04-009

# Influence of organic loading rate on anaerobic biological degradation of carbamazepine present in urban wastewater.

María José Moya Llamas<sup>1</sup>; Edgardo David Vásquez Rodríguez<sup>2</sup>; María De Los Ángeles Bernal-Romero Del Hombre Bueno<sup>1</sup>; Arturo Trapote Jaume<sup>1</sup>; Daniel Prats Rico<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Alicante.- Instituto Universitario del Agua y las Ciencias Ambientales; <sup>2</sup>Universidad Tecnológica de Panamá;

Technologies based on anaerobic biological processes have been known for decades. However, its use has focused mainly on the treatment of sludge generated in conventional wastewater treatment plants. Certain micropollutants such as the pharmaceuticals naproxen, sulfamethoxazole, roxithromycin and the estrogens estrone,  $17\alpha$ -ethinylestradiol and  $17\beta$ -estradiol, which are persistent to convencional wastewater technologies, are best removed by anaerobic treatments. As a consequence, recent studies have recovered these technologies for its use in water line as the main treatment system for urban wastewater. Carbamazepine (CBZ) is a highly persistent antiepileptic drug due to its low biodegradability with increasing presence in the environment. It has been studied anaerobic biological degradation of this micro-contaminant in an Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor part of a combined UASB-MBR pilot-scale plant. The system has been subjected to three different organic loading rate steps in order to analyze the influence of this parameter on the process efficiency. The results show carbamazepine removal rates around 49% compared to the removal efficiencies below 10% achieved by conventional aerobic treatment of active sludge. (Heberer et al, 2002, Clara et al. (2005), Joss et al. (2005)).

Keywords: carbamazepine; UASB; anaerobic processes; organic loading rate

# Influencia de la carga orgánica en la degradación biológica anaerobia de la carbamazepina presente en las aguas residuales.

Las tecnologías basadas en procesos biológicos anaerobios son conocidas desde hace décadas. No obstante, su utilización se ha enfocado principalmente al tratamiento de los fangos generados en las EDARs. Determinados micro-contaminantes persistentes a los tratamientos de depuración convencionales, como los fármacos naproxeno, sulfamethoxazole, roxitromicina y los estrógenos estrona, 17 $\alpha$ -etinilestradiol y 17 $\beta$ -estradiol, son mejor eliminados por vía anaerobia. En consecuencia, investigaciones recientes han recuperado estas tecnologías para su uso en la línea de agua como sistema de tratamiento principal de aguas residuales. La carbamazepina (CBZ) es un fármaco antiepiléptico altamente persistente debido a su baja biodegradabilidad con creciente presencia en el medio ambiente. Se ha estudiado la degradación biológica anaerobia de este micro-contaminantes en un reactor anaerobio de manto de fangos de flujo ascendente UASB que forma parte de una planta combinada UASB-MBR escala piloto. El sistema ha sido sometido a tres escalones de carga orgánica diferentes a fin de analizar la influencia de este parámetro en la eficiencia del proceso. Los resultados demuestran porcentajes de eliminación de la carbamazepina entorno al 49% frente a las eficiencias de eliminación inferiores al 10% alcanzadas mediante tratamientos aerobios convencionales de fangos activos. (Heberer et al, 2002, Clara et al. (2005), Joss et al. (2005)).

Palabras clave: carbamazepina; UASB; procesos anaerobios; carga orgánica

Correspondencia: María José Moya Llamas. mjmoyallamas@telefonica.net

Agradecimientos: Este estudio fue parcialmente financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad español mediante el proyecto "Tratamientos combinados para la degradación y/o eliminación de contaminantes emergentes en aguas" (CTM2013-46669-R) y fue desarrollado en



Este obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/

## 1. Introducción.

Los nuevos retos derivados de la actual calidad de vida, el consumo energético, la preocupación por el medio ambiente, los avances tecnológicos y las opciones de reutilización de un recurso escaso esencial para la vida, como es el agua, unido a un marco legislativo más exigente en esta materia, han propiciado un escenario cada vez más restrictivo en cuanto a calidad del agua se refiere.

La Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, comúnmente denominada Directiva Marco del Agua, cuyo objetivo fundamental es el mantenimiento y preservación del buen estado de las aguas y ecosistemas acuáticos en respuesta a su creciente deterioro, establece la necesidad de llevar a cabo la vigilancia y control de cualquier tendencia prolongada al aumento de la concentración de cualquier contaminante inducida antropogénicamente. En su Anexo X, la Directiva incluye una lista de 33 sustancias prioritarias que, con posterioridad, fue ampliada a 45 en virtud de la Directiva 2013/39/UE. Sin embargo, esta lista de contaminantes orgánicos persistentes que pueden suponer un riesgo potencial sobre el medio ambiente y la salud humana continúa en creciente aumento.

En este contexto cobra especial relevancia el desarrollo de tecnologías de depuración cada vez más eficientes y sostenibles, capaces de obtener efluentes de alta calidad aptos para su reutilización. El desarrollo de tecnologías aerobias avanzadas, como es el caso de los biorreactores de membrana (MBR), ha supuesto en las últimas décadas un importante avance en este sentido. Sin embargo, ciertos compuestos orgánicos persistentes o microcontaminantes, como son determinados fármacos y sus metabolitos, los cuales fueron precisamente diseñados para su persistencia en el metabolismo humano, son escasamente eliminados con estas tecnologías (Radjenovic et al., 2007; Qiu et al., 2013).

Otras tecnologías avanzadas, como son los procesos de oxidación avanzada (AOPs), basados en la producción de radicales hidroxilo por diferentes mecanismos, han demostrado ser altamente efectivos en la degradación de micro-contaminantes refractarios a la biodegradación (Rivera-Utrilla et al., 2013), sin embargo sus altos costes de operación suponen un obstáculo a su utilización generalizada.

Los procesos anaerobios para el tratamiento del agua residual son conocidos desde hace décadas en el tratamiento y eliminación de la materia orgánica fácilmente biodegradable de las aguas residuales y están fundamentados principalmente en una alta retención de biomasa activa en el reactor (Kato, M.T., 1994). Sus bajos costes de operación, la producción de biogás con un alto porcentaje de metano, su escasa producción de fango en exceso y los bajos requerimientos de espacio, son algunas de las principales ventajas hacen de los sistemas de tratamiento anaerobios una alternativa rentable frente a los sistemas aerobios convencionales. Aunque tradicionalmente han sido utilizados para el tratamiento de aguas residuales industriales de alta carga orgánica procedentes de mataderos, cerveceras, industrias lácteas, destilerías e industrias papeleras, entre otras, investigaciones recientes han demostrado su eficacia en la degradación de ciertos micro-contaminantes, como el analgésico naproxeno o los antibióticos sulfamethoxazole y roxitromicina (Carballa et al, 2007) presentes en las aguas residuales de menor carga orgánica, como son las aguas residuales urbanas. La carbamazepina o 5H-dibenzo-[b,f]-azepina-5-carboxamida (Tabla 1) es un fármaco antiepiléptico utilizado principalmente como anticonvulsivo y antineurálgico. Su absorción es lenta y se produce casi completamente en el tracto intestinal. La carbamazepina (CBZ) se metaboliza parcialmente en el hígado y el metabolismo la elimina fundamentalmente por vía renal, siendo excretada junto con sus metabolitos e incorporándose así a las aguas residuales. Entre sus propiedades destaca su alta persistencia a la biodegradación a bajas concentraciones (Stamatelatou et al., 2003) y una baja adsorción en el fango (Ternes et al., 2004). En consecuencia, permanece en la fase acuosa, siendo eliminada mediante tratamientos convencionales en porcentajes inferiores a un 10% (Ternes, 1998; Heberer, T., 2002). De esta forma, se incorpora a los cuerpos y masas de agua donde ha sido detectada en concentraciones superiores a 1000 ng/L. Su consumo global estimado es de 1014 toneladas/año (Zhang et al., 2008) y ha sido propuesta como marcador antropogénico en las masas de agua (Clara et al., 2004).

NH2	Fórmula química:	$C_{15}H_{12}N_2O$
	Nº Registro CAS:	298-46-4
	Uso:	Analgésico, antiepiléptico
	Log P (octanol-agua):	2.45
	Solubilidad (mg/L):	1.8·10 <sup>4</sup>
5H-Dibenz[b,f]azepine-5- carboxamide (Carbamazepina-CBZ)	Peso molecular (g/mol):	236.27
	Constante de la Ley de Henry a 25 °C (atm m3 /mol):	9.41·10 <sup>-12</sup>

#### Tabla 1. Estructura química y principales propiedades físico-químicas de la carbamazepina.

La presente investigación aborda la influencia de la carga orgánica ( $L_{org}$ ) en la degradación biológica anaerobia del fármaco carbamazepina. Para ello se ha estudiado la eficiencia de un reactor anaerobio de manto de fangos de flujo ascendente (Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor – UASB) que forma parte de una planta piloto combinada UASB-MBR. El sistema fue sometido a diferentes cargas orgánicas, todas ellas dentro del rango de las aguas residuales urbanas, coincidente con el rango recomendado por Ndon and Dague (1997) para procesos anaerobios.

# 2. Materiales y métodos.

# 2.1. Configuración del planta piloto experimental.

Figura 1. Esquema de la planta piloto escala laboratorio UASB-MBR



El sistema diseñado se compuso de un reactor biológico anaerobio UASB de 25 L de volumen útil combinado con un biorreactor de membranas de microfiltración MBR-MF (Figura 1). El influente era introducido mediante una bomba peristáltica por la zona inferior del reactor y, durante su trayectoria ascensional a través de las diferentes capas de fango dispuestas según su distribución granulométrica, entraba en contacto con la biopelícula agregada a los gránulos produciéndose la degradación anaerobia de la materia orgánica con la consiguiente generación de biogás. Este último era recogido en la parte superior del reactor mediante un dispositivo trifásico en forma de campana para la posterior medición del volumen generado y determinación de su composición mediante analizador de biogás Geotech Biogas-5000, Geotechnical Instruments Ltd., UK. Una bomba peristáltica (Dosiper, C1 R (León, España) fue la encargada del mantenimiento de la velocidad ascensional adecuada para el correcto funcionamiento del sistema. El efluente tratado era recogido en la parte superior del reactor por rebose y conducido por gravedad a un biorreactor de membranas para la eliminación de posibles sólidos o patógenos remanentes. La temperatura en el interior del reactor se mantuvo en torno a 30°C mediante un termostato colocado en el interior del reactor. El equipamiento del reactor se completó con sensor de nivel y sonda de temperatura. Un PLC con software diseñado al efecto controlaba y monitorizaba en continuo los principales parámetros de operación.

## 2.2. Alimentación sintética y reactivos químicos.

El sustrato usado en la investigación fue un efluente sintético similar un agua residual de origen urbano. La alimentación fue preparada en laboratorio en base a la composición reflejada en la Tabla 2. Ésta incluyó peptona y extracto de carne como principales fuentes de carbono y nitrógeno, minerales en concentraciones traza, y carbonato y bicarbonato de sodio para favorecer la capacidad amortiguadora del pH del sistema. La alimentación fue preparada a diferentes cargas orgánicas reduciendo proporcionalmente las concentraciones indicadas.

Compuestos químicos	Concentración <sup>a</sup>
	(mg/L)
Peptona	634.7
Extracto de carne	434.5
MgSO₄· 7 H₂O	7.9
$CaCl_2 \cdot 2 H_2O$	15.7
NaCl	27.6
NaHCO <sub>3</sub>	40.0
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	20.0

#### Tabla 2. Composición del sustrato.

<sup>a</sup>Concentraciones para COD de referencia de 1200 mg/L

A partir del día 56 de operación (finalización de la etapa de puesta en marcha) se procedió a la introducción de manera regular en la alimentación sintética de una mezcla de 30 microcontaminantes disueltos en diclorometano, siendo la carbamazepina CBZ el compuesto más relevante para este estudio dada su baja biodegradabilidad. La concentración de CBZ adicionada fue de 10µg/L (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania), similar a las monitorizadas en los influentes de las EDARs y a la vez suficiente para que la fracción del micro-contaminante remanente en el efluente tratado fuese superior a los límites de detección del equipo analizador (Equipo tándem GC-MS (GC Agilent 7890 y MS Agilent 5975)(Agilent Technologies, Incorporated. Santa Clara, California, USA).

### 2.3. Métodos y técnicas analíticas.

Se tomaron muestras diariamente del alimento sintético y del efluente tratado para el seguimiento y evaluación del correcto funcionamiento del reactor UASB. El control del pH se llevó a cabo mediante pH-metro modelo Basic 20+ Crison mientras que para determinar la conductividad eléctrica se utilizó el conductímetro CM35 Crison. Los sólidos suspendidos totales presentes en el lodo granular anaerobio se determinaron por métodos gravimétricos en base al Standard Methods (APHA, 1992).

El control de la demanda química de oxígeno (COD), nutrientes (NT, PT), nitritos, nitratos, amonio y sulfatos en el influente, lodo granular y efluente tratado se llevó a cabo mediante cubetas test de Machery-Nagel, digeridas y medidas mediante digestor TR300 de Merck y espectrofotómetro NANOCOLOR®500D de Machery-Nagel respectivamente.

Periódicamente se extrajeron muestras del lodo granular para la identificación y cuantificación de los ácidos grasos volátiles (VFA) presentes en el interior del reactor mediante cromatógrafo de gases 7890A (Agilent Technologies, Inc.) equipado con columna capilar de sílice fundida DB-FFAP (30X0.32 mm ID, 0.25 µm) con detector de ionización de llama G4513A. El gas portador utilizado fue helio con un flujo de 1.0 mL/min. Los componentes individuales y su concentración se determinó utilizando sus espectros de masas y comparando los tiempos de retención con los de una mezcla de ácidos grasos volátiles (formic cid, acetic acid, propionic acid, isobutyric acid, butyric acid, isovaleric acid, caproic acid, hexanoic acid and n-Heptanoic acid) en concentración 10 mM (Supelco, Bellefonte, PA, USA) cromatografiados en las mismas condiciones. El software utilizado fue ChemStation de Agilent Technologies Inc.

La composición del biogás producido en la degradación anaerobia se determinó tomando muestras periódicamente de cada una de las etapas de carga orgánica mediante bolsas Tedlar®, las cuales eran analizadas posteriormente mediante analizador Geotech Biogás-5000 (Geotechnical Instruments Ltd, U.K.).

La determinación de las concentraciones de CBZ remanente en el efluente tratado en cada una de las etapas de carga orgánica se llevó a cabo mediante Extracción en Fase Sólida (SPE) en medio ácido utilizando el equipo Auto Trace 280 (Vertex). Previo a su análisis, el compuesto requirió de derivatización in situ según los métodos propuestos por (Gómez et al., 2007 y Hai et al., 2011). Para el análisis de las muestras resultantes de utilizó el equipo tándem GC-MS (GC Agilent 7890 y MS Agilent 5975).

# 3. Resultados y discusión.

## 3.1. Operación del reactor UASB.

La experimentación en laboratorio se inició con la siembra en el reactor anaerobio UASB de 8 L con lodo granular procedente del reactor UASB de una industria cervecera ubicada en Quart de Poblet, Valencia, España. El sistema fue operado a tres escalones de carga orgánica diferentes, iniciándose la puesta en marcha y la primera etapa de operación en  $L_{org,1}$  =0.67±0.15 kg COD/m3·d para, posteriormente, ir disminuyendo la carga orgánica de entrada al UASB hasta  $L_{org,2}$  =0.37±0.06 kg COD/m3·d) y  $L_{org,3}$ =0.11±0.02 kg COD/m3·d, correspondientes respectivamente a concentraciones de COD de 1200, 600, 170 mg O<sub>2</sub>/L.

Durante las tres etapas de carga se mantuvieron altos tiempos de retención celular (SRT > 90 días) en el reactor UASB a fin de favorecer el enriquecimiento de bacterias de crecimiento lento y consecuentemente el establecimiento de una biocenosis más diversa con capacidades fisiológicas más amplias (Clara et al., 2005). El tiempo de retención hidráulica (HRT) quedó establecido en 37 hr para toda la experimentación. En cuanto a la temperatura del reactor, aunque durante la puesta en marcha el reactor UASB operó a temperatura ambiente (23-29°C), tras la introducción de los micro-contaminantes se mantuvo una temperatura controlada próxima a los 30°C en su interior, evitando así que diesen lugar a pérdida de biomasa o inestabilidad del sistema (Ndon & Dague, 1997).

El análisis de los ácidos grasos volátiles (VFA) fue fundamental para el control de la estabilidad del reactor anaerobio ya que, cualquier perturbación (sobrecarga orgánica, presencia de tóxicos y/o fluctuaciones de temperatura, entre otros) puede dar lugar al desequilibrio del proceso, cuyo resultado es la acumulación de ácidos grasos en el medio, especialmente propiónico y butírico (de la Rubia et al., 2007). Es por ello que la presencia de VFA en el efluente ha de ser muy baja o inapreciable (Iza, J. M., 1995). Durante toda la investigación los VFA fueron encontrados en concentraciones prácticamente inapreciables, siendo el acético el detectado en mayor proporción (189 ng/µL al inicio de la investigación). A lo largo de la experimentación, los valores de ácido acético fueron disminuyendo hasta prácticamente anularse, signo de la progresiva estabilidad del sistema.

# 3.2. Eficiencia en la degradación de la materia orgánica.



Figura 2. Eficiencia en la eliminación de materia orgánica.

Tras la puesta en marcha y estabilización del sistema, la introducción de los ECs en la alimentación sintética a carga orgánica alta ( $L_{org,1}$ ) provocó cierta inhibición en la biomasa del reactor UASB disminuyendo su eficiencia UASB en más de un 30%. Esto supuso que la carga másica de entrada al MBR fuese mayor favoreciendo su rendimiento. De esta forma se obtuvieron eliminaciones medias en el UASB-MBR de entorno al 97%. No obstante, la eficiencia del UASB continuó decreciendo conforme se redujo la carga orgánica de entrada al sistema hasta el final de la experimentación (Figura 2).

La inhibición de la actividad metanogénica de la biomasa anaerobia también quedó patente en la producción de biogás del sistema. Si bien al durante la etapa de puesta en marcha el reactor UASB alcanzó una producción media de 0.29 m<sup>3</sup> biogás·kg  $COD^{-1}$  con un contenido de  $CH_4$  del 68-82%, tras la introducción de los micro-contaminantes ésta se anuló recuperándose prácticamente al final de la investigación.

## Figura 3. Composición promedio del biogás producido en la etapa anaerobia (UASB).



### 3.3. Degradación de la carbamazepina en condiciones anaerobias.

La Figura 3 resume la eficiencia del reactor UASB en la degradación biológica anaerobia de la carbamazepina en relación con la carga orgánica del influente durante todo el período experimental.





Durante los primeros 95 días de operación la planta piloto combinada fue sometida a cargas orgánicas de 0.67±0.15 kg COD/m3·d. En esta etapa el reactor anaerobio UASB alcanzó su eficiencia máxima tanto en eliminación de materia orgánica como en la degradación anaerobia del compuesto CBZ, con una eliminación promedio de CBZ en el reactor anaerobio UASB del 48,88 % y una eliminación global del sistema combinado UASB-MBR del 70,03% (Figura 4).

El segundo escalón de carga se llevó a cabo entre los días 95 a 125, con valores de 0.37±0.06 kg COD/m3·d en la alimentación sintética. En esta etapa (días 91 a 130) la eficiencia del reactor UASB en la degradación anaerobia de la CBZ descendió ligeramente acusando la influencia de los micro-contaminantes introducidos en el sistema. Se alcanzaron valores promedio de degradación de CBZ de 48,03% en el reactor UASB, mientras que la planta combinada alcanzó un rendimiento medio de 59,63%.

Finalmente, la última fase de experimentación se realizó a cargas orgánicas bajas (0.11±0.02 kg COD/m3·d). Este rango de carga orgánica fue excesivamente bajo para el correcto funcionamiento del reactor anaerobio UASB, el cual vio disminuida su eficiencia en la eliminación del compuesto objeto con eliminaciones promedio del 38,16%, con un valor promedio en el sistema global UASB-MBR del 49,80%.

#### Figura 5. Degradaciones promedio de CBZ obtenidas en el reactor UASB y en la planta UASB-MBR, para cada etapa de carga orgánica.



DEGRADACIÓN CBZ

La etapa de tratamiento anaerobio en el reactor UASB ha demostrado ser altamente eficiente en la degradación de la carbamazepina, con rendimientos medios cercanos al 50%, muy superiores a los obtenidos en investigaciones precedentes (Ternes, T. A. (1998); Heberer, T. (2002); Clara et al. (2005); Joss et al. (2006)). Los procesos que tienen lugar en el tratamiento anaerobio sirven de acondicionamiento del citado compuesto para la eliminación posterior de la fracción remanente en el efluente mediante el biorreactor de membranas (MBR), alcanzando tasas de degradación del sistema global del 70% cuando el influente de entrada a la planta presentó cargas orgánicas altas.

# 4. Conclusiones.

Se confirma el carácter refractario de la carbamazepina a los tratamientos biológicos convencionales. No obstante, los procesos anaerobios que tienen lugar en el reactor de manto de fangos de flujo ascendente (UASB) fueron capaces de biodegradar parcialmente este compuesto especialmente cuando el influente presentaba cargas orgánicas altas y medias, alcanzando rendimientos muy superiores a los obtenidos en mediante tratamientos basados en fangos activados (CAS) o biorreactores de membranas (MBR). La combinación de tratamientos biológicos de diferente naturaleza, como es el caso del sistema UASB-MBR, fue muy efectiva en la eliminación de CBZ especialmente cuando la carga orgánica del influente es alta, con eliminaciones entre el 60-70%.

Se puede concluir que la carga orgánica del influente es capaz de influir notablemente en el rendimiento del sistema, consiguiendo mayores tasas de eliminación de la CBZ cuando el sistema es sometido a cargas orgánicas más elevadas (0.67±0.15 kg COD/m3·d).

## 5. Referencias.

- APHA. (1992). Standard methods for the examination of water and wastewater (18th ed.). Washington: American Public Health Association.
- Carballa, M., Omil, F., Ternes, T., & Lema, J. M. (2007). Fate of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) during anaerobic digestion of sewage sludge. Water Research, 41(10), 2139-2150.
- Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N., & Kroiss, H. (2005). Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water research*, 39(19), 4797-4807.
- Clara, M., Strenn, B., Kreuzinger, N., 2004. Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of carbamazepina in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water Research*, 38, 947–954.
- de la Rubia, M. A., Pérez, M., Romero, L. I., & Sales, D. (2007). Ácidos grasos volátiles en lodos de depuradora. Efecto de la temperatura. *Mantenimiento*, 55(52), 23.
- Gómez, M.J., Martínez Bueno, M.J., Lacorte, S., Fernández-Alba, A.R. y Agüera, A. (2007). Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast. *Chemosphere*, 66(6), 993-1002.
- Hai, F.I., Tessmer, K., Nguyen, L.N., Kang, J., Price, W.E. y Nghiem, L.D. (2011). Removal of micropollutants by membrane bioreactor under temperature variation. *Journal of Membrane Science*, 383(1–2), 144-151
- Heberer, T. (2002). Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *Journal of Hydrology*, 266(3), 175-189.
- Iza, J.M (1995). I Curso de Ingeniería Ambiental. Tractament anaerobi d'aigües residuals i residus de forta càrrega : paràmetres de disseny i tecnolo. Lleida : Paperkite p 175-202. ISSN/ISBN: 84-86893-45-3.
- Joss, A., Zabczynski, S., Göbel, A., Hoffmann, B., Löffler, D., McArdell, C. S. & Siegrist, H. (2006). Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: proposing a classification scheme. *Water research*, 40(8), 1686-1696.
- Kato, M. T. (1994). The anaerobic treatment of low strength soluble wastewaters. Kato.
- Ndon, U. J., & Dague, R. R. (1997). Effects of temperature and hydraulic retention time on anaerobic sequencing batch reactor treatment of low-strength wastewater. *Water Research*, *31*(10), 2455-2466.
- Qiu, G.; Song., Y.; Zeng, P.; Duan, L.; Xiao, S. (2013). Combination of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) and membrane bioreactor (MBR) for berberine reduction from wastewater and the effects of berberine on bacterial community dynamics. *Journal of Hazardous Materials*, 246-247(0), 34-43.
- Radjenovic, J., Petrovic, M., & Barceló, D. (2007). Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(4), 1365-1377.
- Rivera-Utrilla, J., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M. A., Prados-Joya, G. & Ocampo-Pérez R. (2013). *Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. Chemosphere* 93, 1268–1287.

- Stamatelatou, K., Frouda, C., Fountoulakis, M. S., Drillia, P., Kornaros, M., & Lyberatos, G. (2003). Pharmaceuticals and health care products in wastewater effluents: the example of carbamazepine. *Water Science and Technology: water supply*, *3*(4), 131-137.
- Ternes, T. A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water research*, 32(11), 3245-3260.
- Ternes, T.A., Herrmann, N., Bonerz, M., Knacker, T., Siegrist, H., Joss, A., 2004. A rapid method to measure the solid–water distribution coefficient (Kd) for pharmaceuticals and musk fragrances in sewage sludge. Water Res. 38, 4075–4084.
- Unión Europea. Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de Octubre de 2000, por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. *DO L* 327.
- Unión Europea. Directiva 2013/39/UE del Pralamento Europeo y del Consejo, de 12 de agosto de 2013, por la que se modifican las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE en cuanto a las sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas. *DO L* 226.
- Zhang, Y., Geißen, S., & Gal, C. (2008). Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*, 73(8), 1151-1161.