligotróficos.



Figura 4. *Pseudokirchneriella subcapitata*.

Este ensayo puede ser utilizado por sí mismo o como parte de una batería para estimar la potencial de fitotoxicidad de aguas dulces superficiales o subterráneas, aguas residuales y otro tipo de muestras líquidas, tales como elutriados (extracto acuoso de un sedimento) o lixiviados, agua intersticial de sedimentos o cualquier compuesto puro soluble en agua. La prueba es especialmente adecuada para ser practicada en laboratorios que cuenten con una infraestructura básica, siendo un ensayo sencillo y de bajo costo (Blaise *et al.*, 2000)

En este ensayo se evalúa la inhibición que la exposición a una muestra contaminada ejerce en la capacidad de dividirse cada célula en dos alterando la tasa de crecimiento de la población de las algas. El efecto de inhibición de la población causada por los agentes tóxicos en una muestra luego de 72 horas de exposición se determina comparándolo con el crecimiento normal observado en un sistema libre de agentes contaminantes, conocido como control.

Además los indicadores biológicos pueden revelar el efecto producido después de la absorción de cierta dosis de agentes químicos y el lugar donde éste ejerce el efecto dentro del organismo. Los indicadores de exposición permiten tener una estimación indirecta, es decir, el efecto que provoca un compuesto químico en un tiempo. De acuerdo a esto, los indicadores de acumulación proveen una evaluación de la concentración de la sustancia retenida en órganos pudiendo identificar alteraciones tempranas y totalmente reversibles por el organismo (Fernícola, 1992c).

2. JUSTIFICACIÓN

El agua es indispensable para todos los organismos y para las actividades productivas del hombre. Sin embargo, su uso desmedido y la contaminación generada por diversos procesos antropogénicos ponen en riesgo la protección de este recurso, la salud humana y la integridad de los ecosistemas.

La toxicidad producida por diversos contaminantes tales como metales pesados, hidrocarburos y plaguicidas a los ambientes acuáticos ha sido ampliamente evaluada. No obstante, son pocos los estudios relativos a los productos farmacéuticos y de higiene personal a nivel mundial y en nuestro país son prácticamente inexistentes. Cabe destacar que la comercialización de estos productos requiere la previa realización de estudios de seguridad y toxicidad preclínica y clínica, pero desafortunadamente no se incluyen pruebas para definir el impacto que ocasiona su desecho al ambiente.

Debido a lo anterior, es de gran importancia proponer alternativas al tratamiento de residuos líquidos farmacéuticos y realizar estudios de toxicidad para evaluar y conocer el impacto que puede producir.

3. OBJETIVO

Determinar la remoción de materia orgánica y toxicidad de un efluente de una industria cosmético-farmacéutica utilizando un vermifiltro

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar el agua residual de una industria cosmético-farmacéutica.
- Estudiar el comportamiento de los contaminantes en el sistema de vermifiltración.
- Estudiar el efecto del tratamiento del agua residual con respecto a los compuestos que generan toxicidad utilizando organismos indicadores.

5. METAS DE TRABAJO

Demostrar a nivel experimental la factibilidad técnica del vermifiltro para la remoción de materia orgánica medida como DQO y la reducción de toxicidad utilizando tres organismos indicadores: *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Vibrio fischeri* y *Daphnia magna*.

6. METODOLOGÍA

6.1 Caracterización del agua residual industrial

El agua residual modelo para la investigación fue agua proveniente de una industria cosmético-farmacéutica ubicada en la Ciudad Industrial del Valle de Cuernavaca (CIVAC), en la ciudad de Jiutepec, Morelos. Se conoce de la literatura que la composición del agua residual industrial farmacéutica es muy variable (Chang *et al.*, 2008). Esto se debe a que los procesos y prácticas que se llevan a cabo para la elaboración de productos pueden ser diferentes de un establecimiento a otro; además, otro factor importante de variación es la cantidad de producción.

Por estas razones es importante conocer los componentes del agua residual antes de aplicar el tratamiento. Con una caracterización inicial completa del agua será posible identificar contaminantes y seleccionar la tecnología adecuada para el tratamiento.

El agua residual se obtuvo de una empresa donde se fabrican cremas, enjuagues bucales, así como ungüentos y suplementos alimenticios.

Los principales parámetros analizados fueron: demanda química de oxígeno sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), nitrógeno amoniacal (N-NH₃), nitratos (N-NO₃), nitritos (N-NO₂) y toxicidad.

6.2 Sistema experimental

Para el desarrollo del proyecto se contó con dos sistemas experimentales que se montaron en la planta piloto de tratamiento de aguas residuales industriales y municipales del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA).

Los sistemas estuvieron formados de las siguientes partes:

- Vermifiltro de acrílico de 120 cm de altura y 55 cm de diámetro, estuvo conformado por cinco capas: una capa de vermicomposta (47.5 L); una capa de tierra de lombriz (humus) (47.5 L); una capa de viruta (12 L); una capa de tezontle (80.7 L) que sirve como medio filtrante donde se desarrolla biomasa y por último una capa de grava (23.7 L), la cual sirve de soporte y además funciona como material permeable que permite la salida del efluente (Figura 5).
- Bomba peristáltica con ajuste de caudal para alimentación del reactor.
- Distribuidor de influente.
- Materiales diversos como mangueras, accesorios, etc.
- El segundo vermifiltro fue de acrílico con dimensiones de 40 cm de alto y 19 cm de diámetro, solo se empacó con vermicomposta (22 L) y grava (3.5 L) como se observa en la figura 6.

La alimentación (influyente) se llevó a cabo por la parte superior del sistema mediante una bomba peristáltica. En la parte inferior del sistema se encuentra la salida del efluente.

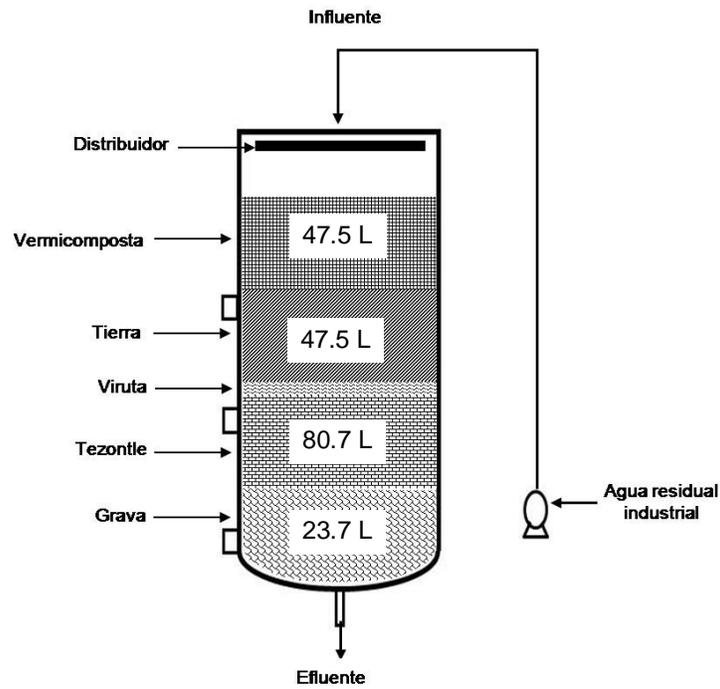


Figura 5. Esquema del vermifiltro empacado con grava, tezontle, viruta, tierra y vermicomposta.

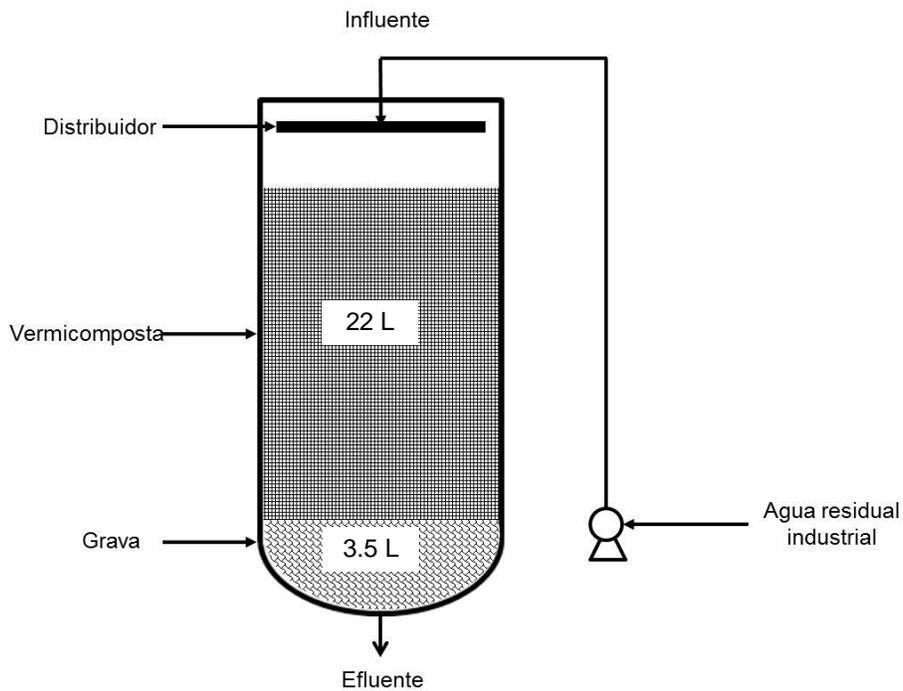


Figura 6. Esquema de vermifiltro empacado con grava y vermicomposta.

6.3 Preparación del material de empaque

Se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Se lavó la grava y el tezontle.
2. Se dejaron secar al sol.
3. Los materiales fueron tamizados, para el caso de la grava se ocupó un tamiz de pruebas físicas, cuya abertura es de 1 pulgada (25 mm). Lo que es retenido por la malla se desecha y lo que pasa se procesa tamizándolo por segunda vez en una malla de 0.5 pulgadas de diámetro (12.7 mm), el material retenido es el que se ocupa. Para el caso del tezontle se utilizó un tamiz de 0.5 pulgadas, donde el material retenido se desechó y lo que pasa se tamiza por segunda vez con un tamiz de 0.25 pulgadas (6.30 mm), el material retenido es el que se ocupó.

La vermicomposta se obtuvo de la que se elabora en el IMTA a partir de lodos provenientes de la planta de tratamiento de agua residual del mismo Instituto.

Se determinó la densidad de lombrices de acuerdo a la Ecuación 1, con la ayuda de un extractor cúbico de substrato de 422 cm³ (Figura 7) (Schuldt *et al.*, 1998).

$$\text{Densidad de lombrices} = \frac{(\text{numero de lombrices})(\text{área del lecho})}{\text{área del extractor}}$$

Ecuación 1



Figura 7. Extractor de tierra de 422 cm³.

Después se determinó la biomasa de lombrices con el siguiente procedimiento:

1. Se remueven las lombrices del extractor, se enjuagan con agua para remover todas las partículas de tierra.
2. Las lombrices se colocan en un vaso de precipitado con 10 mL de agua destilada, el cual se tara previamente.
3. Se pesan en una balanza y se registra el peso promedio en mg.

También se midió conductividad y pH de acuerdo a la norma NMX-FF-109-SCFI-2008 que establece las especificaciones y métodos de prueba para el Humus de lombriz (lombricomposta).

Por último se realizó un análisis de sobrevivencia de las lombrices expuestas al agua residual industrial por una semana antes de colocarlas en el vermifiltro. Consistió en colocar la vermicomposta en una canasta con 50 lombrices y diariamente se humedecía con un volumen de 500 mL de agua residual industrial, se realizaron tres réplicas (Figura 8). Al final se contó el número de lombrices.



Figura 8. Análisis de sobrevivencia de lombrices.

La tierra que se ocupó fue a partir de la vermicomposta seca que se ocupa en el IMTA para el abono de áreas verdes.

6.4 Metodología de las pruebas de vaciado para determinar la porosidad

Las pruebas de vaciado se realizaron basadas en la metodología descrita por Garzón-Zúñiga *et al.* (2003). El procedimiento se describe a continuación.

1. Se pesa la columna de acrílico vacía.
2. Se empacan las columnas con 1.5 L de grava, 5 L de tezontle, 1 L de viruta, 3.5 L de tierra y 3.5 L de vermicomposta, la columna se pesa cada vez que se le añade cada uno de los materiales antes mencionados.
3. Se llenan los reactores con agua hasta el nivel de la grava, se vacían y se mide el agua evacuada. Posteriormente se hace lo mismo en el nivel superior de cada material. Este procedimiento permite estimar los espacios vacíos que se encuentran en el volumen de cada material.
4. El reactor se llena por el fondo con agua hasta que el medio filtrante esté completamente inmerso, el llenado se debe realizar lentamente para prevenir la expansión del mismo y la formación de burbujas de aire. Se deja reposar toda la noche.
5. Se vacía la columna.
6. La columna se llena nuevamente con agua y se comienzan las pruebas de vaciado. La duración de estas pruebas es de 1200 minutos y se hacen por triplicado para cada columna. El volumen de agua que se encuentra en los reactores se vacía y se mide el volumen acumulado en varios intervalos de tiempo (1, 2, 4, 15, 30, 60, 180, 240, 420 y 1200 minutos).

-
7. Con los resultados se calcula la porosidad *in situ*, la porosidad debe ser igual al valor del volumen del agua acumulada al final de las pruebas de vaciado, adicionado al volumen de agua contenido en cada material.

6.5 Determinación de la hidrodinámica del vermifiltro

La determinación del comportamiento hidrodinámico del vermifiltro se basó en las pruebas de vaciado de acuerdo a la metodología descrita por Garzón-Zúñiga *et al* (2003), con el cual se puede calcular el tiempo de residencia hidráulica (TRH). Para ello se realiza las pruebas descritas en el punto 6.4

6.5.1 Determinación de los espacios vacíos en el vermifiltro con respecto al flujo de salida

Para determinar el volumen de los espacios vacíos se utiliza el volumen de agua obtenido de las pruebas de vaciado de cada intervalo de tiempo y graficando la siguiente ecuación:

$$Q = \frac{\Delta \text{volumen acumulado}}{\Delta \text{intervalo de tiempo}} \quad \text{Ecuación 2}$$

En la Figura 9 se muestra el comportamiento de la curva teórica del volumen de espacios vacíos *versus* caudal.

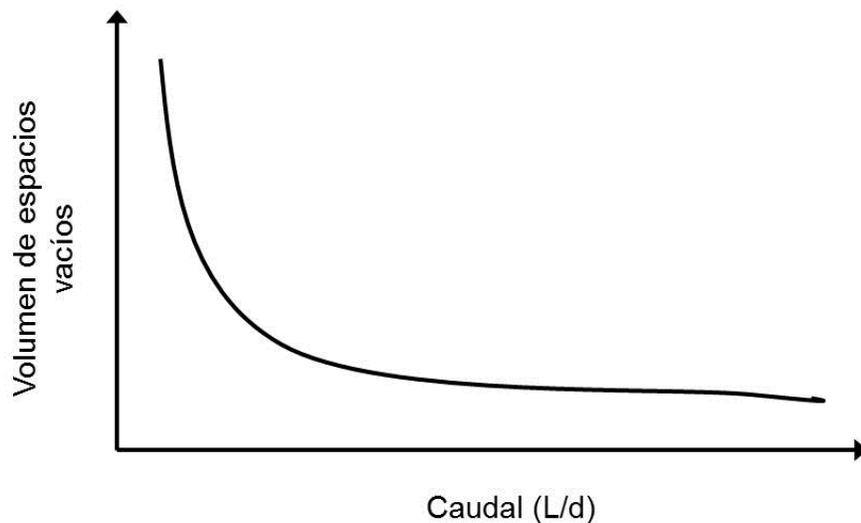


Figura 9. Curva teórica de espacios vacíos

6.5.2 Determinación de la carga hidráulica volumétrica

Se obtiene la carga hidráulica volumétrica utilizando la siguiente ecuación:

$$Carga\ hidráulica = \frac{Q}{V_{MF}} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

Carga hidráulica (m^3/m^3MFd)

Q = Caudal de alimentación (m^3/d)

V_{MF} = Volumen del medio filtrante (m^3)

6.5.3 Determinación del tiempo de residencia hidráulica (TRH)

Para determinar el tiempo de residencia hidráulica se utiliza la siguiente ecuación:

$$TRH = \frac{V_t}{Q} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde:

TRH = Tiempo de residencia hidráulica

V_t = Volumen total de agua residual en tratamiento (volumen correspondiente a la porosidad - volumen de espacios vacíos)

Q = Caudal (6 L/d)

6.5.4 Determinación de la capacidad de adsorción de la vermicomposta

Se realizaron pruebas utilizando pequeñas columnas de acrílico con un diámetro de 5.7 cm para determinar la capacidad de adsorción de la vermicomposta con la que se empacaron los sistemas de vermifiltración. Las columnas se empacaron con 100 g de vermicomposta esterilizada con una solución de cloruro de mercurio ($HgCl_2$) al 1% de acuerdo a Tuominen *et al.*, (1994). Para determinar la capacidad de adsorción de materia orgánica medida como DQO, una columna se alimentó con agua residual de la industria cosmética-farmacéutica en estudio, la cual fue esterilizada con $HgCl_2$ y otra columna que se utilizó para determinar la capacidad de adsorción de $N-NH_4$ en

la vermicomposta, se alimentó con una solución de cloruro de amonio (NH_4Cl) con una concentración de 50 mg/L. Las columnas operaron con un caudal de 4.5 mL/min. El experimento se realizó por duplicado.

6.6 Seguimiento del vermifiltro

Se determinó la densidad de la lombriz dentro del vermifiltro una vez por semana de acuerdo como se describe en el punto 6.3. Además se midió una vez por semana pH y conductividad eléctrica de la vermicomposta de acuerdo a la norma NMX-FF-109-SCFI-2007.

En el influente y efluente del vermifiltro se midieron pH, temperatura, conductividad, DQO, nitrógeno en forma NH_3 , nitratos, nitritos y toxicidad. El programa de muestro y caracterización de la entrada y salida del vermifiltro se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Programa de seguimiento.

Parámetro	Punto de muestreo	Frecuencia
pH	Influente y efluente	3 veces por semana
Temperatura	Influente y efluente	3 veces por semana
Conductividad	Influente y efluente	3 veces por semana
DQO	Influente y efluente	3 veces por semana
N- NH_3	Influente y efluente	3 veces por semana
N- NO_2^-	Influente y efluente	3 veces por semana
N- NO_3^-	Influente y efluente	3 veces por semana
Toxicidad	Influente y efluente	Cada lote de agua

6.7 Método de análisis

Las técnicas analíticas utilizadas se muestran en la Tabla 6 y están contenidos en los métodos estándar para análisis de agua (APHA, 2005).

Tabla 6. Técnicas utilizadas.

Parámetro	Técnica
pH	Potenciómetro
Temperatura	Electrodo
Conductividad	Electrodo
DQO	Digestor y espectrofotómetro HACH
N-NH ₄	Espectrofotómetro HACH, método 8075
N-NO ₂ ⁻	Espectrofotómetro HACH, método 8153
N-NO ₃ ⁻	Espectrofotómetro HACH, método 8171

La toxicidad se realizará de acuerdo a las metodologías de las referencias de la Tabla 7.

Tabla 7. Métodos utilizados en cada bioensayo.

Nombre del Ensayo	Referencia
Bioluminiscencia <i>Vibrio fischeri</i>	NMX-AA-112-1995-SCFI
Toxicidad aguda <i>Daphnia magna</i>	NMX-AA-087-1995-SCFI
Toxicidad aguda <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Blase <i>et al.</i> 2000

Para evaluar los resultados de toxicidad con *V. fischeri*, *D. maga* y *P. subcapitata*, se empleó la clasificación de toxicidad de acuerdo con Bulich (1982) (Tabla 8).

Tabla 8. Clasificación del nivel de toxicidad según los resultados obtenidos empleando la batería de bioensayos (Bulich, 1982).

CE ₅₀ %	Unidades de toxicidad (UT)	Clasificación
< 25 %	> 4	Muy tóxica
25 – 50 %	2 - 4	Tóxica
50 – 75 %	1.33 – 1.99	Moderadamente tóxica
> 75 %	< 1.33	Levemente tóxica

Los resultados de $CE_{50\%}$ fueron transformados en unidades de toxicidad (Environmet Canada, 1999), de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$UT = \frac{100 \%}{CE_{50\%}} \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde:

UT = Unidades de Toxicidad.

$CE_{50\%}$ = Concentración efectiva a la que produce la disminución del 50% de la población expuesta.

Cuando la $CE_{50\%}$ sea ≥ 100 , se calcula el porcentaje de efecto de la población expuesta que causa la muestra sin dilución con la siguiente ecuación (Chapra y Canale, 2007):

$$X = X_0 + \frac{f_1(X) - f(X_0)}{f(X_1) - f(X_0)} (X_1 - X_0) \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde:

X = Porcentaje de población afectada.

$X_0 = 15$

$X_1 = 50$

$f(X_0)$ = Porcentaje de muestra que afecta al 15 % de la población.

$f(X_1)$ = Porcentaje de muestra que afecta al 50 % de la población.

$f_1(X) = 100$

7. RESULTADOS

7.1 Características del agua residual

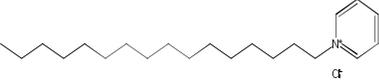
El agua residual de la industria cosmética farmacéutica proviene de la fabricación de los productos que se muestran en la tabla 9.

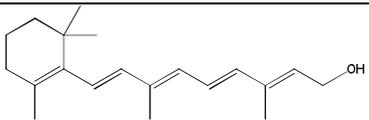
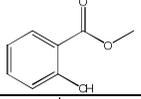
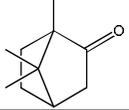
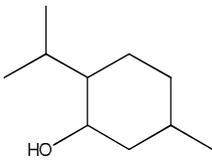
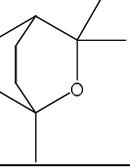
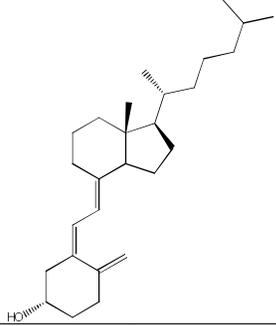
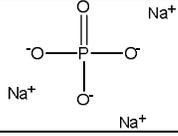
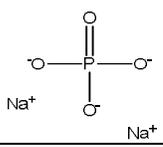
Tabla 9. Lista de los principales productos de consumo.

Producto	Forma Farmacéutica	Principio Activo
Cosméticos	Crema	Hidratine, retinol, fragancia.
Higiénicos	Enjuague	Fluoruro de sodio, cloruro de cetilpiridinio
Medicamentos	Ungüento	Metilsalicilato alcanfor sintético, mentol levógiro, eucaliptol
	Emulsión	Retinol, colecalciferol, fosfato de calcio, aceite de hígado de bacalao.

Algunos de sus ingredientes activos son tóxicos para *D. magna* tales como el fluoruro de sodio donde se reporta una $CE_{50\%}$ de 98 a 340 mg/L (LeBlanc *et al.*, 1980; Dave, 1984 y Fieser *et al.*, 1986). Para el caso del retinol se reportan concentraciones ≥ 100 mg/L, mentol 26.6 mg/L, colecalciferol ≥ 100 mg/L, fosfato de sodio tribásico ≥ 1000 mg/L y fosfato de sodio dibásico 3,580 mg/L (Dowden, 1961). La toxicidad reportada de fluoruro de sodio para *P. subcapitata* es de 772 mg/L y colecalciferol 100 mg/L (Tabla 10)

Tabla 10. Efectos tóxicos de los ingredientes activos utilizados en la industria.

Nombre	Formula química	Estructura química	Efectos tóxicos
Fluoruro de sodio	NaF	Na ⁺ F ⁻	CE_{50} <i>D. magna</i> 98 - 340 mg/L CE_{50} <i>P. subcapitata</i> 772 mg/L
Cloruro de cetilpiridinio	C ₂₁ H ₃₈ ClN		DL ₅₀ dermal, conejo 36 mg/Kg DL ₅₀ oral, conejo 400 mg/Kg DL ₅₀ intraperitoneal, rata 6 mg/Kg DL ₅₀ intravenosa, rata 30 mg/Kg DL ₅₀ oral, rata 200 mg/Kg DL ₅₀ subcutanea, rata 250 mg/Kg DL ₅₀ intraperitoneal ratón 10 mg/Kg DL ₅₀ oral ratón 108 mg/Kg

Nombre	Formula química	Estructura química	Efectos tóxicos
Retinol	$C_{20}H_{30}O$		DL ₅₀ oral, rata 2,000 mg/Kg CE ₅₀ <i>D. magna</i> ≥100 mg/L
Metil salicilato	$C_8H_8O_3$		DL ₅₀ oral, rata 887 mg/Kg DL ₅₀ dermal, conejo > 5,000 mg/Kg
Alcanfor	$C_{10}H_{16}O$		DL ₅₀ oral, ratón 1,310 mg/kg
Mentol	$C_{10}H_{20}O$		DL ₅₀ oral, gato 800 mg/Kg DL ₅₀ oral, ratón 3,400 mg/Kg DL ₅₀ dermal, conejo >5,000 mg/Kg DL ₅₀ intraperitoneal, rata 700 mg/Kg DL ₅₀ intraperitoneal, ratón 6,600 mg/Kg DL ₅₀ intraperitoneal, gato 800 mg/Kg DL ₅₀ subcutaneous, rata 1,000 mg/Kg DL ₅₀ subcutaneous, ratón 5,000 mg/Kg CE ₅₀ <i>D. magna</i> 26.6 mg/L
Eucaliptol	$C_{10}H_{18}O$		DL ₅₀ oral, rata 2,480 mg/Kg
Colecalciferol	$C_{27}H_{44}O$		DL ₅₀ oral, rata 35 - 47 mg/Kg DL ₅₀ oral, rata 42 mg/Kg CL ₅₀ inhalación, rata 4h 130 - 380 ppm DL ₅₀ dermal, rata 61 mg/Kg CE ₅₀ <i>D. magna</i> ≥100 mg/L CE ₅₀ <i>P. subcapitata</i> es 100 mg/L.
Fosfato de sodio tribásico	Na_3PO_4		CE ₅₀ <i>D. magna</i> ≥1000 mg/L
Fosfato de sodio dibásico	Na_2HPO_4		CE ₅₀ <i>D. magna</i> 3580 mg/L

El estudio, se inició con la caracterización fisicoquímica del agua residual que se descarga del proceso de producción de la industria cosmético-farmacéutica, con el propósito de conocer la concentración de los parámetros y variación en el tiempo como se muestra en la Tabla 11.

Tabla 11. Características del agua residual industrial.

Parámetro	Promedio	D. E.	Máximo	Mínimo	Muestras analizadas
pH	6.25	0.44	6.99	5.30	150
Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)	429	168	911	292	150
DQO (mg/L)	8072	3690	16693	2237	60
N-NH ₃ (mg/L)	72	37	184	27	60
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	22	26	100	0	60
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	2	4	23	0	60

Las variaciones físico-químicas del agua residual se relacionan con la producción de la industria en el momento de su colecta. El pH es ligeramente ácido con un promedio de 6.25 ± 0.44 . La materia orgánica medida como DQO varía entre 16,693 y 2,237 mg/L, con un promedio de 8072 ± 3690 mg/L. La descarga contiene alta concentración de N-NH₄ con promedio de 72 ± 37 mg/L. En algunas ocasiones se presentan concentraciones de nitratos y nitritos.

7.2 Características de los materiales empacados

A partir de las pruebas de vaciado se determinó la porosidad de cada capa de material empacado en la columna, en la Tabla 12 se muestran el volumen con el que se empacó el reactor y los resultados de porosidad.

Tabla 12. Características del material empacado.

Material	Altura - Volumen	Porosidad
Vermicomposta con lombrices	20 cm – 47.5 L	50 %
Vermicomposta sin lombrices	20 cm – 47.5 L	64 %
Tezontle	34 cm – 80.7 L	70 %
Grava	28.5 cm – 23.7 L	60 %

En la pruebas de sobrevivencia de la lombriz no se obtuvieron datos negativos, en las canastas donde se puso en contacto las lombrices con el agua residual industrial hubo 100 % de supervivencia. Esto indica que es viable usar la vermicomposta para este tipo de agua residual. Dentro de la vermicomposta hubo una densidad promedio de 945 lombrices/m².

7.2.1 Curvas de adsorción

Un parámetro importante de los materiales en los sistemas de biofiltración es la capacidad de adsorción de los materiales, por lo cual, en la Figura 10 se presentan las curvas de adsorción del N-NH₄, utilizando una solución sintética de cloruro de amonio con una concentración de N-NH₄ de 50 mg/L. Los resultados muestran que después de 120 minutos hay una estabilización en donde el N-NH₄ ya no es adsorbido. Por cada 100 g de vermicomposta se adsorben 24 mg de N-NH₄.

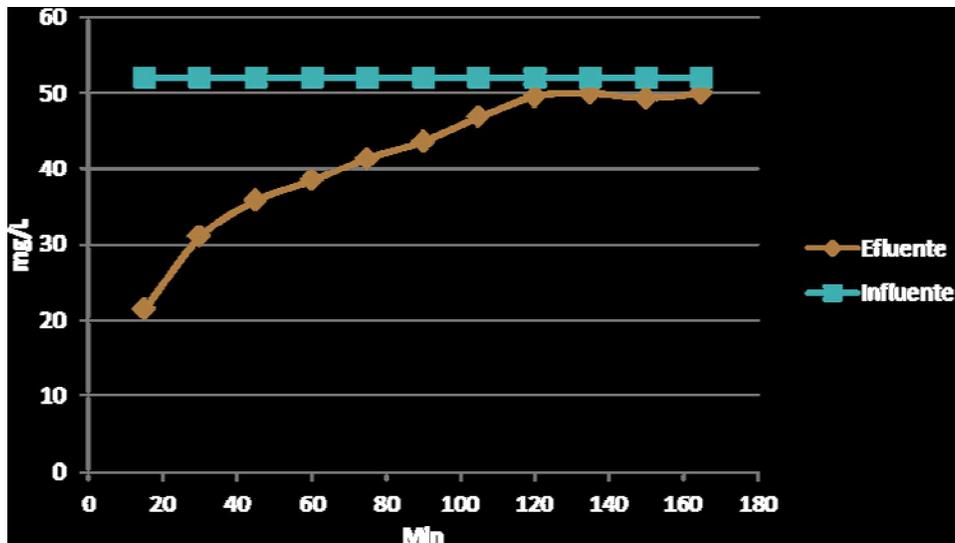


Figura 10. Curva de adsorción del N-NH₄ en la vermicomposta.

En la Figura 11 se observa que la adsorción en la vermicomposta de la materia orgánica presente en el agua residual en estudio. Se observa en la figura 11 que después de los 100 minutos de operación la adsorción es nula,

por lo que se concluye que por cada 100 g de vermicomposta se adsorbe ≤ 2 g de DQO/L., lo que equivale a una adsorción de materia orgánica en la vermicomposta de 2%.

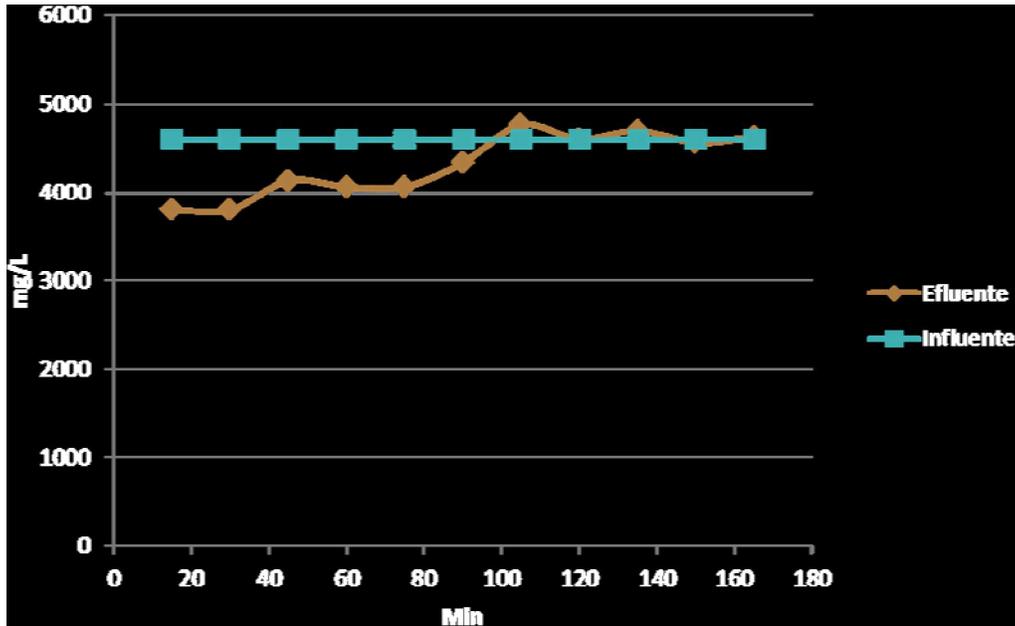


Figura 11. Curva de adsorción de la materia orgánica medida en DQO en la vermicomposta.

De acuerdo a los resultados de adsorción obtenidos y considerando que el vermifiltro contenía 13.5 kg de vermicomposta se puede estimar que durante la fase experimental se adsorbieron 3.24 g de N-NH₄ y 270 g de DQO.

Durante la fase experimental se alimentó un total de 69 g de N-NH₄ y 7385 g de DQO, de los cuales como se observa en el párrafo anterior solo 3.24 g de N-NH₄ y 270 g de DQO se removieron por adsorción. Las cantidades remanentes se removieron o transformaron por la interacción de otros mecanismos asociados con la actividad de las lombrices y el consorcio microbio que se desarrolla en la vermicomposta.

7.2.2 Comportamiento de la lombriz en el vermifiltro

El crecimiento y reproducción de las lombrices se afectaron por el incremento en la carga orgánica. En la Figura 12, se muestra el comportamiento de la lombriz en sus diferentes etapas de vida. Se observa que después del día 15 el número de cocones empieza a decaer considerablemente hasta un valor cercano a cero, debido al aumento de la carga orgánica administrada en ese periodo la cual varió entre 400 y 500 DQO/m³d. Las lombrices en estado juvenil se mantuvieron en un promedio de 1000 ±740 organismos/m², mientras que los organismos en un estado adulto, después del día 35, disminuyeron llegando a cero en el día 48, a consecuencia de la alta carga orgánica. En el día 67 se reemplazó la cama de la vermicomposta por una nueva para mantener la población de organismos la cual contenía un promedio de 15000 cocones/m², 1500 juveniles/m² y 300 adultos/m².

La carga orgánica que se presentó en el día 15 de 400-500 g de DQO/m³d produjo una toxicidad aguda provocando el descenso de la población. Con una carga orgánica ≤ 200 g de DQO/m³d después del día 35 se llega a pensar que existe una toxicidad crónica debido a la disminución principalmente de cocones.

El descenso del número de cocones indica un efecto tóxico a nivel reproductivo que está impidiendo la generación de nuevos cocones, como reporta Ávila *et al.* (2007), donde comprueba que hay una correlación de la disminución de cocones debido al suelo contaminado por cobre y arsénico.

De acuerdo a los resultados del comportamiento de los organismos dentro del vermifiltro, se puede asumir que es necesario tener el control del número de organismos para prevenir un descenso drástico durante el funcionamiento. Sin embargo con este estudio no se observa una menor eficiencia por la pérdida de cocones.

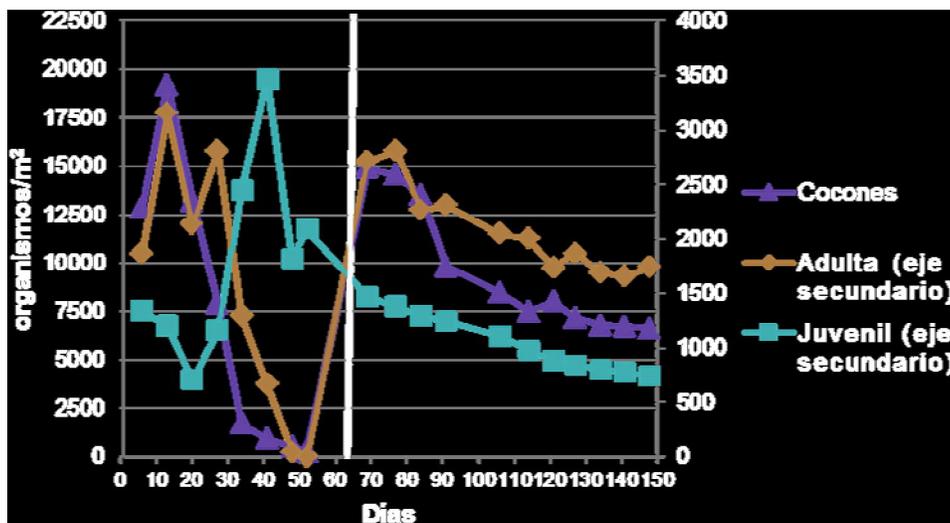


Figura 12. Comportamiento de las lombrices en el vermifiltro. La línea vertical en el día 67 indica el reemplazo de vermicomposta

Con cargas menores de 200 mg/L, la población disminuyó paulatinamente siguiendo una cinética de primer orden con velocidades de decaimiento que se muestran en la Figura 13. Los cocones son los que tiene mayor velocidad de decaimiento, posteriormente las lombrices juveniles y los que decaen mas lentamente son las lombrices adultas.

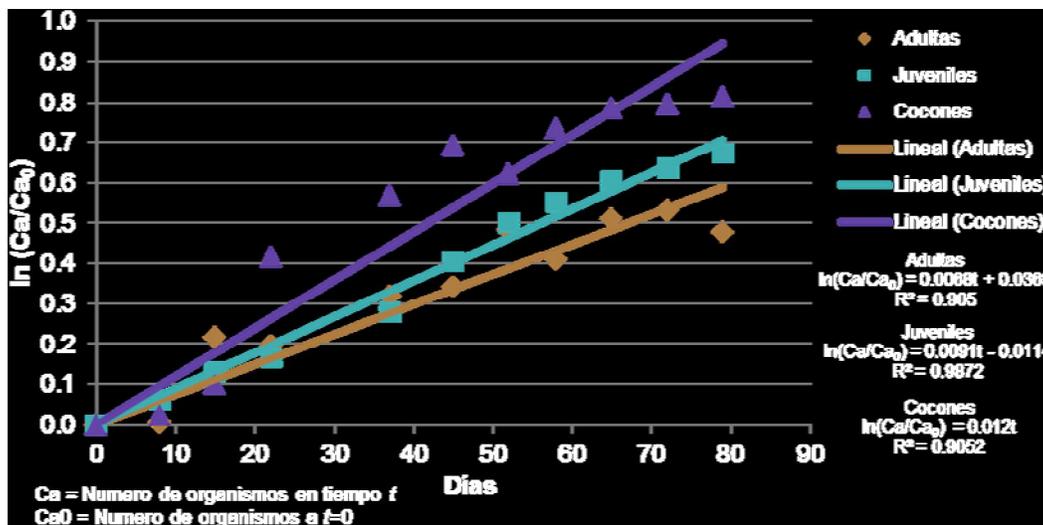


Figura 13. Velocidades de decaimiento de cocones, lombrices adultas y juveniles con cargas ≤ 200 g DQO/m³d.

La tabla 13 muestra las constantes de decaimiento y el tiempo de vida media para cada organismo. Se observa que el tiempo de vida media de los cocones es de 167 días, el de las lombrices juveniles de 220 días y el de las lombrices adultas de 294 días.

Si se quiere utilizar un vermifiltro para el tratamiento del agua residual de la industria cosmético-farmacéutica en estudio la población de lombrices juveniles y adultas se debe renovar dos veces al año para tener la misma población activa de organismos para el tratamiento.

Tabla 13. Constante de decaimiento y tiempo de vida media de lombrices adultas y juveniles y cocones.

Estadio de vida	Kd(d ⁻¹)	t ^{1/2} (d)
Cocones	0.012	167
Juveniles	0.0091	220
Adultos	0.0068	294

Kd = Constante de decaimiento (d⁻¹).

t^{1/2} = tiempo de vida media (d).

7.2.2 Comportamiento del pH en el vermifiltro

En la Figura 14, se muestra el comportamiento del pH en el vermifiltro en donde fluctuó de 6.56 a 7.28, obteniendo un promedio de 6.95, valor muy cercano a la neutralidad.

La lombriz en su hábitat requiere de un pH adecuado para mejorar sus actividades que van de 6.8 a 7.8 (Garg *et al.* 2006), en la Norma Mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007, estima un valor mínimo de 5.5 y máximo de 8.5.

El cambio del pH durante el proceso permite llevar a cabo la descomposición microbiana y relacionarlo con la mineralización del nitrógeno y fósforo en nitrito/nitrato y ortofosfato (Sutarh, 2009).

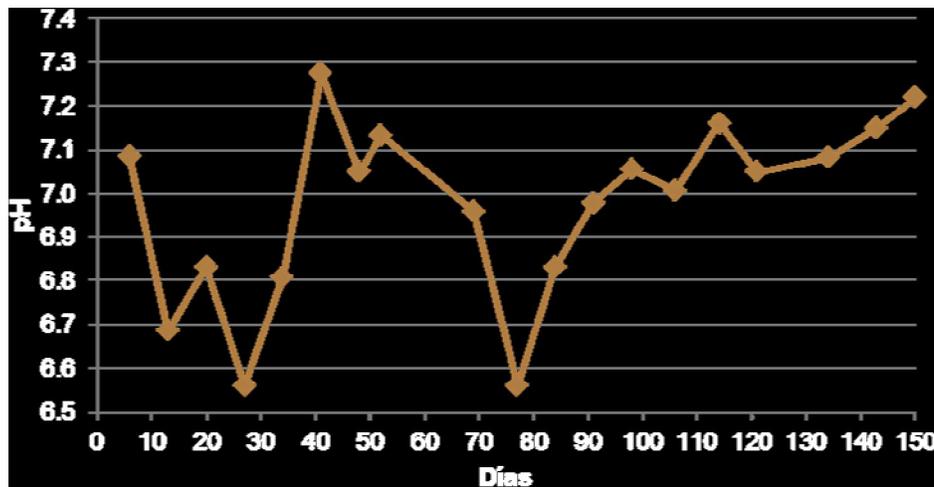


Figura 14. Comportamiento de pH en la vermicomposta

7.2.3 Comportamiento de la conductividad en el vermifiltro

En la Figura 15 se muestran los resultados de la conductividad que presentó la vermicomposta. Empezó con 503 $\mu\text{S}/\text{cm}$, en el día 14 aumentó hasta 638 $\mu\text{S}/\text{cm}$, luego descendió gradualmente hasta llegar a 70 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en el día 52. Después del día 67 se ve el aumento de la conductividad a 340 $\mu\text{S}/\text{cm}$ debido a la nueva vermicomposta que fue agregada. Del día 67 al 114 los valores de conductividad fueron disminuyendo hasta 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$, de los días 120 a 150 los valores de conductividad se observaron más constantes variando de 64 a 73 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Estos datos se encuentran dentro de los valores establecidos en la Norma Mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007, donde se especifica que la conductividad de la vermicomposta debe ser $<4000 \mu\text{S}/\text{cm}$.

La conductividad es un indicador de la estabilidad del producto formado y permite llevar a cabo la función de la lombriz y de los microorganismos presentes en los tratamientos, mismos que lograron la estabilización de la vermicomposta. Capistran *et al.*, (2001) mencionan que la conductividad eléctrica es un parámetro que tiene un papel importante en el desempeño de la lombriz y de los microorganismo para la elaboración de vermicomposta.

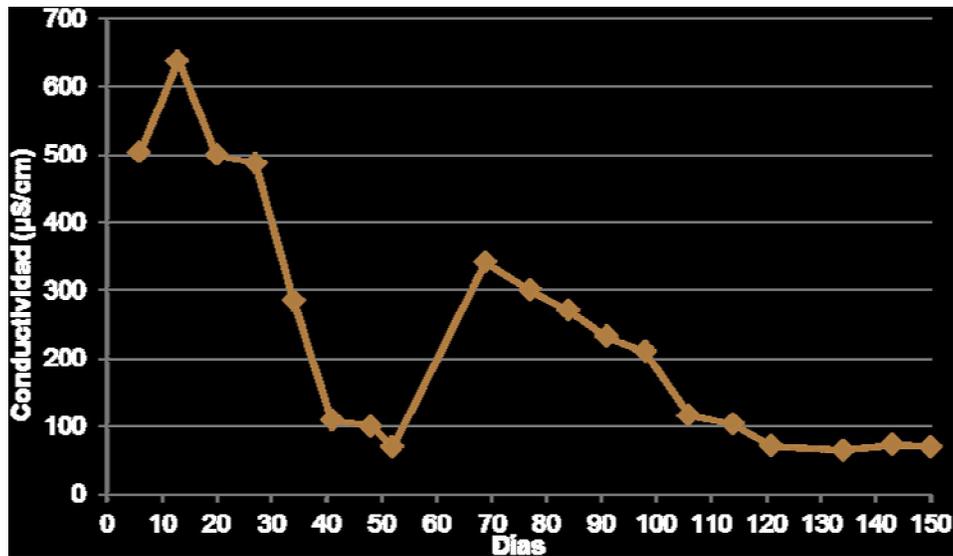


Figura 15. Comportamiento de la conductividad en la vermicomposta

7.3 Características físico-químicas del influente y efluente del vermifiltro

7.3.1 Comportamiento del pH

En la Figura 16 se muestra el comportamiento del pH donde se observa que los valores del influente varían de 5.3 a 6.99, esto se debe a la variación del efluente de la industria. Los valores de pH del efluente 1, corresponden al vermifiltro empacado con grava, tezontle, viruta, tierra y vermicomposta, fluctuaron entre 6.4 y 7.7, valores muy similares al efluente 2 que corresponde el vermifiltro empacado solo con grava y vermicomposta. Estos valores concuerdan con los obtenidos por Sinha *et. al.*, (2008) y Li *et. al.*, (2009) donde el pH de las aguas residuales tratadas es neutralizado al pasar por el vermifiltro.

En el sistema digestivo de las lombrices se encuentran glándulas calcíferas, conocidas como glándulas de Morren. Estos órganos especiales segregan carbonato de calcio y contribuyen a regular el pH, así como la inhibición de ciertos hongos y bacterias que se encuentran en los sustratos orgánicos que consume (Lawrence y London, 1997).

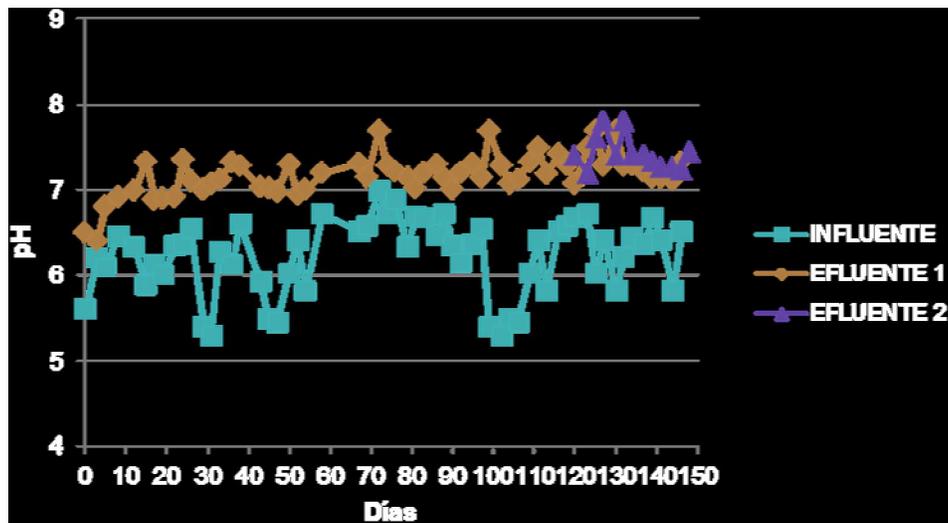


Figura 16. Comportamiento de pH

7.3.2 Comportamiento de la temperatura

En la Figura 17 se observa el comportamiento de la temperatura en el influente, efluente 1 y efluente 2, los valores se encuentran en un intervalo entre 22.5 y 28.5 °C. No hubo variaciones de temperatura de los efluentes con respecto al influente, siendo ésta la temperatura ambiente. De acuerdo a Sinha *et. al.*, (2008) el rango óptimo para el buen funcionamiento de las lombrices es de 20 a 25 °C, Li *et. al.*, (2009) reportan que dentro del vermifiltro se mantuvo la temperatura templada de hasta 35 °C.

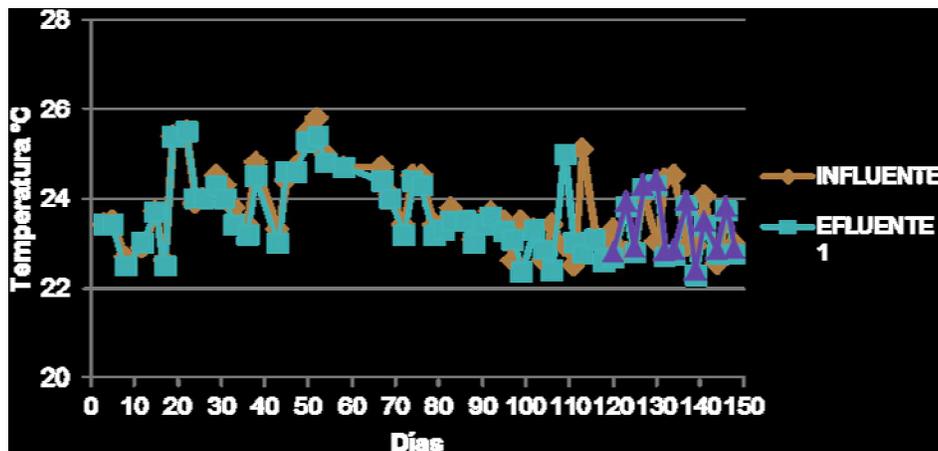


Figura 17. Comportamiento de temperatura (°C)

7.3.3 Comportamiento de la conductividad

En la Figura 18 se observan los valores de conductividad que presentaron el influente, efluente 1 y efluente 2. En los primeros 45 días la conductividad del influente fluctuó entre 292 y 389 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Del día 50 a 70 la conductividad se incrementó llegando a valores de 911 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para después disminuir a valores que variaron entre 325 y 412 $\mu\text{S}/\text{cm}$, esta variación se presentó debido al lote de agua colectado en la industria.

En el efluente 1 la conductividad al inicio fue de 1800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ disminuyendo hasta 600 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en el día 30. El incremento de la conductividad al inicio del experimento se debe al lavado del material empacado que arrastra iones. Después del día 30 la conductividad varió entre 600 y 800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en los dos efluentes.

Los valores de conductividad en el influente del agua residual cosmético-farmacéutica no afecta en el desarrollo del cultivo de las lombrices dentro del vermifiltro, ya que se presentaron valores ≤ 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y el límite establecido en la Norma Mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007, es de <4000 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

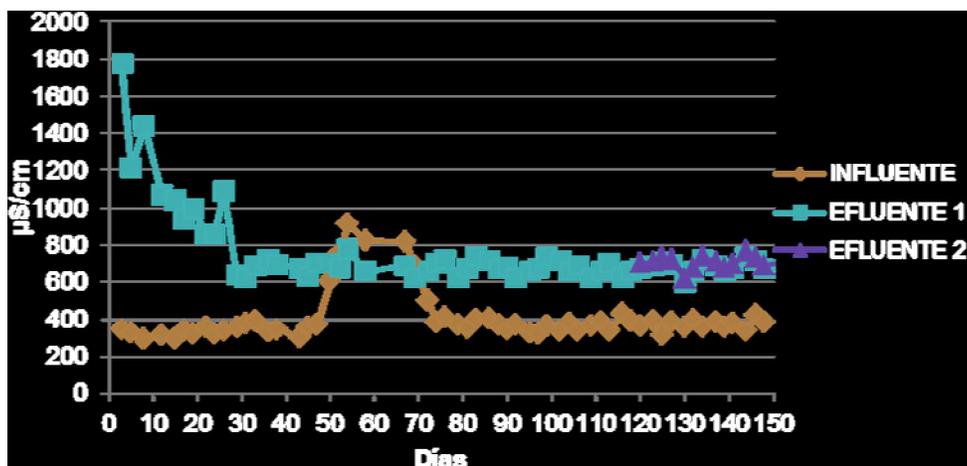


Figura 18. Comportamiento de la conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

7.3.4 Carga orgánica

En la Figura 19 se observa la carga orgánica alimentada al reactor la cual varió en un intervalo de 60 a 500 g de DQO/m³d y está relacionada con la producción de la industria.

En los primeros días del experimento se trabajó con cargas <200 g de DQO/m³d, posteriormente, de los días 15 al 30 este varió entre 400-500 g de DQO/m³d, después del día 35 al 150 la carga fue ≤200 g de DQO/m³d.

Se puede observar que la mayor parte del experimento los vermifiltros operaron con cargas ≤200 g de DQO/m³d.

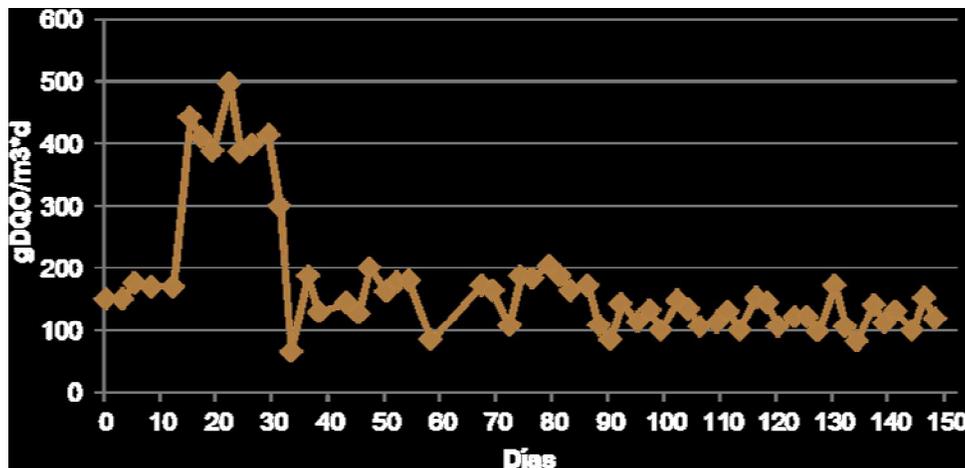


Figura 19. Variación de la carga orgánicas volumétrica durante el experimento

7.3.5 Comportamiento de la DQO

En la Figura 20 se muestran los resultados de DQO. En el influente los primeros 15 días varió en un intervalo de 5035 a 5881 mg/L de DQO, en el periodo del día 16 al 30 llegó a valores de 16693 mg/L de DQO, disminuyendo a 2236 mg/L de DQO en el día 33, después de este día se mantuvo entre 4000 y 10000 mg/L. En el efluente 1 los valores de DQO variaron de 80 a 830 mg/L, en el efluente 2 de 30 a 272 mg/L. La remoción de DQO fue de 84 a 98 % en el

efluente 1 y de 96 al 99 % en efluente 2. Estos resultados son similares a los obtenidos en vermifiltros por Xing *et al.*, (2005) que removió de 81-86%, Sinha *et al.*, (2008) de 80 a 90% y Li *et. al.* (2009) reporta una remoción de hasta 90%.

Durante el experimento se observó que el material de empaque del tezontle no tuvo efecto en la remoción de DQO y de acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de adsorción, se le puede atribuir la remoción de la materia orgánica a la actividad de los diferentes organismos que están presentes en la vermicomposta (lombrices y microorganismos).

Estos resultados también están de acuerdo con los obtenidos por Bouché y Soto (2004), comprobándose que la vermifiltración es una forma eficaz para la eliminación de materia orgánica formándose al final compuestos simples y compuestos húmicos (Cataldi *et al.*, 2005), debido a las reacciones biológicas, físicas y químicas que ocurren por la actividad de las lombrices y sus efectos sinérgicos con los microorganismos.

Varios autores han tratado efluentes de la industria farmacéutica con tratamientos biológicos como filtros anaerobios donde Jennet y Dennis (1975) reportan 94-98% de DQO removido y en 1992 Hamdy *et al.* reportó 82-88%.

El-Gohary *et al.* (1995) removió hasta 96 % de DQO con lodos activados acoplado con un filtro biológico. Gülmez *et al.* (1998) indica que se puede tratar el agua residual de la industria farmacéutica por medio de un reactor anaerobio de flujo ascendente con una remoción de 71 % de DQO, en cambio Zhou *et al.* (2006) removió más del 97% con un reactor anaerobio con baffles acoplado a un reactor de biopelícula suspendida.

En este trabajo no existe evidencia sobre la saturación del medio filtrante, debido a las características de la vermicomposta, la cual tiene la capacidad de absorber diferentes compuestos además de retener agua y nutrientes;

posteriormente la actividad de la lombriz descompone y estabiliza los residuos orgánicos (Atiyeh *et al.*, 2001).

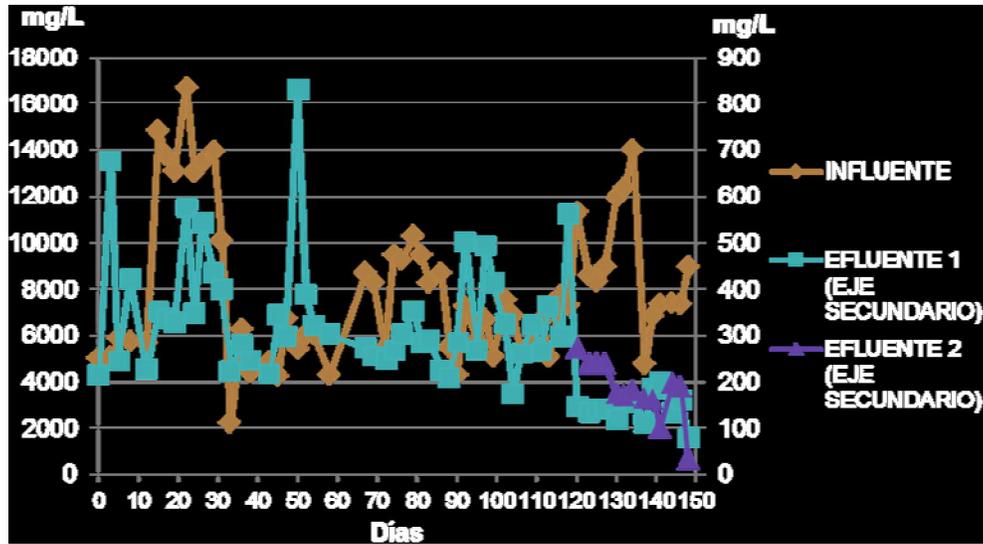


Figura 20. Comportamiento de la DQO.

7.3.6 Comportamiento de nitrógeno amoniacal (N-NH₄)

La variación de las concentraciones del N-NH₄ durante el período de operación del vermifiltro se presenta en la Figura 21. La concentración de N-NH₄ en el influente los primeros 10 días varió entre 30 y 40 mg/L. Después del día 15 se incrementó hasta alcanzar una concentración de 184 mg/L en el día 24, después del día 30 los valores de N-NH₄ oscilaron entre 27 y 100 mg/L. En el efluente 1, los valores en los primeros 10 días oscilaron entre 2.5 y 5 mg/L, después se incrementó hasta 17 mg/L en el día 29 debido a la alta carga de N-NH₄ en el influente el día 24, después del día 30 variaron entre 1 y 9 mg/L. En el efluente 2, el N-NH₄ estuvo entre 0.4 y 3 mg/L. La remoción en el primer vermifiltro fue de 84-98% y en el segundo vermifiltro de 94-99%.

Estos resultados indican que el nitrógeno está siendo asimilado y transformado por los microorganismos y lombrices que viven en mutualismo como lo indica Valle-Molinares *et al.* 2007. Algunos de estos microorganismos son bacterias

vinculadas a funciones muy específicas, algunas descomponen las celulosas, pectinas y proteínas, otras como las nitrosomonas oxidan el amonio (NH_4) a nitrito (NO_2^-), las nitrobacterias oxidan los nitritos a nitratos (NO_3^-) como lo reporta Kolmans y Vásquez (1999).

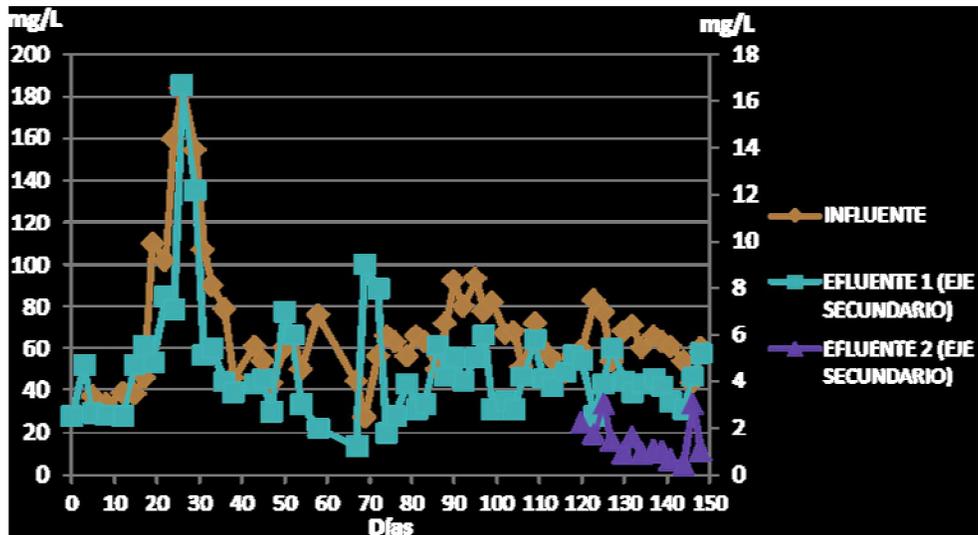


Figura 21. Comportamiento del nitrógeno amoniacal (N-NH_4).

7.3.7 Comportamiento de nitritos (N-NO_2^-)

En la Figura 22 se observa que el influente no presentaba nitritos hasta el día 30, con 49 mg/L y aumenta hasta 100 mg/L en el día 43, del día 52 al 58 hubo ausencia de nitritos, después estuvo variando desde 18-130 mg/L, estas variaciones pueden estar relacionadas con el proceso de producción de la industria donde hay productos nitrogenados como es el caso del cloruro de cetilpiridinio. En el efluente 1 la concentración varió entre 6 y 42 mg/L de nitritos y entre 1-50 mg/L en el efluente 2.

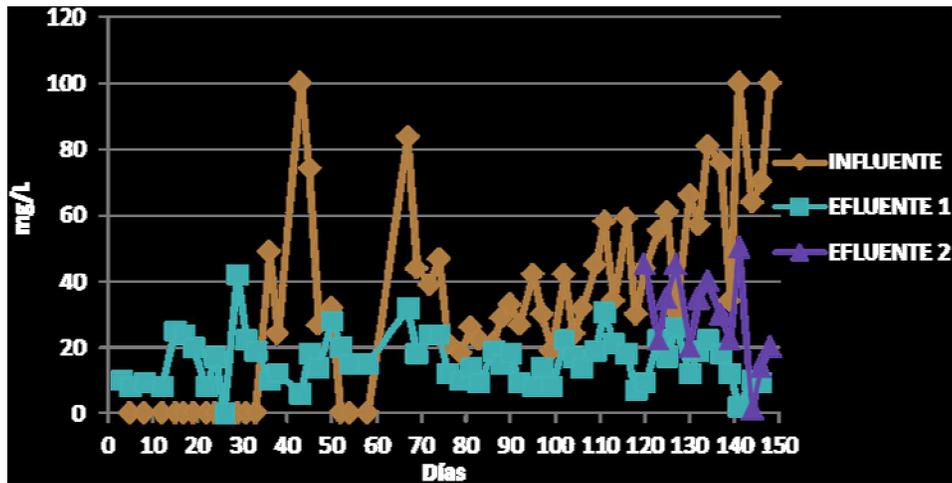


Figura 22. Comportamiento de nitritos (N-NO_2^-).

7.3.8 Comportamiento de nitratos (N-NO_3^-)

En la Figura 21 se observa que en el influente hay ausencia de nitratos hasta el día 36 donde se presentan con un valor de 22.6 mg/L. Del día 47 al 58 no se presentaron concentraciones de nitratos, posteriormente fluctuaron entre 2-40 mg/L.

La concentración de nitratos en el efluente 1 varió entre 0 y 27 mg/L y entre 0-38 mg/L en el efluente 2.

Se ha demostrado que las lombrices favorecen la nitrificación, que resulta en la conversión rápida del nitrógeno amoniacal en nitratos, aumentando la mineralización de nitrógeno debido a la movilidad de las lombrices provocando la aireación del sustrato. En este sentido, Atiyeh *et al.*, (2000) y Domínguez (2004) registraron un aumento en la concentración de NO_3^- en un experimento de vermicompostaje con estiércol de vaca y purín de cerdo, respectivamente.

La vermicomposta se caracteriza por estar conformada por materiales finamente divididos, con gran porosidad y capacidad de retención de humedad.

Además presentan una gran área superficial, la cual le permite adsorber y retener fuertemente los elementos nutritivos, los cuales se encuentran en formas que son fácilmente asimilables para las plantas tales como los nitratos, el fósforo intercambiable, potasio, calcio y magnesio solubles. (Atiyeh *et al.*, 2000).

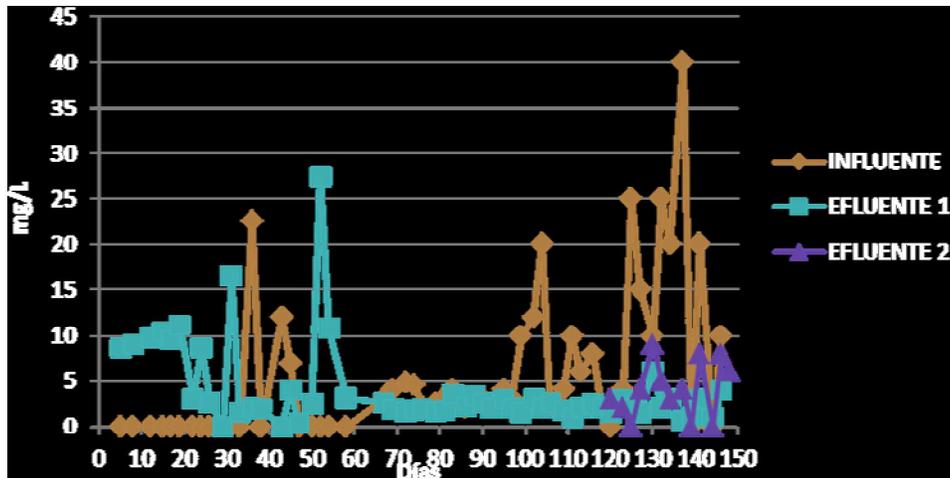


Figura 23. Comportamiento de nitratos (N-NO₃⁻).

7.3.9 Toxicidad

En la Tabla 14 se presentan los resultados de toxicidad obtenidos con el organismo *V. fischeri*, representado por la disminución de la capacidad lumínica de la bacteria contra un testigo negativo. Se observa que la CE_{50%} en el influente varía desde 7.89 hasta 45.57 debido a las diferentes características del agua residual industrial, la toxicidad presentada en el influente se clasifica como tóxica y muy tóxica como se observa en la Tabla 8.

En el efluente persiste una toxicidad <1 UT, por lo que el agua tratada se clasifica como ligeramente tóxica, y persiste un efecto tóxico para una población menor al 50%. Este efecto se representa como toxicidad mayor al 100%, especificando el porcentaje de la población afectada. Por ejemplo en el día 1 se tiene una toxicidad > 100% donde el 27.36% de la población es

afectada, en el día 15 se tiene un 39.34%, y así sucesivamente como se muestra en la tabla 14.

Tabla 14. Resultados de toxicidad con *Vibrio fischeri*

Día de operación	<i>V. fischeri</i>			
	Influyente		Efluente	
	CE _{50%}	UT	CE _{50%}	UT
1	12.34	8.10	Toxicidad >100% (CE _{27.36%})	
15	7.89	12.67	Toxicidad >100% (CE _{39.34%})	
30	33.12	3.02	Toxicidad >100% (CE _{12.27%})	
50	29.83	3.35	Toxicidad >100% (CE _{18.52%})	
60	45.57	2.19	TND	
85	36.10	2.77	Toxicidad >100% (CE _{17.99%})	
106	29.22	3.42	Toxicidad >100% (CE _{24.30%})	
120	31.89	3.13	Toxicidad >100% (CE _{31.47%})	
134	11.47	8.72	Toxicidad >100% (CE _{20.61%})	
148	18.46	5.42	Toxicidad >100% (CE _{28.44%})	

TND: Toxicidad no detectada

En la figura 24 se observa la toxicidad del influente. Se muestra que en el día 15 la toxicidad aumenta con respecto a la determinada en el día 1, debido al aumento de carga orgánica de 180 a 450 g de DQO/m³d; posteriormente se observa que en el día 60 con una carga orgánica de 90 g de DQO/m³d la toxicidad fue 2.19 UT, es decir, el incremento en la carga orgánica está relacionado con el nivel de toxicidad.

En el efluente, persiste un efecto tóxico el cual no afecta al 50% de la población expuesta, a excepción del día 60 en que no se presentó toxicidad. Considerando que el efluente presenta siempre una concentración de toxicidad

menor a 1 UT, se puede decir que el tratamiento de vermifiltración puede entregar un agua ligeramente tóxica,

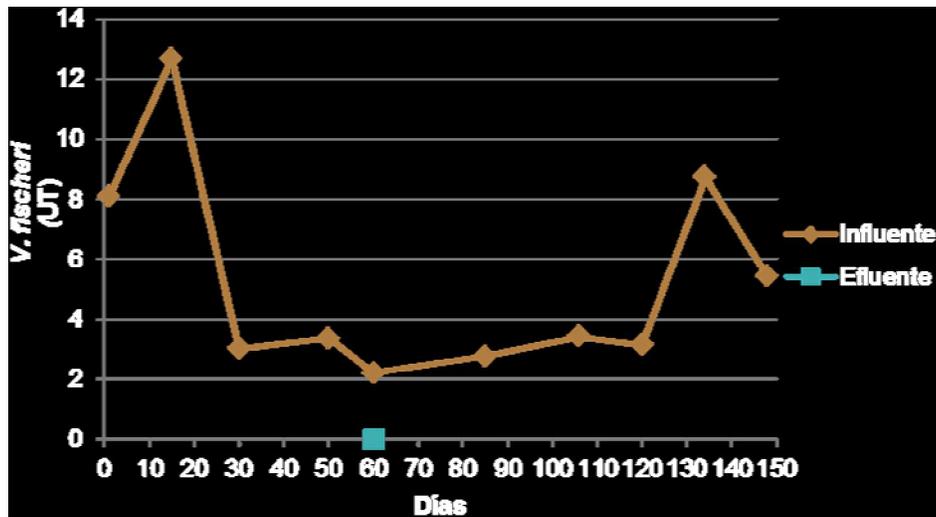


Figura 24. Comportamiento de la toxicidad con *V. fischeri*

En la Tabla 15 se presenta el efecto tóxico agudo sobre *D. magna* a 48 h de exposición. Se observa que el influente tiene un efecto tóxico sobre este organismo. Si se compara con la carga orgánica del influente se observa que en el día 15 con una carga de 450 g de DQO/m³d la toxicidad fue 5.7 UT que clasifica al influente como muy tóxico. A partir del día 30, cuando las cargas orgánicas variaron entre 100 y 200 g de DQO/m³d, la toxicidad medida con este indicador varió entre 1.4 y 1.9 UT que lo clasifica como moderadamente tóxico.

Tabla 15. Resultados de toxicidad con *Daphnia magna*.

Día de operación	<i>D. magna</i>			
	Influente		Efluente	
	CE _{50%}	UT	CE _{50%}	UT
1	28.13	3.55	TND	
15	17.51	5.71	TND	
30	54.22	1.84	TND	
50	50.84	1.97	TND	
60	55.33	1.81	TND	
85	61.21	1.63	TND	

Día de operación	<i>D. magna</i>			
	Influente		Efluente	
	CE _{50%}	UT	CE _{50%}	UT
106	59.84	1.67	TND	
120	62.35	1.60	TND	
134	71.21	1.40	TND	
148	67.11	1.49	TND	

TND: Toxicidad no detectada

En la Figura 25 se observa el aumento de la toxicidad en el influente en el día 15 debido a la carga orgánica de 450 g de DQO/m³d. También se observa que el efluente no presenta toxicidad con este indicador.

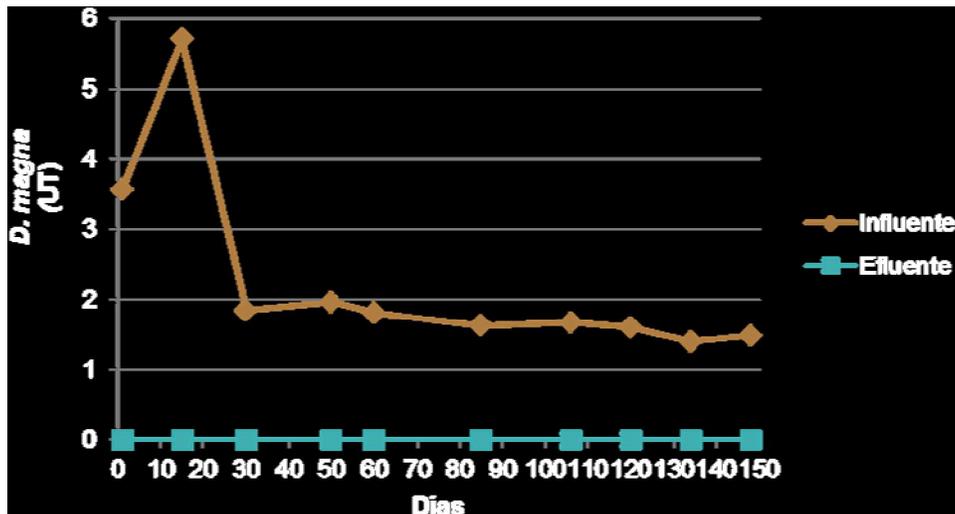


Figura 25. Comportamiento de la toxicidad con *D. magna*.

Con *P.subcapitata*, se observan fluctuaciones en el influente de 82.50 y 467.29 UT, clasificado como muy tóxico y en el efluente disminuyó entre 2.02 y 6.87 UT, esto significa que el efecto toxico disminuyó comparado con el influente, sin embargo, persiste un efecto considerable en el día 1 y 15 siendo estos muy tóxicos y los restantes se clasifican como tóxicos (Tabla 16).

Tabla 16. Resultados de toxicidad con *P. subcapitata*.

Día de operación	<i>P. subcapitata</i>			
	Influente		Efluente	
	CE _{50%}	UT	CE _{50%}	UT
1	0.37	270.27	14.56	6.87
15	0.21	467.29	18.82	5.31
30	0.73	136.43	38.15	2.62
50	0.52	191.20	28.14	3.55
60	1.21	82.50	49.53	2.02
85	0.94	106.85	36.32	2.75
106	0.28	353.36	24.61	4.06
120	0.70	143.27	31.12	3.21
134	0.35	282.49	42.32	2.36
148	0.45	222.72	38.71	2.58

En la figura 26 se observa que en el influente, de igual manera se observa un aumento de toxicidad en el día 15 hasta 467.29 UT, debido a la carga orgánica de 450 g de DQO/m³d. Con cargas menores de 200 g de DQO/m³d la toxicidad vario entre 82.50 y 222.72 UT. El agua al pasar por el tratamiento del vermifiltro salió con una toxicidad menor que fluctuó entre 2.02 y 6.87 UT.

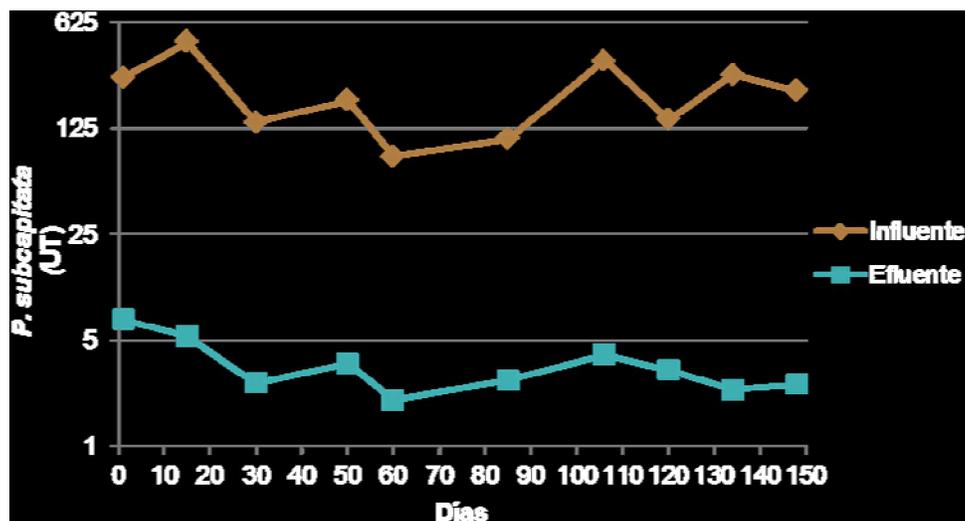


Figura 26. Comportamiento de la toxicidad con *P. subcapitata*.

Cada especie biológica posee una fisiología particular que la hace más o menos vulnerable a los cambios que se producen en el medio en el que vive.

Por esta razón, no todos los organismos reaccionan de la misma manera ante un agente tóxico o un conjunto de ellos. En el caso particular de este estudio *Daphnia magna* resultó ser la especie menos sensible, mostrando respuestas determinantes solo en el influente.

Estudios comparativos que incluyen bioensayos con *D. magna* y *V. fischeri* han revelado aspectos interesantes en relación a la sensibilidad relativa de los mismos. Vasseur *et al.*, (1984) observaron buena concordancia entre estas dos pruebas en la evaluación de efluentes industriales complejos con carga tóxica predominante orgánica, extendiendo lo verificado de un modo general a una mayor sensibilidad *V. fischeri* en relación al bioensayo con *D. magna*. Estos resultados coinciden con las conclusiones de Quereshi *et al.*, (1982), quienes observaron una mayor sensibilidad de *V. fischeri* a compuestos orgánicos que con el bioensayo de *D. magna*, y también concuerdan con los resultados obtenidos en este estudio.

Por otro lado, *V. fischeri* es menos sensible que *D. magna* a sustancias inorgánicas. Respecto a ello, Miller *et al.*, (1985) verificaron una mayor sensibilidad de *P. subcapitata* y *D. magna* a metales pesados y a determinados pesticidas que con *V. fischeri*. Ambos bioensayos han sido internacionalmente validados y el protocolo se encuentra estandarizado (ISO 6341:1996 e ISO11348-1:2007).

Hoy en día, son escasos los trabajos que evalúen los efectos negativos de las mezclas de fármacos y productos para el cuidado de la salud sobre el ambiente.

Aunque existen innumerables reportes sobre la toxicidad aguda de los principios activos, estos datos no son suficientes para determinar el impacto sobre el ambiente de las mezclas que contienen las aguas residuales de la industria cosmético-farmacéutica en este trabajo

Cleuvers (2003 y 2004) evalúa el potencial efecto en el ambiente de una mezcla de productos anti-inflamatorios con otros medicamentos, utilizando para ello ensayos con *Daphnia magna* y algas, para el caso del ácido clofibrico reportó una $CE_{50\%}$ de 11.7 mg/L con *D. magna* y 10 mg/L con *Desmodesmus subspicatus*, diclofenaco una $CE_{50\%}$ de 50.2 mg/L con *D. magna* y 51.6 mg/L con *D. subspicatus*.

Por lo tanto es necesario realizar más estudios sobre el efecto que tienen las aguas residuales en el ambiente, debido a la mezcla compleja de contaminantes que representan y que por medios físico-químicos no son posibles medir debido a los posibles fenómenos de sinergia y antagonismo.

En este estudio el agua residual presenta una alta remoción de toxicidad aguda como lo indican los resultados obtenidos con *V. fischeri* y *D. magna*, y persiste un efecto crónico que se mide con *P. subcapitata*.

8. CONCLUSIONES

Se demostró que el sistema de vermifiltración puede utilizarse en el tratamiento de los efluentes de la industria cosmético-farmacéutica para la remoción de materia orgánica. Se removió la materia orgánica (DQO) entre 84-98%.

El incremento de carga orgánica volumétrica disminuyó la eficiencia del tratamiento para cargas mayores a 200 g de DQO/m³d. El crecimiento de las lombrices también se afectó por el incremento en la carga además de la inhibición de la reproducción.

La mayor remoción de materia orgánica se da por la presencia de organismos en la vermicomposta y no por adsorción.

El mejor desempeño del vermifiltro se obtiene trabajando con cargas menores a 200 g de DQO/m³d e inoculando el sistema dos veces al año para mantener una remoción de materia orgánica mayor al 90% y un efluente con toxicidad aguda < 1UT.

El tratamiento con vermifiltración no permite la reducción total de la toxicidad crónica detectada con *Pseudokirchneriella subcapitata*. El efluente se sigue clasificando como muy tóxico.

Se presentaron remociones de N-NH₄ hasta 98% operando el vermifiltro empacado con tezontle y vermicomposta; y hasta 99% con solo vermicomposta, obteniéndose en el efluente concentraciones de N-NH₄ menores de 17 mg/L para el primer caso y menores a 4 mg/L para el segundo.

Los valores de pH ácido en el influente, tienden a la neutralidad después de la vermifiltración.

Se eliminó la toxicidad aguda detectada con *D. magna* y disminuyó en *V. fischeri*, sin embargo, el efecto crónico remanente detectado con *P. subcapitata* sigue siendo elevada, superior a 2 UT.

El empleo de una batería de bioensayos de toxicidad en aguas residuales reales son importantes para tomar medidas de planeación, identificación, monitoreo y control en la introducción de contaminantes tóxicos en el ambiente.

El uso del tezontle en el vermifiltro no es necesario debido a que no afectó el tratamiento teniendo eficiencias de remoción de DQO similares entre tratamiento con capa de tezontle y sin ella.

9. RECOMENDACIONES

Se recomienda seguir estudiando la ruta de degradación metabólica de la materia orgánica dentro de la vermifiltro a fin de entender de qué manera se lleva a cabo el proceso de degradación.

Estudiar el efecto de aplicar cargas orgánicas volumétricas mayores a las probadas para poder determinar la capacidad de las lombrices para degradar la materia orgánica dentro del vermifiltro para que la población de *E. foetida* sea autorregulada en el tiempo sin que esta se vea afectada por la toxicidad crónica.

Estudiar más sobre la vida útil de la vermicomposta dentro del vermifiltro, para definir el período de maduración del humus y su retiro del sistema.

Realizar análisis físico-químicos y de toxicidad al humus para definir su uso como fertilizante en las áreas verdes.

Realizar estudios de toxicidad aguda y crónica a los efluentes tratados para garantizar que no afectan a la vida acuática.

REFERENCIAS

- Altaf M.S. y. Ali T.A. (2010). Waste water treatment using sequential batch reactor and development of microbiological method for the analysis of relative toxicity. *Pakistan Journal of Nutrition*. 9: 574-576.
- APHA (2005). *Standards methods for the examination of water and wastewater*. 21a ed. American Public Health Association. Washington, EUA. 1368 p.
- Atiyeh R. M., Domínguez J., Subler S. y Edwards C.A. (2000). Biochemical changes in cow manure processed by earthworms (*Eisenia andrei*) and their effects on plant growth. *Pedobiologia*. 44: 809-724.
- Atiyeh R.M., Edwards C.A., Subler S. y Metzger J.D. (2001). Pig manure vermicompost as a component of a horticultural bedding plant medium: effects on physicochemical properties and plants growth. *Bioresource Technology* 78: 11-20.
- Ávila G., Gaete H., Morales M y Neaman A. (2007). Reproducción de *Eisenia foetida* en suelos agrícolas de áreas mineras contaminadas por cobre y arsénico. *Pesq. agropec. bras., Brasília*, v.42, n.3, p.435-441,
- Bajsa O., Nair J., Mathew K. y Ho G. (2003). Vermiculture as a tool for domestic wastewater management. *Water Science and Technology*. 48(11–12), 125–132.
- Basaure P.B. (1993). *Manual de lombricultura*. Chile.
- Bernández T. (2005). *La industria cosmética en México, oportunidades los mercados externos*. Bancomext
- Biotech Support Service. (1999). Window to the expanding world of biotechnology. Biorreactor systems for industrial waste-water treatment (aerobic methods).
- Blaise C., Forget G. y Trottier S. (2000). Toxicity screening of aqueous samples using a cost effective 72-h exposure *Selenastrum capricornutum* assay. *Environmental Toxicology*, Vol. 15, issue 4, pag 352-359. 2000

-
- Bouché M.B. y Soto P., (2004). An industrial use of soil animals for environment: the treatment of organically polluted water by lumbrifiltration. In: *Proceedings of the 14th International Colloquium on Soil Zoology and Ecology*. University of Rouen, Mont Saint Aignan, France, August 30–September 3, pp. 1–13.
 - Boyd G., Zhang S. y Grimm D. (2005). Naproxen removal from water by chlorination and biofilm processes. *Water Research* 39, 668 – 676.
 - Buitrón G., Melgoza R. M. y Jiménez L. (2003). Pharmaceutical wastewater treatment using an anaerobic/aerobic sequencing batch biofilter. *Journal of Environmental Science and Health. Part A Toxic/Hazardous substances and Environmental Engineering*, 38 (10), 2077-2088.
 - Bulich A. A. (1982). A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples. *Process Biochemistry* 17:45-47
 - Bulich, A. 1988. Analytical application of the MICROTOX system. *Analytical Techniques and Residuals Management En: Water Pollution Control Federation Specialty Conference*, Abril 19-20, Atlanta.
 - Butterworth F. (1995) *Introduction to Biomonitors and Biomarkers as Indicators of Environmental Change*. Ed. Plenum Press. EUA. p. 313.
 - Cairns J. Jr. y Dickson K.L. (1971). A simple method for the biological assessment of the effects of waste discharges on aquatic bottom-dwelling organisms. *Journal of the Water Pollution Control Federation*. 43:755-772.
 - Capistrán F., Aranda E. y Romero J.C., (2001). Manual de reciclaje, compostaje y Lombricompostaje. *Instituto de ecología*. Jalapa, Ver. 150 págs.
 - Carballo J. L., Hernandez-Ida Z. L., Perez P. y Garcia-Gravalos M. D. (2002). A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products; *BMC Biotechnology* 472 2–17.
 - Chang C.-Y., Chang J.-S., Vigneswaran S., y Kandasamy J. (2008). Pharmaceutical wastewater treatment by membrane bioreactor process - a case study in southern Taiwan. *Desalination*, 234 (1-3), pp. 393-401.
 - Chapra S. C. y Canale R. (2007). *Métodos numéricos para ingenieros*. 5° Ed. Mc. Graw Hill. 350-351

-
- Cleuvers M., (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters* 142 (3), 185-194.
 - Cleuvers M., (2004). Mixture Toxicity of the Anti-Inflammatory Drugs Diclofenac, Ibuprofen, Naproxen, and Acetylsalicylic Acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 59 (3), 309-315.
 - Dave G. (1984). Effects of Fluoride on Growth, Reproduction and Survival in *Daphnia magna*. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology and Endocrinology*. 78(2): 425-431
 - Delgado M. M., Porcel M.A., Miralles R., Beltrán E., Beringola L. y Martín J.V., (2004). Efecto de la vermicultura en la descomposición de residuos orgánicos. *Revista Internacional de Contaminación. Ambiental*. 20: 83-86.
 - Domínguez J. (2004). State of the art and new perspectives in vermicomposting research. Pp. 401-425. En: C. A. Edwards (ed). *Earthworm ecology*. CRC Press. Boca Raton.
 - Dowden B.F. (1961). Cumulative Toxicities of Some Inorganic Salts to *Daphnia magna* as Determined by Median Tolerance Limits, *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 23:77-85.
 - Eaton R. C., y Farley R. D. (1974). Spawning cycle and egg production of zebrafish, *Brachydanio rerio*, in the laboratory. *Copeia* 1974:195-204.
 - Eissa L., Salibian A, Ferrari L., Porta P. y Borgnia M. (2003). Evaluación toxicológica no invasiva del Cadmio: modificaciones de biomarcadores conductuales en *Cyprinus Carpio*. *Biología Acuática*, 20: 221.
 - El-Gohary F.A., Abou-Elala S.I. y Aly H.I. (1995). Evaluation of biological technologies for wastewater treatment in the pharmaceutical industry. *Water Science and Technology*, Vol: 32, No: 11, pp: 13-20.
 - Environmental Protection Agency Test Method: 797.1440. Fish acute toxicity test: static, semi-static and flow through.
 - Environmental Protection Agency. (1995). Development Document for Proposed Effluent Limitations Guidelines and Standards for the Pharmaceutical Manufacturing Point Source Category. EPA-821-R-95-019. Washington, DC: US EPA, Office of Water.

-
- Fernícola G. (1992a). Evaluación de Riesgo. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud. Metepec, México. p. 23-30.
 - Fernícola G. (1992b). Evaluación Biológica de la Exposición Humana en: Toxicología Prospectiva y Seguridad Química: Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas (PISSQ/PNUMA-OIT-OMS). Reyes, F. y A. Waldemar. Ed. ECO. México. p. 23-34
 - Fernícola G. (1992c) Nociones Básicas de Toxicología. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud. Metepec, México. 113 pp.
 - Fieser A. H., Sykora J.L., Kostalos M.S., Wu Y.C. y Weyel D.W. (1986). Effect of Fluorides on Survival and Reproduction of *Daphnia magna*. *Journal of the Water Pollution Control Federation*. 58(1): 82-86
 - Figueroa G. y Pinzón N. S. (2000). Evaluación de la calidad del agua utilizando macroinvertebrados bénticos en la zona de Atlixco, Puebla. Tesis profesional para obtener el título de licenciatura en Biología, especialidad en ecología. Universidad de las Américas, Puebla. Escuela de Ciencias, departamento de química y biología. México. 122 pp.
 - Fishman M.C., Stainier D.Y., Breitbart R.E. y Westerfield M. (1997). Zebrafish: Genetic and embryological methods in a transparent vertebrate embryo. *Meth Cell Biol* 52:67–82.
 - García-Pérez Rafael E., (2006). La lombriz de tierra como una biotecnología en agricultura. Universidad Autónoma de Chapingo, México. 177 págs.
 - Garg, P., Gupta, A. y Satya, S., (2006). Vermicomposting of different types of waste using: A comparative study. *Bioresourse. Technology*. 3: 391-395.
 - Garzón-Zúñiga, M.A., Lessard P. y Buelna G. (2003). Determination of the hydraulic residence time in a trickling biofilter filled with organic matter. *Environmental Technology* 24 (5) pp. 605 – 614.
 - Gennaro A. (1990). Remington's Pharmaceutical Sciences, 18 edición. Easton, Pensilvania: Mack Publishing Company.

-
- Gülmez, B., Ozturk, I., Alp, K. and Arıkan, O. A. (1998). Common Anaerobic Treatability of Pharmaceutical and Yeast Industry Wastewater. *Water Science and Technology*, Vol: 38, No: 4-5, pp: 37-44.
 - Hamdy, A.A., Joshi, S.G. y Gupta S.K. (1992). Effect of organic load and reactor height on the performance of anaerobic mesophilic and thermophilic fixed film reactors in the treatment of pharmaceutical wastewater. *Environmental Science and Technology*, 13, 1161–1168.
 - Hardman J., Gilman A. y Limbird L. (1996). Goodman and Gilman's The Pharmacologic Basis of Therapeutics. Nueva York: McGraw Hill Co.
 - Harremoës, P. Biofilm Systems III. (1996). Selected Proceedings of the IAWQ 3. International Specialised Conference on Biofilm Systems, Copenhagen, Denmark.
 - Hughes R.J., Nair J. y Ho G. (2008) The toxicity of ammonia/ammonium to the vermifiltration wastewater treatment process. *Water Science and Technology*. 58(6):1215-20.
 - Hughes, R. J., Nair, J., Mathew, K. y Ho, G. (2007). Toxicity of domestic wastewater pH to key species within an innovative decentralised vermifiltration system. *Water Science and Technology*. 55(7), 211–218.
 - Inanc, B., Calli, B., Alp, K., Ciner, F., Mertoglu, B. y Ozturk, I. (2002). Toxicity assessment on combined biological treatment of fermentation and chemical synthesis based pharmaceutical industry effluents. *Water Science and Technology*, Vol: 45, No:12, pp:135-142.
 - Isidori M., Lavorgna M., Nardelli A., Parrella A., Pretera L. y Rubino M. (2005). Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. *Science of the Total Environment* 348, 93 – 101
 - ISO 11348-2 2007. International Standard. Water quality – Determination of the inhibitory effect of watersamples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) – Part: method using liquid-dried bacteria.
 - ISO 6341. 1996. International Standard. Water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Status (Cladocera, Crustacea) – Acute toxicity test.

-
- Jennett, J.C. y Dennis, N.D. Jr. (1975). Anaerobic filter treatment of pharmaceutical waste. *Journal of Water Pollution Control and Federation*, 47, 104-121.
 - Jones, O.A.H., N. Voulvoulis y J.N. Lester. (2001). Human Pharmaceuticals in the Environment: a review. *Environmental Technology*. 22(12): 1383-1394.
 - Joss A., Zabczynski S., Gobel A., Hoffmann B., Löffler D. y McArdell C. (2006). Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme *Water Research*. 40:1686-1696.
 - Kaiser K. y Palabrica V. (1991). Photobacterium phosphoreum Toxicity Data Index. *Water Pollution Research Journal of Canada*. 26 (3): 361-431.
 - Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., Thurman E.M., Zaugg S.D., Barber L.B., y Buxton H.T. (2002) Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance. *Environmental Science and Technology* 36:1202–1211.
 - Kosjek T., Heath E. y Kompare B., (2007). Removal of pharmaceuticals residues in a pilot wastewater treatment plant. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. Vol:387, No: 4, pp: 1379-1387.
 - Kroschwitz J. (1992). *Encyclopedia of Chemical Technology*. Nueva York: Wiley Interscience.
 - Kummerer, K. y Al-Ahmad, A., 1997. Biodegradability of the anti-tumour agents 5-fluorouracil, cytarabine and gemcitabine: impact of the chemical structure, and synergistic toxicity with hospital effluents. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*. 25, 166-172.
 - Laale H.W. (1977) The Biology and Use of the Zebrafish (*Brachydanio rerio*) in Fisheries Research. A Literature Review. *Journal of Fish Biology*. 10, 121-173.
 - Lawrence F. y London Jr. (1997). The role of earthworms in healthy soils. *Venaura farm- producer of Naturally Grown vegetables*. 21: 28: 44-0400.

-
- LeBlanc G. A. (1980). Acute Toxicity of Priority Pollutants to Water Flea (*Daphnia magna*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 24(5): 684-691
 - Li Y.S., Xiao Y.Q., Qiu J.P., Dai Y.Q. y Robin P. (2009) Continuous village sewage treatment by vermifiltration and activated sludge process. *Water Science and Technology* 60 (11), 3001-3010.
 - Li, Y. S., Robin, P., Cluzeau, D., Bouché, M., Qiu, J. P., Laplanche, A., Hassouna, M., Morand P., Dappelo C. y Callarec C. (2008). Vermifiltration as a stage in reuse of swine wastewater: Monitoring methodology on an experimental farm. *Ecological Engineering*, 32(4), 301-309.
 - Linares-Hernández I., Martínez-Miranda V., Barrera-Díaz C., Pavón-Romero S., Bernal-Martínez L. y Lugo-Lugo V. (2010). Oxidación de materia orgánica persistente en aguas residuales industriales mediante tratamientos electroquímicos. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, Vol. 2(1), 21-36.
 - Liu F., Song Y., Zeng P., Peng J., Xiao S., Duan L., Qiu G., Ye J. y Song C. (2011). Adsorption Characteristics of Cu²⁺ onto Zeolite from Pharmaceutical Industrial Wastewater. *Chinese Research Academy of Environmental Sciences*. Pp 1933-1936.
 - Martínez S., Fernández J., Segura F. y Sánchez A. (2003). Pre-oxidation of an extremely polluted industrial wastewater by the Fenton's reagent. *Journal of Hazardous Materials*. Vol 101(3), 315-322.
 - Miller W. E., Peterson S. A., Greene J. C. y Callahan C. A. (1985). Comparative toxicology of laboratory organisms for assessing hazardous water sites. *Journal Environmental Quality* 14:569-574.
 - Molina C.B., Zazo J.A., Casas J.A. y Rodriguez J.J., (2010), CWPO of 4-CP and industrial wastewater with Al-Fe pillared clays, *Water Science and Technology*, 61, 2161-2168.
 - Moreno G. (2003). Toxicología ambiental evaluación de riesgo para la salud humana, Mc Graw Hill, España. pp 370.
 - Norma Mexicana. NMX-AA-087-1995-SCFI. Análisis de agua. Evaluación de toxicidad aguda con *Daphnia magna* Status (Crustacea-Cladocero). Método de Prueba.

-
- Norma Mexicana. NMX-AA-112-1995-SCFI. Análisis de Agua y Sedimentos. Evaluación de Toxicidad Aguda con *Photobacterium phosphoreum*. Método de Prueba.
 - Norma Mexicana. NMX-FF-109-SCFI-2007 humus de lombriz (lombricomposta) -especificaciones y métodos de prueba vermicompost (worm casting) - specifications and test methods. México.
 - Onesios K., Yu J. y Bouwer E. (2009). Biodegradation and removal of pharmaceuticals and personal care products in treatment systems: a review. *Biodegradation*. Vol. 20(4), 441-466.
 - Parker S.P., Corbitt. R. A. (1992). Encyclopedia of Environmental Science and Engineering, 3rd. edition. Mc. Graw Hill. U.S.A. pp 528.
 - Persoone, G. (1992). Ecotoxicology and water quality standards. *En: River Water Quality – Ecological Assessment and Control*; Newman, P., Piavaux, A., Sweeting, R., Eds.; 751 pp
 - Quereshi, A. A., Flood K. W., Thompson S. R., Janhurst S. M., Inniss C. S. y Rokosh D. A. (1982). Comparison of a luminiscent bacterial test with other bioassays for determining toxicity of pure compounds and complex effluents. ASTM special technical publication 766:179-195.
 - Radjenovic J., Petrovic M. y Barceló D., (2007) Analysis and removal of pharmaceuticals in wastewater using a membrane bioreactor. *Analytical and bioanalytical chemistry*. Vol: 387, pp: 1365-1377.
 - Ramírez A., Mejía J. y Múnera C. (2007). Variación nictemeral de la calidad del agua en las lagunas de estabilización del municipio de La Ceja, Antioquia. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, junio, 22-40.
 - Ramos, C. (2005). Consideraciones sobre los residuos en la industria farmacéutica. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, Número Especial.
 - Ramos, C., Pellón A., Villafranca D., Espinosa M., Escobedo R. y Álvarez Y. (2005). Tecnología de tratamiento a las aguas residuales de un laboratorio farmacéutico de producción de semisólidos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, Vol. 36.

-
- Reynaldi S., Duquesne S., Jung K. y Liess M. (2006). Linking feeding activity and maturation of *Daphnia magna* following short-term exposure to fenvalerate. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25: 1831-1835.
 - Reynolds J. (1989). Martindale's: The Extra Pharmacopoeias, 29 edición. Londres: Pharmaceutical Press.
 - Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., y Nigam, P. (2001). Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology*, 77(3), 247-255.
 - Rodríguez M. J., Garza G. Y., Aguilera C.A., Martínez A. S. Y. y Sosa S. G. J. (2005). Influence of Nitrate and Sulfate on the Anaerobic Treatment of Pharmaceutical Wastewater. *Engineering in Life Sciences*. Vol:5, Issue 6, pp: 568–573.
 - Rogalla, F. y Bourbigot M. M. (1990). New Developments in complete nitrogen removal with biological aerated filters. *Water Science technology*. 22 (172) 273-280 pp
 - Rosen, M., Welander T., Lofqvist A. y Holmgren J. (1998). Development of a new process for treatment of a pharmaceutical wastewater. *Water Science and Technology*, Vol: 37, No: 9, pp: 251-258.
 - Sauri M.R., Nájera H.A., Ramírez J.G. y Mejía G.M., (2002). Aplicación del composteo como método de tratamiento de los residuos de frutas producidas en zonas de la alta generación. *Revista Académica de Ingeniería*. 6:13-20.
 - Schuldt, M., Rumi, A., Guarrera, L. y de Belaustegui, H.P. 1998. Programación de muestreos de *Eisenia fetida* (Annelida, Lumbricidae). Adecuación a diferentes alternativas de manejo. *Revista argentina de producción animal*. 18(1): 53-66.
 - Siegrist, H., Ternes, T.A. y Joss, A., (2004). Scrutinizing Pharmaceuticals and Personal Care Products *En: Wastewater Treatment Journal of Environmental Science and Technology*, 38 392A-399A Retrieved November 2, 2009.
 - Sinha R. K., Bharambe G. y Chowdhary U. (2008). Sewage treatment by vermi-filtration with synchronous treatment of sludge by earthworms : a low-

-
- cost sustainable technology over conventional systems with potential for decentralization; *The Environmentalist*, UK ; Vol. 28: pp. 409-420.
- Spilker B. (1994). *Multinational Pharmaceutical Companies: Principles and Practices*, 2ª edición. Nueva York: Raven Press.
 - Suthar, S. (2009). Vermistabilization of municipal sewage sludge amended with sugarcane trash using epigeic *Eisenia Fetida*. *Journal of Hazardous Materials*. 163: 199-206.
 - Suthar, S., (2009). Vermicomposting of vegetable-market solid waste using *Eisenia fetida*: Impact of bulking material on earthworm growth and decomposition rate. *Ecological Engineering*. 35: 914-920.
 - Swarbick J. y Boylan J. (1996). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Nueva York: Marcel Dekker, Inc.
 - Tauxe Wursch, A., (2005). *Wastewaters: occurrence of pharmaceutical substances and genotoxicity*. Tesis para optar al Grado de Doctor en Ingeniería Química. Lausanne, 263 p.
 - Ternes TA, Joss A (2006) *Human pharmaceuticals, hormones and fragrances*. IWA Publishing, New York.
 - Theodore L. y McGuinn Y. (1992). *Pollution Prevention*. Nueva York: Van Nostrand Reinhold.
 - Torres L. G., Jaimes J., López S., Ramírez E. y Mijaylova P. (1994) Factibilidad técnica del proceso de coagulación-floculación para el tratamiento de efluentes de la industria químico-farmacéutica. *En: Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, 24, Buenos Aires, 30 oct.-4 nov.
 - Tuominen L., Kairesalo T. y Hartikainen H. (1994). Comparison of methods for inhibiting bacterial activity in sediment. *Applied and Environmental Microbiology*. 60:3454–3457.
 - Valdivia S., González B. y González M. (1997). Filtración combinada en lechos de Tezontle para el tratamiento de aguas residuales. Instituto de Ingeniería de la UNAM. Resúmenes Memorias Técnicas XI Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales.

-
- Valle-Molinares R. Borges S. y Rios-Velazquez C. (2007). Characterization of possible symbionts in *Onychochaeta borincana* (Annelida:Glossoscolecidae). *European Journal of Soil Biology*. 43:14-18
 - Vasseur, P., Ferard J., Rast C., y Larbaight G. (1984). Luminiscent marine bacteria in ecotoxicity screening tests of complex effluents *En: Liu L. y Dutka B. J. (Eds.). Toxicity screening procedures using bacterial systems*. New York, Marcel Dekker. pp. 23-35.
 - Vieno N., Tuhkanen T. y Kronberg L. (2005). Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from sewage treatment plant and in the recipient water. *Environmental Science Technology* 39, 8220 – 8226.
 - Xing M., Li X. y Yang J. (2010). Treatment performance of small-scale vermifilter for domestic wastewater and its relationship to earthworm growth, reproduction, and enzymatic activity. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 9(44), pp. 7513-7520
 - Xing M., Yang J. y Lu Z. (2005). Microorganism-earthworm integrated biological treatment process—a sewage treatment option for rural settlements. ICID 21st European Regional Conference, 15–19 May 2005, Frankfurt.
 - Yu J, Bouwer E., y Coelhan M. (2006). Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent. *Agricultural Water Management*. 86:72-80.
 - Zhao D., Zhu C., Sun S., Yu H., Zhang L., Pan W., Zhang X., Yu H., Gu J. y Cheng S. (2007). Toxicity of pharmaceutical wastewater on male reproductive system of *Mus musculus*. *Toxicology and Industrial Health*. 23(1): 47-54.
 - Zhou P., Su C.Y., Li B.W. y Yi Q. (2006). Treatment of high-strength pharmaceutical wastewater and removal of antibiotics in anaerobic and aerobic biological treatment processes. *Journal of Environmental Engineering* 132:129–136.

ANEXO I

Biología de la lombriz

La lombriz de tierra pertenece al Phylum Annelida. Pertenece a la clase *Oligochaeta* que abarca más de 3 100 especies encontradas en agua dulce y en hábitats terrestres húmedos. La mayoría de las especies de lombrices de importancia edáfica pertenecen a la familia *Lumbricidae* que abarca géneros como *Eisenia* (García-Pérez, 2006).

El hábitat natural de la lombriz de tierra son los suelos donde se encuentra la hojarasca, troncos caídos y casi cualquier material vegetal en estado de descomposición. Su fuente primaria de alimento son los microorganismos que procesan esa materia orgánica; su presencia, abundancia y actividad es influida por la distribución de este sustrato en el suelo. La lombriz ha recibido diferentes y complejas clasificaciones según el contenido de materia orgánica y profundidad a la que se encuentran, se resumen en tres grupos: Epigeas, Anécicas y Endógenas (García-Pérez, 2006).

El grupo Epigea que pertenece la lombriz utilizada para este trabajo (*E. fetida*) se ubican en el mantillo superficial, que miden de 2.0 a 5.0 cm de longitud, requieren de altos contenidos de materia orgánica y pueden presentar diferentes tonos de pigmentación que las protege de los predadores y de las radiaciones ultravioleta. Son muy activas y tienen una alta tasa reproductiva para amortiguar la depredación, pero son poco tolerantes a los cambios de temperatura y humedad; en este grupo se ubican las especies empleadas comercialmente en los procesos de degradación de materia orgánica y de producción de vermicomposta (García-Pérez, 2006). Pueden sobrevivir a temperaturas bajo cero e incluso en suelos congelados. Restringen notablemente su actividad a los 30 °C, aunque prefieren valores a menos de 25 °C con un óptimo entre 10 y 15 °C dependiendo de la especie. La radiación ultravioleta de la luz puede matarlas, por lo que en el día normalmente están dentro de sus madrigueras o bajo el mantillo del suelo (Edwards et al., 1996). El promedio del tamaño de la lombriz se establece entre los 10-20 cm, con un

diámetro de 2-6 cm. Es de un color que abarca del rosa pálido al blanco. La coloración roja obedece a la hemoglobina, como en *Eisenia* que tiene dos vasos sanguíneos que corren a todo lo largo de su cuerpo y son visibles a través de las células epiteliales (García-Pérez, 2006).

Al tacto, su cuerpo se siente húmedo y con espinas llamadas cerdas o quetas, el número y ubicación de estas quetas varían según la especie. Tienen una apariencia anillada debido a la serie de segmentos que la constituyen estos segmentos se encuentran separados por unos surcos llamados septos que son membranas que se continúan internamente (García-Pérez, 2006). Cuando la lombriz alcanza la etapa reproductiva se hace aparente su clitelo, si se requiere apareamiento; dos lombrices se ponen en contacto ventral en sentido opuesto, las papilas pubertales de cada animal secretan mucosidades para facilitar la adherencia de ambos clitelos, una vez establecido el contacto, cada lombriz envía a la otra espermatozoides que se almacenan en un par de poros llamados receptáculos seminales, posteriormente los animales se separan. Pocos días después el clitelo secreta un capullo membranoso con albumen en su interior que tiene función nutritiva. Este capullo se empieza a deslizar lentamente hacia la parte posterior de la lombriz, al pasar por los polos femeninos recibe los óvulos y continúa su recorrido poniéndose en contacto con el receptáculo seminal donde recibe los espermatozoides llevándose a cabo la fecundación y formación de los embriones. Aunque su estructura sexual es hermafrodita en la mayoría de los casos se requiere de apareamiento (García-Pérez, 2006).

En condiciones favorables cada lombriz puede producir dos capullos por semana, mientras que cada capullo puede dar lugar desde dos hasta 20 individuos, mismos que después de tres meses serán lombrices sexualmente maduras, a partir de entonces pueden aparearse con un intervalo de siete días y en forma regular tarda reproduciéndose hasta 60 semanas, así una lombriz puede reproducir en un año 1500 crías. Resulta imprescindible y de vital importancia aprovechar la capacidad de la lombriz Roja Californiana *Eisenia*

fetida, ya que son consumidores voraces de desechos orgánicos, generando humus que se convierten en un fertilizante y además contribuyen eficientemente a la preservación del ambiente, el interés de la actividad microbiana radica en el potencial que tiene para reciclar nutrientes y con ello mejorar la nutrición de las plantas, finalmente con el humus se puede disminuir o sustituir la aplicación de fertilizantes industriales. A continuación se muestra un esquema general del procesamiento de la materia orgánica por la lombriz de tierra.

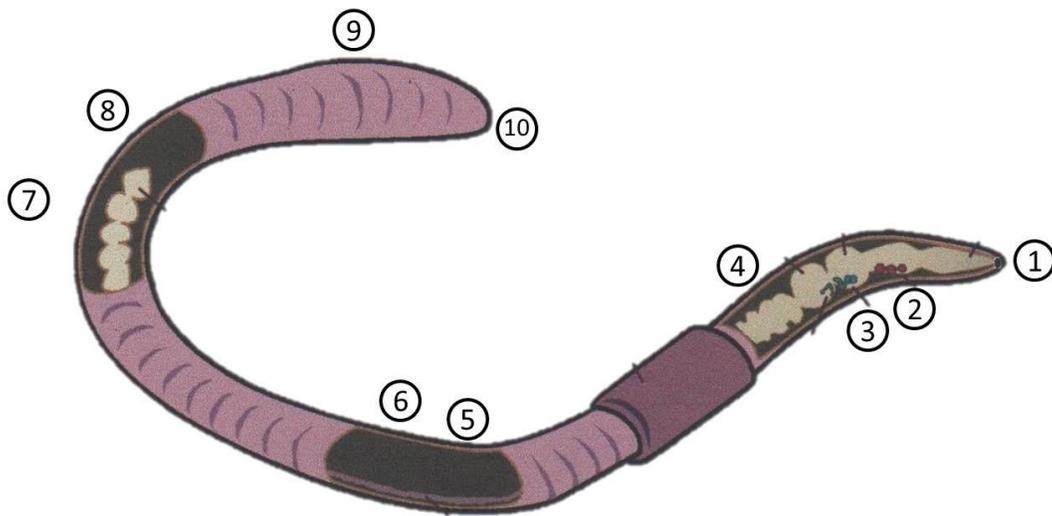


Figura I.1. (1) succiona la materia orgánica, (2) tritura y muele partículas, (3) mezcla los sustratos, (4) modifica y adecua la acidez, (5) inocula con microorganismos, (6) promueve y multiplica microorganismos, (7) forma compuestos reguladores, (8) homogeniza y paletiza, (9) recubre con muco proteínas y (10) excreta abono orgánico.
Modificado de Garcia-Pérez (2006).

ANEXO II

Cálculos para la determinación del tiempo de retención hidráulica del vermifiltro.

Determinación del volumen de agua retenida al final de los ensayos de drenaje en el reactor.

MF húmedo (g)	Peso 24 h (g)	Peso cápsula (g)	MF hum-peso cap	MF 24 h-peso cap	% Humedad
79.7314	67.5489	61.7187	18.0127	5.8302	67.632837

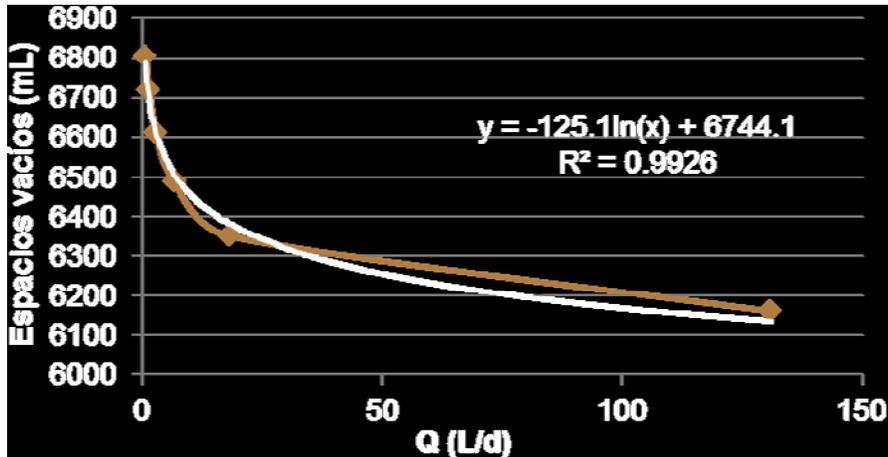
Vol agua contenido en grava	Vol real acum	En ___g de MF húmedo	Hay ___g MF seco	Contienen g agua	Corresponde a %Humedad	g agua /g de MF seco	Vol agua contenido en MF	Vol agua retenido (mL)	Porosidad
4580	2295	15.7354	4.5519	11.1835	71.07223204	2.3379902	4734.299	7029.3	28.11719431

Espacios vacíos en el vermifiltro con respecto al flujo

Con los datos del volumen acumulado y utilizando la ecuación 1 se obtiene el caudal de salida. En la siguiente tabla se muestran los datos de la prueba de vaciado y los resultados de la ecuación 1. El volumen acumulado corresponde a los espacios vacíos presentes en el vermifiltro.

Tiempo(min)	V (mL)	V acumulado (mL)	Q salida (L/d)
1	650	650	936.00
2	670	1320	964.80
4	3840	5160	2764.80
15	1000	6160	130.910
30	190	6350	18.24
60	140	6490	6.72
120	120	6610	2.88
240	110	6720	1.32
420	85	6805	0.68
1440	140	6945	0.20

Se graficó el caudal versus el volumen de espacios vacíos que corresponden al volumen de agua acumulado dentro del vermifiltro, se ajusta a una curva y se obtiene la ecuación de esa curva.



A partir de la fórmula obtenida en la figura se determina el volumen de espacios vacíos en el medio filtrante para cualquier caudal y, por diferencia entre el volumen total de agua contenido en el vermifiltro y el volumen de espacios vacíos se obtiene el volumen de agua en tratamiento. Finalmente, con este dato se calcula el TRH

Determinación del tiempo de residencia hidráulico en el vermifiltro

Sustituyendo el caudal en la ecuación de la figura se obtiene el volumen de espacios vacíos para este caudal. Por diferencia entre el volumen total de agua contenido en el material filtrante y el volumen de espacios vacíos, se obtiene el volumen real de agua en tratamiento. Sustituyendo este valor de volumen real y el caudal utilizado en la ecuación 4 se obtiene el THR. En la siguiente tabla se muestran los cálculos.

Ecuación de espacios vacíos	$y = -125.1 \ln(x) + 6744.1$
Q (L*d ⁻¹)	6
Vol. De espacios vacíos	6.6467 L
Vol. correspondiente a la porosidad in situ	7.0293 L
Vol. Real de agua en tratamiento	0.3826 L
TRH=Vreal*Q ⁻¹	0.0637 días

$$\text{TRH} = 91.82 \text{ min}$$

ANEXO III

Metodologías estandarizadas utilizando *Daphnia magna*

Nombre del método	Clave
Métodos estándar para el examen de las aguas residuales de agua y lodo; bio-ensayos (grupo L), para determinar la tolerancia de <i>Daphnia</i> a la toxicidad de las aguas residuales por medio de una serie de dilución (L 30)	DIN 38412-L30 (1989)
Determinación de la inhibición de la movilidad de <i>Daphnia magna</i> Straus (Cladocera, Crustacea) - prueba de toxicidad aguda	ISO 6341 (1996)
Determinación de la toxicidad a largo plazo de sustancias para <i>Daphnia magna</i> Straus (Cladocera, Crustacea)	ISO 10706 (2000)
<i>Daphnia magna</i> , prueba de inmovilización aguda	OCDE 202 (2004)
<i>Daphnia magna</i> , ensayo de reproducción	OCDE 211 (2008)
Método de prueba estándar para medir la toxicidad de sedimentos y contaminantes asociados a invertebrados de agua dulce	ASTM E1706 - 05 (2010)
Guía estándar para la realización de <i>Daphnia magna</i> ciclo de vida de pruebas de toxicidad	ASTM E1193 - 97 (2004)