



**CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO
TECNOLÓGICO EN ELECTROQUIMICA S.C.**

**ELIMINACIÓN DE HORMONAS PERSISTENTES EN
AGUAS RESIDUALES.**

I.BT. ANA FÁTIMA RUIZ ESPARZA ORTIZ

DIRECTOR DE TESIS

Dr. ADRIÁN RODRÍGUEZ GARCÍA





El presente trabajo experimental se realizó en el Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica S.C (CIDETE Q S.C) bajo la dirección del Dr. Adrián Rodríguez García

Índice

1.-Introducción.....	0
1.1. Problema de investigación.....	3
2.-Marco Teórico.....	5
2.1. Sistema Endocrino.....	6
2.1.1. Mecanismos de acción de las hormonas.....	7
2.2. Cómo actúan los Disruptores endocrinos.....	8
2.2.1. Mecanismos y modos de Acción.....	9
2.2.2. Relación dosis-respuesta.....	9
2.3. Efectos de Disruptores Endocrinos.....	10
2.3.1. Efectos sobre la Vida Silvestre.....	10
2.3.2. Efectos sobre la salud humana.....	11
2.3.3. Reducción temporal en el conteo y calidad de espermatozoides.....	11
2.3.4. Incidencia en el incremento de cancer testicular y prostata.....	11
2.3.5. Incidencia en el incremento de cáncer de mama en mujeres.....	12
2.3.6. Efectos neurológicos.....	12
2.3.7. Agua potable.....	12
2.3.8. 17β-Estradiol.....	13
2.4. Tratamientos biológicos.....	15
2.4.1. Digestión anaerobia.....	16
2.4.2. El proceso microbiológico y bioquímico de la digestión anaerobia.....	17
2.4.3. Fases de la digestión anaerobia.....	18
2.4.3.1. Hidrolisis.....	18
2.4.3.2. Acidogénesis.....	18
2.4.3.3. Acetogénesis.....	19
2.4.3.4. Metanogénesis.....	20
2.5. Parámetros de operación y ambientales.....	20
2.5.1. Temperatura.....	20
2.5.2. Presencia de tóxicos e inhibidores.....	21
2.5.3. Nitrógeno Amoniacal.....	22
2.5.4. Ácidos Grasos Volátiles (AGV's).....	22
2.5.5. Compuestos azufrados y metales pesados.....	23
2.5.6. Carga orgánica Volumétrica.....	24
2.5.7. Tiempo de retención hidráulico (TRH).....	24
2.5.8. pH y Alcalinidad.....	25

2.5.9. Nutrientes.....	25
2.5.10. Concentración de solidos	26
2.6. Reactores Anaerobios de Flujo Ascendente (Upflow Anaerobic Sludge Blanket UASB).....	27
2.7. Lodo granular anaerobio (Inóculo)	28
2.8. Procesos biológicos y compuestos estrogenicos.....	29
2.9. Combinación de PAO's con tratamiento biológico	29
2.10. Procesos avanzados de oxidación (POA's).....	30
2.11. Reacción Fenton.	32
2.11.1. Condiciones de operación.	33
2.12. Aspectos fundamentales de la electroquímica.	35
2.12.1. Identificación de electrodos.	35
2.13. Proceso Electroquímico de Oxidación Avanzada.....	36
2.13.1. Electroquímica y reacciones.	37
2.13.2. Electro-Fenton.	38
3. Justificación	41
4. Objetivos.....	43
4.1. Objetivo General.....	44
4.2. Objetivos Específicos	44
5. Hipótesis	45
6. Metodología.....	47
6.1. Muestreo de agua residual.	48
6.2. Tratamiento preliminar de Agua residual	48
6.2.1. Cribado	48
6.2.2. Sedimentación.....	49
6.2.3. Diluciones de la muestra.....	49
6.3. Caracterización del Agua Residual.....	50
6.4. Inóculo.	51
6.5. Reactores UASB.....	51
6.6. Operación del reactor Anaerobio.....	53
6.7. Trazador hormonal 17 β Estradiol.	54
6.8. Reactivo de Fenton.	55
6.8.1. Sistema y procedimiento experimental de reacción Fenton.....	55
6.9. Electrooxidación y Electrofenton	59
6.9.1. Condiciones usadas en los experimentos.....	61
6.10. Determinación de 17 β Estradiol	63
6.10.1. Materiales y Métodos.....	63

6.10.2. Medidas analíticas.....	63
6.11. Decoloración de la muestra.....	64
7. Resultados.....	65
7.1. La caracterización del agua residual.....	66
7.2. Caracterización de Inóculo.....	67
7.3. Digestión Anaerobia del Agua Residual en Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (UASB).....	68
7.3.1 Remoción y eficiencias de la Demanda Química de Oxígeno total y soluble.....	68
7.3.2. Remoción Carbono orgánico Total.....	71
7.3.3. Remoción de solidos volátiles totales y solidos totales.....	72
7.3.4 Monitoreo de pH.....	73
7.3.5. Ácidos Grasos Volátiles.....	74
7.3.6 Alcalinidad Total y Parcial.....	75
7.3.7. Relación Alfa.....	76
7.3.8. Grasas y aceites.....	77
7.3.9 Nitrógeno Amoniacal.....	78
7.3.10. Cromatografía de líquidos de alta Resolución Agua Residual.....	79
7.4. Oxidación Avanzada.....	80
7.4.1. Caracterización del efluente.....	80
7.5. Proceso de Fenton.....	82
7.5.1. Efecto de la concentración de FeSO ₄	82
7.6. Caracterización del agua tratada Fenton químico.....	88
7.6.1 Cromatografía de líquidos de alta resolución agua tratada Fenton.....	90
7.7. Electrofenton y Electrooxidación.....	91
7.7.1. Efecto de la intensidad de corriente y resistencia eléctrica en celda electroquímica.....	91
7.7.2. Cromatografía de líquidos de alta resolución agua tratada Fenton.....	94
7.8. Remoción de color por tratamiento.....	95
7.9. Comparación de la efectividad de los procesos Biológicos y de Oxidación Avanzada.....	96
7.10 Propuesta de tren de tratamiento para eliminación de hormonas persistentes en aguas residuales.....	98
7.11 Costos de Tratamientos.....	100
8. Conclusiones.....	102
9. Perspectivas.....	105
10. Anexos.....	107
10.1. Métodos Analíticos.....	108
10.2. Demanda Química de Oxígeno.....	108
10.3. Determinación de pH.....	111
10.4. Determinación de Carbono Orgánico Total.....	111

10.5. Determinación de Alcalinidad Parcial y Total	113
10.6. Determinación de Ácidos Grasos Volátiles.	114
10.7. Determinación de sólidos.....	114
10.8. Determinación de Nitrógeno Amoniacal.	115
10.9. Grasas y Aceites.....	116
10.9. Curva de calibración de 17 β Estradiol en Espectrofotómetro.....	117
10.10. Curva de calibración 17 β Estradiol Cromatografía de Líquidos.....	119
11. Referencias	121

Índice de Figuras

<i>Figura 1.-Operaciones de alimentación concentrada de animales (Imagen propia Granjas lecheras).....</i>	<i>2</i>
<i>Figura 2.- Vías por las cuales llegan los disruptores endocrinos a los humanos (apocalypticus.over-blog.es; 21 febrero 2013).....</i>	<i>4</i>
<i>Figura 3.- Glándulas productoras de las principales hormonas en el cuerpo humano (ISTAS 2012).....</i>	<i>6</i>
<i>Figura 4.-Diferentes reacciones de disruptores endocrinos en el cuerpo humano (Andrade-Ribeiro y col; 2006).....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 5.- Relación dosis respuesta de disruptores endocrinos (Vanderberg y col; 2012).....</i>	<i>10</i>
<i>Figura 6.-Estructura química 17 β Estradiol.....</i>	<i>13</i>
<i>Figura 7.- Fases de fermentación anaerobio y poblaciones bacterianas:1) Bacterias hidrolíticas-acidogénicas 2) Bacterias acetogénicas 3) Bacterias homoacetogénicas 4) Bacterias metanogénicas, hidrogenofilas 5) Bacterias metanogénicas acetoclásticas (adaptado de Nayono, 2009).....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 8.-Rutas metabólicas para la degradación de la glucosa y producción de Ácidos grasos Volátiles de cadena corta. (Mosey, 1993).....</i>	<i>19</i>
<i>Figura 9.-Influencia de temperaturas en microorganismos Metanogénicos.</i>	<i>21</i>
<i>Figura 10.-Reactor Anaerobio de flujo ascendente (Curso Tratamiento de Aguas; 2002).</i>	<i>27</i>
<i>Figura 11.-Clasificación de los procesos de Oxidación Avanzada (J.J Rodríguez y col).</i>	<i>32</i>
<i>Figura 12.-Celda electrolítica (Castillo 2010).</i>	<i>36</i>
<i>Figura 13.- Proceso Electroquímico de oxidación avanzada (izt.uam.mx).</i>	<i>37</i>
<i>Figura 14.-Proceso Electroquímico Electro Fenton (Bioprocesos.uvigo.es).</i>	<i>40</i>
<i>Figura 15.-Tratamientos preliminares de la muestra de agua residual.</i>	<i>49</i>
<i>Figura 16.-Análisis de respuestas de Diseño de experimentos Digestión Anaerobia.....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 17.-Tratamiento de aguas residuales en Reactor UASB escala laboratorio 7(L).....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 18.-Reactivos usados para llevar a cabo la reacción Fenton.</i>	<i>55</i>

<i>Figura 19.-Sistema experimental para Fenton químico.....</i>	<i>56</i>
<i>Figura 20.-Ajuste de pH del efluente con H₂SO₄ 5M.....</i>	<i>56</i>
<i>Figura 21.-Formación de lodos durante la reacción Fenton.....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 22.-a) Neutralización de las muestras usando NaOH b) Filtrado de las muestras para remover los lodos.....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 23.- Pruebas de la reacción Fenton según la matriz del diseño de experimentos.....</i>	<i>58</i>
<i>Figura 24.-Esquema del procedimiento experimental reacción Fenton.....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 25.-Celda electroquímica tipo filtro prensa.....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 26.-Armado de celda e instalación de los electrodos.....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 27.- Viales para curva de calibración 17β Estradiol.....</i>	<i>64</i>
<i>Figura 28.- Influyente antes y después del tratamiento de Digestion Anaerobia en reactor UASB.....</i>	<i>79</i>
<i>Figura 29.-Cromatograma Agua Residual con detección de 17β Estradiol 5.8 min.....</i>	<i>80</i>
<i>Figura 31.-Aspecto visual de las muestras a lo largo del proceso: (1) Original, (2) Salida del proceso Fenton (3) Neutralizada.....</i>	<i>89</i>
<i>Figura 32.-Cromatograma Efluente antes del tratamiento Fenton químico.....</i>	<i>90</i>
<i>Figura 33.-Cromatograma Efluente después de tratamiento Fenton químico 30 min.....</i>	<i>90</i>
<i>Figura 34.-a) Muestra antes y después de la aplicación del tratamiento Electrofenton 0.7mM b) Muestras tomadas por tiempos en el tratamiento Electrofenton 0.7 mM.....</i>	<i>94</i>
<i>Figura 35.-Cromatograma Efluente antes del tratamiento de Electrofenton.....</i>	<i>95</i>
<i>Figura 36.-Cromatograma Efluente después del tratamiento Electrofenton 30 min.....</i>	<i>95</i>

Índice de Tablas.

<i>Tabla 1.-Rango de concentraciones endógenas de algunas hormonas en los seres humano (Vandenberg y col 2012).....</i>	<i>7</i>
<i>Tabla 2.-Concentración de hormonas detectadas en aguas residuales, efluentes de plantas de tratamiento y aguas superficiales (Modificado Ramos; 2009).....</i>	<i>14</i>
<i>Tabla 3.-Concentraciones de inhibición y de toxicidad de los metales pesados en digestión anaerobia (Hayes y Theis, 1978).....</i>	<i>23</i>
<i>Tabla 4.-Rangos óptimos de pH para los diferentes microorganismos (adaptado de Elías et al., 2012).....</i>	<i>25</i>
<i>Tabla 5.-Rangos de concentración de nutrientes, necesarios para el correcto crecimiento de las bacterias anaerobias (henze, 1995).....</i>	<i>26</i>

<i>Tabla 6.- Ventajas y desventajas del reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB).</i>	28
<i>Tabla 7.-Bacterias degradadoras de Estrógenos (Editada Y.K., Koh, y col 2008).</i>	29
<i>Tabla 8.-Potenciales redox de algunos agentes oxidantes (Lergini; 1993).</i>	31
<i>Tabla 9.-Principales Reacciones descritas en el proceso Fenton (J.J Rodríguez y col).</i>	33
<i>Tabla 10.-Ventajas y desventajas del tratamiento electrofenton.</i>	38
<i>Tabla 11.-Técnicas fisicoquímicas utilizadas para la caracterización de influente y efluente.</i>	50
<i>Tabla 12.-Técnicas fisicoquímicas utilizadas para la caracterización del inoculo.</i>	51
<i>Tabla 13.-Matriz de Diseño de experimentos Digestión Anaerobia</i>	52
<i>Tabla 14.-Condiciones usadas en el reactor UASB.</i>	54
<i>Tabla 15.-Relaciones de concentraciones matriz Diseño de experimentos Fenton.</i>	58
<i>Tabla 16.-Condiciones usadas para los procesos de Electrofenton (EF) y Electrooxidación (EO); tomando en cuenta que para cada prueba se usó un volumen de 3 Litros, un flujo de 4L/min en un tiempo de reacción de 180 min.</i>	62
<i>Tabla 17.-Principales parámetros para la caracterización del Influyente.</i>	66
<i>Tabla 18.-Principales parámetros para la caracterización del inoculo correspondiente.</i>	67
<i>Tabla 19.- Parámetros Caracterización Efluente UASB.</i>	81
<i>Tabla 20.-Condiciones de operación de los experimentos de proceso Fenton.</i>	82
<i>Tabla 21.-Caracterización Agua tratada Fenton químico.</i>	88
<i>Tabla 22.- Resultados de los tratamientos de oxidación avanzada aplicados al efluente; con un tiempo de tratamiento de 180 min; con un DQO de inicio en EF de 816 mg/L y en EO de 1392 mg/L.</i>	93

Índice de gráficas

<i>Gráfica 1.-Porcentaje eficiencias de eliminación carga orgánica.</i>	50
<i>Gráfica 2.-Espectro de absorción de Agua residual y agua tratada UASB (dilución 1:5).</i>	68
<i>Gráfica 3.- Monitoreo de DQO_t durante el tiempo de operación del reactor UASB (Influente y Efluente).</i> 69	
<i>Gráfica 4.- Eficiencia en degradación de DQO_t durante el tiempo de operación del reactor UASB.</i>	70
<i>Gráfica 5.- Evolución de DQOs en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del reactor UASB.</i>	70
<i>Gráfica 6.-Evolución del COT en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del reactor UASB.</i> 71	
<i>Gráfica 7.-Comportamiento de Sólidos Totales en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del Reactor UASB.</i>	72

<i>Gráfica 8.-Comportamiento de Solidos Volátiles en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del Reactor UASB.</i>	<i>73</i>
<i>Gráfica 9.-Monitoreo de pH en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del reactor UASB. ...</i>	<i>74</i>
<i>Gráfica 10.-Monitoreo de AGV's durante el tiempo de operación del reactor UASB (Influyente y Efluente).</i>	<i>75</i>
<i>Gráfica 11.-Comportamiento de Alcalinidad Parcial y Total Durante el tiempo de operación del reactor UASB.</i>	<i>76</i>
<i>Gráfica 12.-Evolución de la Relación α durante el tiempo de operación del reactor UASB.....</i>	<i>77</i>
<i>Gráfica 13.-Concentración de Grasas y Aceites en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del reactor UASB.</i>	<i>78</i>
<i>Gráfica 14.-Comportamiento de Nitrógeno Amoniacal durante el tiempo de operación del reactor UASB (Efluente).</i>	<i>79</i>
<i>Gráfica 15.-Espectro de absorción del efluente (dilución 1:5).....</i>	<i>81</i>
<i>Gráfica 16.-Degradación de materia orgánica con respecto al tiempo proceso Fenton químico.....</i>	<i>83</i>
<i>Gráfica 17.- Porcentaje de Remoción DQO Fenton químico.</i>	<i>83</i>
<i>Gráfica 18.-Degradación de Carbón orgánico total con respecto al tiempo Fenton químico.</i>	<i>84</i>
<i>Gráfica 19.- Porcentaje de remoción TOC Fenton químico.</i>	<i>85</i>
<i>Gráfica 20.-Degradación DQO Fenton químico (relación 1:15.).....</i>	<i>87</i>
<i>Gráfica 21.- Eficiencia de Remoción DQO Fenton químico (relación 1:15).</i>	<i>87</i>
<i>Gráfica 22.-Espectro de absorbancia Fenton mejores relaciones.....</i>	<i>89</i>
<i>Gráfica 23.-Efecto en el porcentaje de remoción de DQO con aplicación de procesos Electroquímicos. ..</i>	<i>92</i>
<i>Gráfica 24.-Degradación DQO Electrofenton 0.7mM FeSO₄ Densidad de Corriente 31.25 mA/cm².</i>	<i>93</i>
<i>Gráfica 25.-Porcentaje de remoción DQO y TOC Electrofenton 0.7mM FeSO₄ Densidad de Corriente 31.25 mA/cm²</i>	<i>94</i>
<i>Gráfica 26.-Variación del porcentaje de remoción dependiendo de los tratamientos aplicados.</i>	<i>96</i>
<i>Gráfica 27.- Cantidad de la DQO retirada mediante proceso Biológico (UASB) en el influente. Fenton químico al efluente y Electrofenton al efluente.</i>	<i>97</i>
<i>Gráfica 28.- Unidades de Estradiol eliminadas mediante los procesos aplicados: UASB, Fenton químico y Electrofenton.</i>	<i>98</i>

ANEXOS

Tablas

<i>Tabla A 1.-Preparación de la curva estándar para la determinación de la DQO.....</i>	<i>109</i>
<i>Tabla A 2.-Concentraciones para Curva de Calibración Espectrofotómetro.....</i>	<i>117</i>
<i>Tabla A 3 Concentraciones para Curva de Calibración HPLC.</i>	<i>119</i>

Gráficas

<i>Gráfica A 1.- Curva de calibración para determinación de la demanda química de oxígeno</i>	<i>109</i>
<i>Gráfica A 2.- Curva de Calibración en Espectrofotómetro.</i>	<i>118</i>
<i>Gráfica A 3.- Espectrofotómetro de concentraciones de 17 B Estradiol.</i>	<i>118</i>
<i>Gráfica A 4.-Curva de Calibración HPLC.....</i>	<i>119</i>
<i>Gráfica A 5.- Cromatografía de líquidos (HPLC) 17 β Estradiol.....</i>	<i>120</i>

Figuras

<i>Figura A 1.-Muestras de Oxidación avanzada después de la titulación para determinar DQO.....</i>	<i>110</i>
<i>Figura A 2.-Equipo para determinación de Carbono Orgánico Total.</i>	<i>112</i>
<i>Figura A 3.-Extracción de Grasas y Aceites.</i>	<i>117</i>

1.-Introducción

En la actualidad una de las problemáticas más graves que se afronta en el mundo es el problema de la contaminación ambiental en diferentes aspectos: aire, tierra y agua; siendo este último recurso el de mayor importancia y el que requiere especial atención. (Salazar; 2009) El crecimiento exponencial continuado de la población humana ha creado un aumento correspondiente de la demanda del suministro limitado de la Tierra de agua dulce. Así, la protección de la integridad de nuestros recursos acuáticos es una de las cuestiones ambientales más esenciales del siglo veintiuno. Las décadas recientes han traído preocupaciones crecientes por efectos de salud humanos y ecológicos adversos potenciales que resultan de la producción, uso, y la disposición de numerosos productos químicos que ofrecen mejoras de industria, agricultura, médicas y conveniencias domésticas hasta comunes. (Daughton y col 1999)

Es por eso que según va creciendo la escasez de los suministros de agua, los tratamientos para la recuperación de aguas residuales ofrecen una solución a este problema como una correcta administración o gestión del agua siendo un proceso eficaz y viable, por lo que reutilización en Las operaciones de alimentación concentrada de animales (CAFO) de las aguas residuales en los campos agrícolas es una estrategia de reciclado de agua factible y económico, que puede proporcionar nutrientes y materia orgánica para el crecimiento vegetal y ofrecer una fuente alternativa de agua para reducir la demanda de agua de alta calidad.(Weizheng y col 2012) Aunque el término CAFO se utiliza a veces libremente para referirse a cualquier granja industrial, "Operaciones de alimentación concentrada de animales" (CAFO) es una designación efectuada por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos y tiene un significado muy específico. Una CAFO es una operación de alimentación de animales que cumpla con ciertos criterios establecidos por la EPA. (Environmental Protection Association) En granjas lecheras la producción de leche con vacas de buena calidad, bien alimentada y sana, proporciona bienestar económico y empleo para la familia. La leche, además de ser un alimento de gran calidad, indispensable para el buen desarrollo de los niños, se puede transformar en otros productos alimenticios con los que se puede comercializar. La producción de leche de vaca es una actividad que proporciona ingresos adicionales al productor, mejora su alimentación y permite el empleo de mano de obra. (SAGARPA).Sin embargo, el agua derivada de las granjas lecheras suele conservar muchos contaminantes como cantidades excesivas de nutrientes, salinidad, patógenos, metales pesados, y orgánicos (como, hormonas animales y productos farmacéuticos veterinarios); que presentan un riesgo potencial tanto para la recepción de ecosistemas como para los recursos de agua potable. (Weizheng y col 2012).



Figura 1.-Operaciones de alimentación concentrada de animales (Imagen propia Granjas lecheras).

La gestión actual y las regulaciones para CAFO en aguas residuales que se reutilizan en las tierras agrícolas se centran principalmente en nutrientes. Para contaminantes emergentes, tales como antibióticos veterinarios y hormonas en las aguas residuales de que se encuentran actualmente regulados y sus posibles efectos sobre los recursos ambientales y salud pública son poco entendidos ya que se conoce que cientos de compuestos, cuya abundancia en ambientes acuáticos ha sido identificada como Disruptores endocrinos (EDC) dentro de los cuales se encuentran clasificadas las hormonas que se encuentran en las (CAFO). (Bradford y col. 2008, O'Connor y col. 2008) Un Disruptores endocrino ha sido recientemente descrito como "una sustancia química exógena o de la mezcla que altera la estructura o (s) función del sistema endocrino y causa efectos adversos a nivel del organismo, su progenie, las poblaciones o subpoblaciones de los organismos, con base en principios científicos principios, los datos, la ponderación de las pruebas y los principio de precaución (Biggsby Robert y col. 1999). La liberación de las hormonas esteroideas en los suelos agrícolas es generalmente asociada con el estiércol contaminado con aguas residuales, u otros biosólidos. Además de los materiales orgánicos en suelos tiene un impacto significativo en la biota del suelo, en consecuencia, también puede afectar a la transformación y procesos de transporte de las hormonas en los suelos agrícolas. (Jobling y col. 1998, Thrope y col. 2003).

Por lo tanto, las CAFO están atrayendo mucha atención como una fuente importante para la liberación de estos contaminantes emergentes en el ambiente. Las granjas lecheras son una de las CAFO más importantes; (Sarmah y col.2006) Y se ha estimado que el ganado lechero aporta 45 toneladas de hormonas endógenas al año, lo que representa aproximadamente el 90% de la excreción de estrógenos por el ganado. Los estudios in vitro han demostrado que las concentraciones bajas de

hormonas estrogénicas esteroideas, incluso a niveles tan bajos como ng L-1, pueden afectar negativamente a la biología reproductiva de los recursos acuáticos. (Jobling y col. 1998, Thrope y col. 2003) Estas hormonas son producidas en el organismo del ganado naturalmente en etapas específicas donde existe una alta producción de hormonas, y en otros casos la producción en grandes niveles de hormonas se puede deber al suministro de estas para beneficios económicos del ganadero. Al conocer este tipo de problemas en las aguas residuales es necesario hacer un mejor trabajo con respecto al tratamiento que se le da a estos efluentes por lo tanto los tratamientos a los que se deben someter los efluentes tienen que garantizar la eliminación o recuperación del compuesto orgánico en el grado requerido por la legislación que regula el vertido del efluente o para garantizar las condiciones mínimas del proceso en el caso de reutilización o recirculación de la corriente para uso interno. (Rodríguez y col. 2006) La necesidad para tratar este tipo de aguas ha permitido el desarrollo de diferentes técnicas electroquímicas como biológicas para la eliminación de estos compuestos. Se reportan trabajos en los cuales se evaluó el efecto de un tratamiento secuencial de oxidación avanzada – lodo activado sobre la eliminación de la materia orgánica en aguas residuales provenientes de la etapa de pelambre del proceso de producción de cuero. Como pre tratamiento oxidativo se utilizó reactivo de Fenton. Los resultados indican que un pre tratamiento mediante POA, efectivamente ayuda a mejorar la eliminación global de materia orgánica recalcitrante contenida en efluentes de pelambre. (Vida S. y col. 2002) también se ha reportado que para los procesos biológicos en el tratamiento de aguas en algunos casos no proveen buenos resultados en la remoción de contaminantes recalcitrantes o no se logra alcanzar el grado de pureza requerido bajo norma, por lo que la aplicación de un proceso de oxidación avanzada (POA) como un pre tratamiento o post-tratamiento puede ser la solución a la remoción de aguas biológicamente persistentes. (García Gómez y col. 2011) En base a esto se propone el uso de procesos biológicos y electroquímicos combinados para la eliminación de compuestos recalcitrantes como Disruptores endocrinos en aguas residuales de Granjas o Industrias lecheras usando la digestión anaerobia para la degradación de la materia orgánica y el reactivo Fenton para la mineralización de los compuestos orgánicos recalcitrantes.

1.1. Problema de investigación

La salud pública y las implicaciones ambientales de los "Disruptores endocrinos" con sus siglas en inglés (EDCs) han sido el sujeto de muchas investigaciones científicas, interés de los medios y de atención política durante años pasados (L.D. Nighiem y col. 2004). La disrupción endocrina no es el punto final tóxico por si, sino el cambio funcional que puede llevar a efectos adversos; En granjas lecheras el problema empieza cuando las vacas en lactancia crean hormonas estrogénicas o se les inyecta cierto tipos de hormonas para que tengan una mayor producción de leche y mayor crecimiento, estas pueden llegar a causar grandes efectos adversos tanto en el ambiente como en la salud humana si los niveles de estas se encuentran sobre los niveles normales que son requeridos en el organismo. Estas se excretan en sus desechos y terminan en las aguas residuales o lagunas, el agua se usa para fertilizar cultivos y aunque existen regulaciones federales que limitan ciertos nutrientes agrícolas de contaminar ríos, arroyos, lagos o aguas subterráneas, las regulaciones no protegen napas subterráneas y aguas superficiales de la contaminación por hormonas animales y productos farmacéuticos veterinarios. Las hormonas excretadas por las especies de ganado están clasificadas como Disruptores endocrinos (EDCs) potencialmente altos. (Damstra y col. 2003)

Las preocupaciones en torno a los (EDCs) han generado un gran número de estudios de investigación divergentes elaborados bajo condiciones diferentes y con resultados varios y hay preocupaciones por el efecto adverso que ellos pueden tener tanto en el ambiente a cuático como en los humanos. (Damstra y col. 2003)



Figura 2.- Vías por las cuales llegan los disruptores endocrinos a los humanos (apocalypticus.over-blog.es; 21 febrero 2013).

2.-Marco Teórico

2.1. Sistema Endocrino

Para comprender qué son los Disruptores endocrinos y cómo actúan es necesario saber primero qué es el sistema endocrino y cómo actúan las hormonas.

El sistema hormonal o endocrino es un sistema de comunicaciones. En los organismos pluricelulares la comunicación entre las células es esencial para que funcionen coordinadamente. Esta comunicación y la integración de la información se producen mediante estímulos químicos.

Las células contiguas se comunican por moléculas de superficie y uniones especializadas, mientras que la comunicación entre células que se encuentran alejadas se realiza a través de la secreción de mensajeros químicos, las hormonas, que activan células diana interaccionando con receptores específicos. El sistema utilizado para transportar a los mensajeros químicos hasta las células diana es el circulatorio, concretamente la sangre. (Romano 2012)

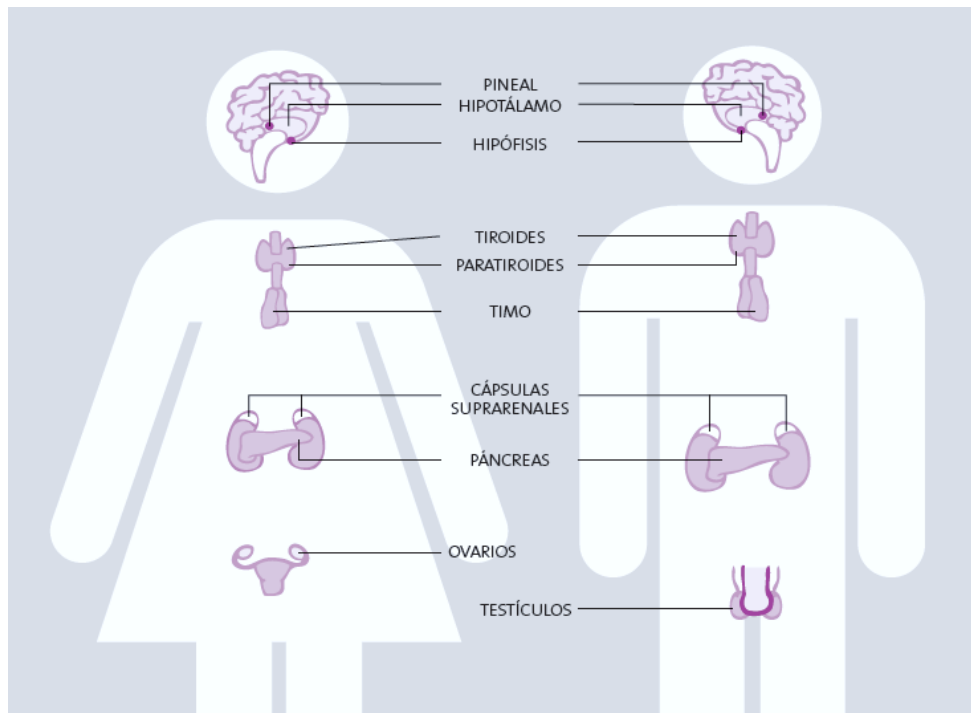


Figura 3.- Glándulas productoras de las principales hormonas en el cuerpo humano (ISTAS 2012).

2.1.1. Mecanismos de acción de las hormonas

Las hormonas pueden actuar como si fueran enzimas, mediante una acción directa sobre alguna reacción química concreta. Las hormonas actúan Sobre receptores de membrana o intracelulares, uniéndose a ellos con especificidad y alta afinidad. La afinidad se define como la concentración de Hormona necesaria para que la mitad de sus receptores estén ocupados, por tanto, a mayor afinidad menor concentración se requiere. En consecuencia, la ocupación de estos receptores es variable y dependerá tanto de la afinidad como de la concentración plasmática de las hormonas. Los niveles circulantes de una hormona dependerán de su tasa de secreción, de su vida media así como del inicio y duración de su acción. Estas son capaces de ejercer su acción de forma efectiva con concentraciones muy pequeñas, del orden de pico gramos o microgramos por mililitro de sangre. (Martínez Sánchez 2007).

Hormona	Concentraciones libres (mujeres)	Concentración total (mujeres)	Concentraciones libres (hombres)	Concentración total (hombres)
Cortisol	20-300 ng/mL		20-300 ng/mL	
Estradiol	0.5-9 pg/mL (hembra adulta)	<20 pg/mL (prepuberal) 20-800 pg/mL (premenopáusico) <30 pg/mL (postmenopáusica)		10-60 pg/mL (adulto)
Progesterona		0.2-0.55 ng/mL (prepuberal) 0.02-0.80 ng/mL (fase folicular) 0.90-4 ng/mL (fase lútea) <0.5 ng/mL (postmenopáusica)		0.1-0.4 ng/mL (prepuberal) 0.2-2 ng/mL (adulto)
Insulina		0-250 pmol/litro.		
GH		2-6 ng/mL		
Prolactina		0-15 ng/mL		0-250 pmol/litro
Testosterona				2-6 ng/mL
Tiroidea	9-150 pg/mL (adulta)		0.3-250 ng/mL	0-10 ng/mL
	8-30 pg/mL (10-35 pM)		8-30 pg/mL (10-35 pM)	
TSH	0.5-5 µU/mL		0.5-5 µU/mL	

Tabla 1.-Rango de concentraciones endógenas de algunas hormonas en los seres humano (Vandenberg y col 2012).

Las hormonas regulan funciones muy diferentes y de muy diversos grado de complejidad, así, pueden:

- Actuar de simples transmisores de información.
- Controlar límites superiores a inferiores de funciones metabólicas.
- Ejercer funciones de control por retroalimentación.
- Controlar sistemas complejos como el ciclo menstrual.
- Regular el desarrollo de glándulas mamarias, niveles metabólicos y desarrollo embrionario. (Vandenber y col. 2012).

En la siguiente imagen se muestran los receptores nucleares que se unen a las hormonas esteroides y tiroideas y actúan directamente para regular la expresión génica. También se muestran los receptores de membrana que se unen a hormonas proteicas y amina para producir efectos dentro de la célula por un sistema de segundo mensajero. Y por último los receptores de membrana que se pueden vincular a una variedad de sistemas de segundos mensajeros. Estos efectos deben ser identificados y considerado cuando pensamos en las alteraciones endocrinas. (Åke Bergman y col. 2012)

2.2. Cómo actúan los Disruptores endocrinos

Los Disruptores endocrinos pueden interferir con la producción, liberación, el metabolismo, y la eliminación de hormonas o puede imitar la aparición de las hormonas naturales. (Tabb M. y col. 2006). El foro de evaluación de la EPA describe a un Disruptor endocrino como un agente exógeno que interfiere con la síntesis, secreción, transporte, unión, acción o eliminación natural de hormonas en el cuerpo que son responsables de mantener la homeostasis, reproducción, desarrollo y comportamiento. Estos Disruptores endocrinos han penetrado y se encuentran ampliamente difundidos en el ambiente. Algunos son persistentes, pueden ser transportados largas distancias atravesando fronteras y han sido encontrados prácticamente en todas las regiones del mundo. Otros son degradados rápidamente en el ambiente o en el cuerpo humano, pudiendo estar presentes solo por corto tiempo pero durante períodos críticos de desarrollo. (Damstra y col. 2003)

Las hormonas producen efectos en el cuerpo exclusivamente al actuar sobre los receptores. Hay diferentes clases de receptores.

2.2.1. Mecanismos y modos de Acción

Conocer los mecanismos y modos de acción de los diferentes Disruptores endocrinos es una de las prioridades de la investigación en este campo. En los últimos años se ha avanzado mucho y se han descrito diferentes formas por las que los Disruptores endocrinos pueden alterar el equilibrio hormonal. Así, hay sustancias que pueden: Mimetizar la actividad biológica de una hormona endógena, uniéndose a un receptor celular (efecto agonista), pueden unirse a un receptor sin activarlo, previniendo o impidiendo que lo hagan las hormonas naturales (efecto antagonista), pueden alterar los niveles de hormonas presentes en el flujo sanguíneo, interfiriendo con las proteínas de transporte, pueden interferir en los procesos metabólicos del organismo, afectando la síntesis o la lisis de las hormonas y por ultimo pueden modificar la actividad transcripcional de los genes relacionados con hormonas y receptores (Olea Serrano 2007).

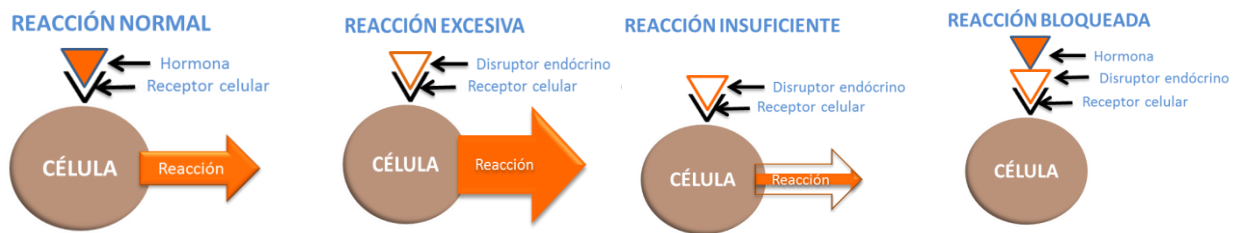


Figura 4.-Diferentes reacciones de disruptores endocrinos en el cuerpo humano (Andrade-Ribeiro y col; 2006).

2.2.2. Relación dosis-respuesta.

La relación dosis-respuesta es, quizá, el tema más controversial respecto de los Disruptores endocrinos. Esta relación dosis-respuesta tiende a variar según los diferentes químicos y mecanismos endocrinos. El momento de exposición es absolutamente crítico para comprender la relación dosis-respuesta para los EDC. Existen numerosos ejemplos en la literatura donde la edad de exposición es un reconocido factor de riesgo. (Damstra y col. 2003) Se ha observado que numerosos EDC ocasionan efectos a dosis de exposición muy bajas, equivalentes a los niveles de exposición que se encuentran actualmente en la población. En el límite de la capacidad de análisis. Así, los límites de exposición laboral a agentes químicos se miden en ppm (partes por millón) y sin

embargo las hormonas y los Disruptores endocrinos pueden ocasionar efectos a dosis un millón de veces inferiores, de ppb (partes por billón). Los Disruptores endocrinos, sin embargo, pueden no tener límites sin efecto, de forma que produzcan efectos a dosis bajas y altas, y no los produzcan a dosis más altas, y viceversa. Es necesario determinar cuál es el impacto real de las sustancias químicas sintéticas, teniendo en cuenta, los problemas de determinación del momento de la exposición, la duración, la dosis, y los efectos de una combinación de compuestos químicos y efectos sinérgicos. (Andrade-Ribeiro 2006)

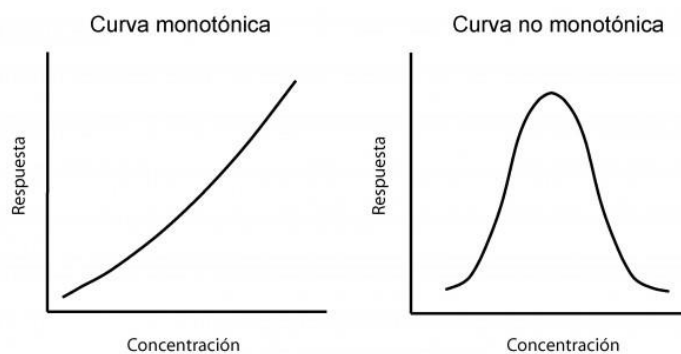


Figura 5.- Relación dosis respuesta de disruptores endocrinos (Vanderberg y col; 2012).

2.3. Efectos de Disruptores Endocrinos

2.3.1. Efectos sobre la Vida Silvestre

La exposición a ciertos Disruptores endocrinos ha contribuido a la aparición de efectos adversos sobre poblaciones y especies silvestres. Estos efectos varían desde cambios sutiles en la fisiología y comportamiento sexual de las especies hasta alteraciones permanentes de la diferenciación sexual. Animales y plantas tienen un sistema de mensajes químicos que controlan varias funciones básicas como la reproducción, crecimiento y mantenimiento. En animales, este sistema utiliza varias glándulas que producen esos mensajes químicos (hormonas) que son transportadas a los órganos receptores. Se ha observado que algunos sistemas son similares entre especies pero las diferentes maneras de la trayectoria evolutiva pueden producir variaciones complejas, resultando un sistema regulatorio multifacético. Es también conocido que ciertos químicos pueden interferir con el sistema

endocrino en varias maneras para producir una respuesta indeseada o disrupción, que a si vez puede afectar la salud, crecimiento y reproducción de una amplia gama de organismos (W. Jason y col. 2003). Los Disruptores endocrinos pueden ser postulados como la causa de un gran número de efectos adversos en la salud de varias especies de animales en la naturaleza. (Hester and R.M Harrison 1999). Desde mediados del siglo XX biólogos y naturalistas han ido documentando cómo numerosas especies de fauna silvestre, muy diferentes entre sí y localizadas en distintas áreas del planeta, están sufriendo graves problemas debido a la alteración de su sistema endocrino por exposición a EDC

2.3.2. Efectos sobre la salud humana

En los últimos años ha surgido a nivel mundial preocupación sobre los potenciales efectos adversos que podrían resultar de la exposición a sustancias químicas que presentan capacidad de interferir con el sistema endocrino. (Bila DM y col. 2003) Los efectos en los humanos para los que vincula la exposición de Disruptores endocrinos incluyen lo siguiente:

2.3.3. Reducción temporal en el conteo y calidad de esperma

Un estudio de conteo esperma mundial sugirio que la disminucion anual en el esperma es de 0.8% ocurriendo entre 1938 y 1990. (Carlsen. E. y col. 1992) Desde entonces la reduccion del conteo y calidad de esperma ha sido reportado en varios paises. (Auger. J. y col 1995, Mouzon y col 1996)Ahora es evidente que la determinación de las tendencias en el número de espermatozoides y la calidad es extremadamente difícil , debido a la variación geográfica y cíclica y la influencia de sesgo en la selección de los temas de estudio .(Bromuvich P. y col. 1994)

2.3.4. Incidencia en el incremento de cancer testicular y prostata

La incidencia en el crecimiento de cancer testiculy y de prostata ha icrementado dramaticamente en muchos paises con registros de Cancer, incluido Scandinava y los paises cercanos al mar baltico, alemania, Reino unido, EUA y Nueva zelanda.(Browm LM. Y col 1986, Adami H.O y col. 1994)

2.3.5. Incidencia en el incremento de cáncer de mama en mujeres

En mujeres, la incidencia de cáncer de pecho ha incrementado sostenidamente encima de décadas pasadas en varios países. Un numero de factores que incrementan el riesgo de cáncer de pecho, son identificados, incluyendo la dieta, consumo de calorías y consumo de alcohol, pero la exposición de por vida a los estrógenos es de gran importancia y los estrógenos ambientales podría contribuir a la exposición global y por lo tanto a la creciente incidencia de la enfermedad (Hester and R.M Harrison 1999).

2.3.6. Efectos neurológicos

Se sabe que el cerebro es uno de los sitios más sensibles de acción de los esteroides en el útero, y recientemente se ha sugerido que los alteradores endocrinos pueden afectar el desarrollo y comportamiento normal del cerebro. Se ha descubierto que en el útero exposición a compuestos de bifenilo policlorados (PCB) resultó en efectos negativos sobre la función neurológica e intelectual en los jóvenes niños nacidos de madres que habían comido pescado contaminado con PCB en el USA. (J.L Jacobson y col 1996) También se ha especulado que la exposición a contaminantes ambientales con actividad esteroide puede estar influyendo en el desarrollo sexual humano y comportamiento sexualmente controlado. (Whitten P.L y col. 1992).

2.3.7. Agua potable

Las aguas subterráneas son vulnerables a la contaminación por productos químicos transportados por el agua de lluvia, lixiviación de vertederos de desechos o de aguas residuales de uso industrial o agrícola. El tratamiento de agua potable puede eliminar algunos, pero no todos, de estos contaminantes. La exposición de la vida silvestre a los alteradores endocrinos también se produce a través de su comida y en la mayoría de los ecosistemas hay una tendencia a que las sustancias químicas persistentes a la bioacumulación y biomagnificación. Las aguas superficiales, ríos y lagos, y el mar son muy vulnerables a la contaminación por residuos y contaminantes en el aire. Los seres humanos y la vida silvestre pueden ser, y son a veces, expuestos a estas sustancias en el medio

ambiente, pero nuestro conocimiento de los niveles, las rutas y el tiempo de exposición es muy pobre.

2.3.8. 17β-Estradiol

Los estrógenos naturales, Estrona (E1), 17 β-estradiol (E2) y Estriol (E3), y el sintético, 17α-etinilestradiol (EE2), son los estrógenos que se encuentran comúnmente en las aguas residuales (Racz y Goel, 2010). E1, E2, y E3 son predominantemente hormonas femeninas, que son importantes para mantener la salud de los tejidos reproductivos, los senos, la piel y el cerebro, mientras que EE2 es un esteroide sintético, utilizado como anticonceptivo. Todos los seres humanos, así como animales, excretan hormonas esteroides (Desbrow et al, 1998.; Hanselman et al., 2003; Zheng et al., 2008) en diferentes montos, dependiendo de la edad, estado de salud, la dieta, o el embarazo (Lintelmann et al, 2003;.. Zheng et al, 2008). Estas hormonas terminan en el medio ambiente a través de la descarga de aguas residuales y residuos animales disposición.

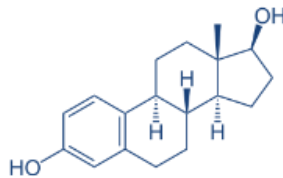


Figura 6.-Estructura química 17 β Estradiol

El estradiol 17 β estradiol, es un estrógeno natural. Los niveles de estradiol son útiles para vigilar el estado de la ovulación. Dado que los niveles de estradiol reflejan la madurez folicular, la medición de estradiol es un instrumento valioso para evaluar el desarrollo sexual, la etiología de la amenorrea, las causas de la infertilidad y la menopausia. (Hall. J; Carr.B R. 1992) Niveles anormalmente elevados en hombres son indicativos de síndromes feminizantes como la ginecomastia (Reyes y col; 1993)

Hormona	Agua residual	Referencias	Efluente de planta de tratamiento	Referencias	Agua superficial	Referencias
	(µg/L)		(µg/L)		(µg/L)	
Estradiol	0.005-0.059	(Lishman et al, 2006);(Joss et al, 2005);(Hernández et al, 2005)	0.001-0.037	(Hernando et al, 2006); (Lishman et al, 2006); (Josh et al 2005); (Hernández et al, 2005)	0.0024	(Hernando et al, 2006)
	0.008-0.0302			(Lishman et al, 2006);(Joss et al, 2005)		
Estrona	0.0302		0.0015-0.038		---	---

Tabla 2.-Concentración de hormonas detectadas en aguas residuales, efluentes de plantas de tratamiento y aguas superficiales (Modificado Ramos; 2009).

Las dos últimas décadas han sido testigo de la creciente preocupación científica y el debate público acerca de los efectos adversos potenciales que pueden resultar de la exposición a un grupo de sustancias químicas que tienen el potencial de alterar el funcionamiento normal del sistema endocrino en la vida silvestre y seres humanos, además de esto, los alteradores endocrinos también son contaminantes ambientales (Pérez Rivera 2009). Es extremadamente raro que un solo estudio pueda proveer toda la información relevante necesaria para relacionar un escenario particular de exposición a un especial efecto sobre la salud humana o de la vida silvestre.

Las pautas de presentación de los efectos causados por los Disruptores endocrinos varían de una especie a otra y son específicas de cada sustancia química. Aunque cualquier sistema hormonal puede verse implicado, la información disponible sobre la disrupción hormonal causada por los antagonistas de las hormonas sexuales femeninas o estrógenos, es cualitativa y cuantitativamente muy superior.

Un número de estudios significativos sugieren que los estrógenos principales en las aguas residuales se pueden eliminar de manera eficiente durante el tratamiento de aguas residuales. Relaciones

detalladas entre la actividad estrogénicas de efluentes y el diseño de la planta de tratamiento y / o características de operación aún no se han establecido.

Se han concentrado varios años de investigación en su destino, comportamiento y retiro en el ambiente, pero principalmente con los tipos de tratamiento de aguas residuales que actúa como un lugar de acumulación para estos compuestos. (Koh Y.K.K y col. 2008)

Los mecanismos de eliminación de los estrógenos del agua están influenciados por numerosos factores entre los que se encuentran las condiciones locales, el tipo de hormona y el tipo de proceso de depuración. (Hernández Lehmann 2006).

A continuación se mencionan diferentes tipos de proceso para el tratamiento de efluentes de aguas residuales con estas características; se mencionan sus ventajas, desventajas, condiciones de operación y mecanismos de acción en contra de estos compuestos, para lograr la degradación o eliminación de estos y evitar problemas ambientales tanto en la vida silvestre como en los humanos.

2.4. Tratamientos biológicos

Los procesos biológicos son métodos destructivos constituyen una serie de importantes procesos de tratamiento que tienen en común la utilización de microorganismos (entre las que destacan las bacterias) para llevar a cabo la eliminación de componentes indeseables del agua, aprovechando la actividad metabólica de los mismos sobre esos componentes. La aplicación tradicional consiste en la eliminación de materia orgánica biodegradable, tanto soluble como coloidal, así como la eliminación de compuestos que contienen elementos nutrientes. Es uno de los tratamientos más habituales, no solo en el caso de aguas residuales urbanas, sino en buena parte de las aguas industriales.

En la mayor parte de los casos, la materia orgánica constituye la fuente de energía y de carbono que necesitan los microorganismos para su crecimiento. (Rodríguez y col. 2006)

Se distinguen tres tipos de sistemas; sistemas aerobios, anaerobios y anóxicos.

2.4.1. Digestión anaerobia

El tratamiento anaerobio es un proceso biológico ampliamente utilizado en el tratamiento de aguas residuales. Cuando éstas tienen una alta carga orgánica, se presenta como única alternativa frente al que sería un costoso tratamiento aerobio, debido al suministro de oxígeno. El tratamiento anaerobio se caracteriza por la producción del denominado “biogás”, y susceptible de ser utilizado como combustible para la generación de energía térmica y/o eléctrica. Realmente, es un complejo proceso en el que intervienen varios grupos de bacterias, tanto anaerobias estrictas como facultativas, en el que, a través de una serie de etapas y en ausencia de oxígeno, se desemboca fundamentalmente en la formación de metano y dióxido de carbono. (Rodríguez y col. 2006)

La digestión anaerobia tiene una larga historia en el campo del tratamiento de las aguas residuales y los desechos orgánicos. La acumulación de los desechos humanos y municipales, en tanques o lagunas en los que permanecían, a temperatura ambiente y sin control, fue uno de los primeros sistemas de tratamiento de aguas residuales municipales, y el primer uso en iluminación del gas producido tiene una antigüedad de más de 100 años. La primera prueba sistemática para regular el uso del gas en la producción de electricidad tuvo lugar en Birmingham, Inglaterra, hace ya cerca de 90 años.

Los primeros refinamientos de la tecnología, para la aplicación de la digestión anaerobia, condujeron a los tanques sépticos y a los digestores que operaban sin control, especialmente de temperatura, y posteriormente a los digestores de alta tasa que fueron aplicados en la estabilización de los lodos obtenidos del tratamiento de las aguas residuales domésticas mediante procesos aerobios. (Gaspar M. 1996) La digestión anaerobia es un proceso biológico degradativo en el cual parte de los materiales orgánicos de un sustrato son convertidos en biogás, mezcla de dióxido de carbono y metano con trazas de otros elementos, por un consorcio de bacterias que son sensibles o completamente inhibidas por el oxígeno.

Utilizando el proceso de digestión anaerobia es posible convertir gran cantidad de residuos, residuos vegetales, estiércoles, efluentes de la industria alimentaria y fermentativa, de la industria papelera y de algunas industrias químicas, en subproductos útiles. En la digestión anaerobia más del 90% de la energía disponible por oxidación directa se transforma en metano, consumiéndose sólo un 10% de la energía en crecimiento bacteriano frente al 50% consumido en un sistema aerobio (Muñoz Valero *et al.*, 1987).

2.4.2. El proceso microbiológico y bioquímico de la digestión anaerobia.

El proceso anaerobio ha sido estudiado con bastante amplitud desde los puntos de vista bioquímico y microbiológico y se sabe que en él concurren una amplia variedad de bacterias de tipo tanto facultativas como anaerobias estrictas. En el desarrollo del proceso se han establecido dos etapas sucesivas, conocidas como fases no metanogénica y metanogénica; en la fase no metanogénica se inicia la transformación de las moléculas que conforman la materia orgánica, obteniéndose así compuestos más simples; en esta fase del proceso suelen considerarse dos etapas, una de hidrólisis seguida por la acidogénesis, la primera fase es la hidrólisis de partículas y moléculas complejas que son hidrolizadas por enzimas extracelulares producidas por los microorganismos *fermentativos*. Como resultado se producen compuestos solubles, que serán metabolizados por las bacterias anaerobias en el interior de las células. Los compuestos solubles, son fermentados por los microorganismos acidogénicos que producen, principalmente, ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, dióxido de carbono e hidrógeno. Los ácidos grasos de cadena corta son transformados en acético, hidrógeno y CO₂, mediante la acción de los microorganismos acetogénicos. Finalmente ocurre la metanogénesis, que produce metano principalmente a partir de acético y a partir de H₂ y CO₂. (Campos Pozuelo 2001.)

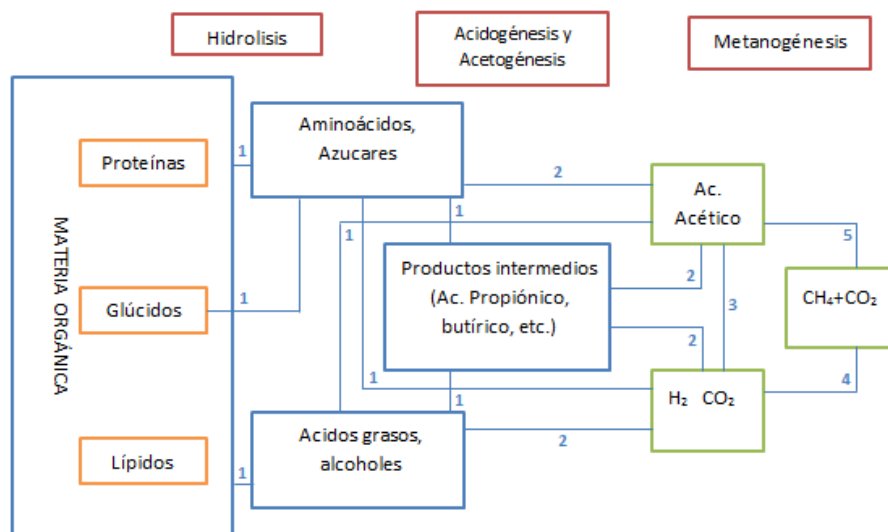


Figura 7.- Fases de fermentación anaerobia y poblaciones bacterianas: 1) Bacterias hidrolíticas-acidogénicas 2) Bacterias acetogénicas 3) Bacterias homoacetogénicas 4) Bacterias metanogénicas, hidrogenofilas 5) Bacterias metanogénicas acetoclásticas (adaptado de Nayono, 2009).

2.4.3. Fases de la digestión anaerobia

2.4.3.1. Hidrolisis

Los compuestos orgánicos complejos, como lípidos, proteínas e hidratos de carbono, son despolimerizados, por acción de enzimas hidrolíticas, en moléculas solubles y fácilmente degradables (Campos y col. 2012). La hidrólisis es, por tanto, el primer paso necesario para la degradación anaerobia de substratos orgánicos complejos. La hidrólisis de estas partículas orgánicas es llevada a cabo por enzimas extracelulares excretadas por las bacterias fermentativas. La importancia de la presencia de estas bacterias radica en que, además de proporcionar sustrato para los grupos posteriores de bacterias, eliminan el oxígeno disuelto que pudiera quedar en la materia orgánica (Jarabo, 1999). La etapa hidrolítica es generalmente la limitante cuando la materia orgánica se encuentra en forma particulada en vez de disuelta. (Vavilin *et al.*, 2001). Uno de los principales componentes de la materia orgánica, sobre todo en residuos ganaderos, son los materiales lignocelulósicos, compuestos principalmente por lignina, celulosa y hemicelulosa. La lignina es un material altamente refractario a la degradación anaerobia, afectando también a la biodegradabilidad de la celulosa, de la hemicelulosa y de otros polímeros, convirtiéndose su degradación en el proceso limitante de la velocidad de la hidrólisis y por tanto, de la degradación anaerobia de determinados substratos (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, Sleat y Mah, 1987; 1991; Veeken y Hamelers, 1999).

2.4.3.2. Acidogénesis

En la etapa acidogénica, un conjunto de organismos fermentativos transforman las moléculas orgánicas solubles, formando compuestos que pueden ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas a compuestos orgánicos más reducidos (láctico, etanol, propiónico, butírico). (Stams, 1994).

Los monómeros formados en la fase hidrolítica sirven como sustrato a las bacterias acidógenas que pueden ser anaerobias estrictas o anaerobias facultativas, estas los transforman a una mezcla de ácidos orgánicos llamados ácidos grasos volátiles (AGVs), alcoholes, hidrogeno (H₂) y dióxido de carbono(CO₂)(Angenent et al, 2004).

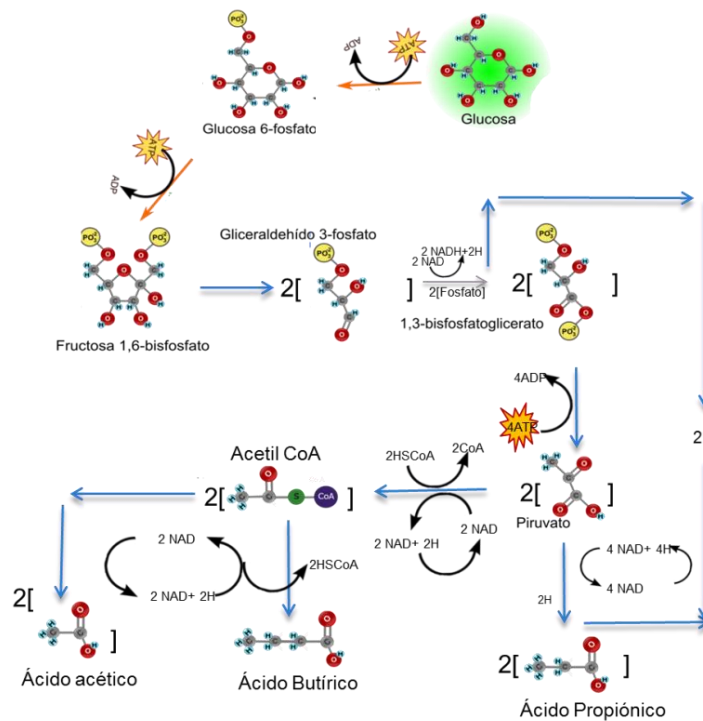


Figura 8.-Rutas metabólicas para la degradación de la glucosa y producción de Ácidos grasos Volátiles de cadena corta. (Mosey, 1993).

2.4.3.3. Acetogénesis

Durante la Acetogénesis los productos de la fermentación son convertidos en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono por un grupo de bacterias denominadas “Productoras Obligadas de Hidrógeno”. La particularidad de estos microorganismos radica en que las reacciones que realizan son inhibidas por el hidrógeno que producen, coexistiendo en una relación sintrófica con las bacterias metanogénicas hidrogenofílicas (Noyola, 1994).

El metabolismo acetogénico es muy dependiente de las concentraciones de estos productos. Como ejemplos de bacterias acetogénicas cabe mencionar *Syntrophobacter wolinii*, que descompone el ácido propiónico, o *Syntrophomonas wolfei* que descompone el ácido butírico. Los ácidos valérico y butírico son descompuestos por las mismas especies. En el grupo de bacterias acetogénicas se incluyen las homoacetogénicas, capaces de producir ácido acético a partir de hidrogeno y dióxido de carbono, pertenecientes a los géneros *Acetobacterium*, *Acetoanaerobium*, *Acetogenium*, *Clostridium* o *Eubacterium*. (Campos y col; 2012)

2.4.3.4. Metanogénesis

La metanogénesis es la etapa terminal de la digestión anaerobia donde los compuestos intermediarios de etapas anteriores se convierten en metano y dióxido de carbono. Los microorganismos metanogénicos pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación del medio de los productos de los grupos anteriores, siendo, además, los que dan nombre al proceso general de biometanización. Las bacterias metanogénicas son las responsables de la formación de metano a partir de substratos monocarbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente como: acetato, H₂, CO₂, formiato, metanol y algunas metilaminas (Madigan y col., 1998). La producción de metano está directamente relacionada con una disminución de la demanda química de oxígeno (DQO) en agua residual por degradación anaerobia. Por lo tanto, el rendimiento de CH₄ puede ser evaluado haciendo un balance de DQO, basado en la DQO eliminada. En condiciones normales, la producción teórica de metano en un reactor anaerobio es de 0.35m³/Kg de la DQO degradada (Gossett y Belser, 1982).

2.5. Parámetros de operación y ambientales

Es conocido que los procesos biológicos son dependientes de varios factores por lo que para un proceso anaerobio deben ser tomados en consideración varios factores como pH, tiempo de retención hidráulica, carga orgánica volumétrica, temperatura, nutrientes, alcalinidad entre otros; ya que no existe unanimidad entre los investigadores acerca de las condiciones óptimas y de los rangos de oscilación de las variables que afectan a la digestión anaerobia (Jarabo, 1999).

2.5.1. Temperatura

La temperatura tiene una gran influencia en las velocidades de degradación y en los rendimientos del proceso y particularmente en la metanogénesis. Así, se han identificado dos rangos de máxima actividad: El mesófilo, que opera entre 30°C y 40°C, y el termófilo, entre 45°C y 60°C (Van Lier *et al.*, 2001).

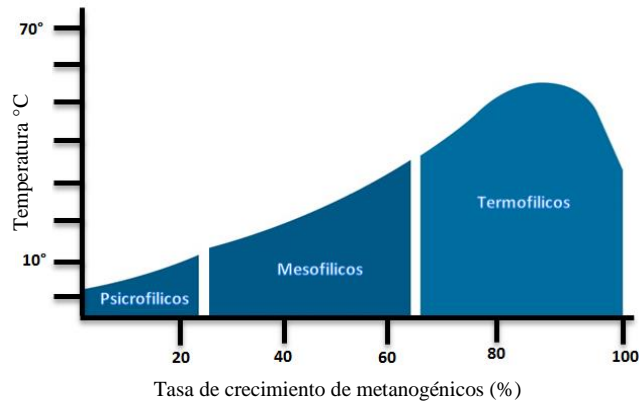


Figura 9.-Influencia de temperaturas en microorganismos Metanogénicos.

Un aumento en la temperatura tiene varios beneficios incluyendo un aumento en la solubilidad de los compuestos orgánicos, mayor velocidad de las reacciones químicas y biológicas, y un incremento en la tasa de muerte de los patógenos. Sin embargo, la aplicación de elevadas temperaturas también tiene efectos negativos. (Deublin y Steinhauser, 2008) Además, operar en el rango termófilo requiere un mayor control y seguimiento del proceso, así como un mayor gasto energético para mantener la alta temperatura, mientras que el funcionamiento en el rango mesófilo es más estable y requiere un menor consumo de energía (Fernández et al., 2008).

2.5.2. Presencia de tóxicos e inhibidores

Según la literatura un toxico es una sustancia ajena a un organismo vivo que puede interferir con alguna función de éste; ocasionando algún efecto, que puede ir desde mínimo hasta la muerte. La exposición de los microorganismos anaerobios a algunos tóxicos durante un periodo de tiempo elevado, provoca la aclimatación del cultivo al compuesto tóxico y permite que el sistema sea capaz de alcanzar un funcionamiento estable incluso para concentraciones del tóxico muy superiores a las admitidas normalmente. (Kugelman y Chin, 1971). Entre los inhibidores más importantes para el proceso anaerobio, se encuentran los ácidos volátiles, que al mismo tiempo son indispensables para el mismo, debido a que, como ya se señaló anteriormente, son el sustrato para las bacterias metanogénicas; sin embargo la acumulación excesiva de estos compuestos provoca una baja en el

pH del sistema, que da por resultado que estos mismos ácidos no se ionicen, con lo que no podrán ser metabolizados y peor aún afectar a las células bacterianas. (Kugelman y Mc Carty, 1965).

2.5.3. Nitrógeno Amoniacal

El amonio es un nutriente importante para el crecimiento microbiano de forma que concentraciones de nitrógeno amoniacal de 200 mg/L resultan beneficiosas para el proceso anaerobio (Sung y Liu, 2001). El nitrógeno amoniacal está presente en aguas y residuos sólidos que contienen altas concentraciones de proteínas y aminoácidos y es mineralizado a amonio durante la digestión anaeróbica. Aunque el nitrógeno amoniacal es un importante nutriente para el crecimiento de los microorganismos (Bryant *et al*, 1971), cuya carencia puede provocar el fracaso del proceso, una concentración excesivamente alta del mismo puede limitar su crecimiento. Algunos de los factores que controlan la inhibición del amonio son: la concentración, el pH, temperatura, presencia de otros iones (Na⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺) y la aclimatación de las bacterias (Chen, 2008). Los principales microorganismos afectados por altas concentraciones de amonio son los metanogénicos.

2.5.4. Ácidos Grasos Volátiles (AGV's)

Este es uno de los parámetros más útiles en el control del estado metabólico del proceso. Teniendo en cuenta que estos ácidos juegan un importante papel como intermediarios en la formación del metano, la acumulación de alguno de ellos indica la modificación de las condiciones metabólicas en el digester; por tanto cualquier inhibición de las etapas finales de la metalogénesis provocara un aumento de la concentración de ácidos volátiles y un descenso acusado del pH. (McCarty y McKinneey, 1961; Kotze y col. 1969)

Los valores de concentración de los ácidos grasos volátiles (ácido acético, propiónico y butírico), dentro del reactor, evidencian la estabilidad del sistema. El H₂ y el ácido acético, formados por la actividad de las bacterias acetogénicas y acidogénicos bajo condiciones estables, son utilizados inmediatamente por las bacterias metanogénicas y convertidos a metano, manteniéndose así baja la concentración de AGV, un pH estable y la alcalinidad debida a los carbonatos y bicarbonatos no se consume (Lahav *et al*, 2002).

2.5.5. Compuestos azufrados y metales pesados.

Tanto aguas como sólidos residuales pueden contener compuestos inorgánicos de azufre tal como sulfato (SO_4^{2-}) y sulfito (SO_3^{2-}), durante la digestión anaerobia, estos compuestos son reducidos microbiológicamente a ácido sulfhídrico (H_2S) (Koster, 1986).

La reducción de este compuesto es más favorable energéticamente que la producción de metano, así las bacterias sulfato reductoras competirán con las *Archaea* metanógenas por sustratos como H_2 (Hao, 1996). El resultado de esta competencia determinará la proporción de ácido sulfhídrico y metano en el biogás producido. El nitrógeno amoniacal, el ácido sulfhídrico y los ácidos grasos volátiles son inhibidores importantes de las bacterias metanogénicas, así como los metales pesados a altas concentraciones.

La aclimatación de las poblaciones bacterianas juega un papel importante en el momento de definir concentraciones críticas, así como el efecto sinérgico o antagónico que la presencia de una sustancia puede tener sobre la actividad toxica de otra. (Elena y col. 2012).

Metal	Concentración de inhibición (mg/L)	Límite de toxicidad (mg/L)	Concentración para 50% inhibición (mg/L)
	Ref		Lawrence y McCarty (1965)
Cr (III)	Hayes y Theis (1978) 130	260	
Cr (VI)	110	420	
Cu	40	70	211
Ni	10	30	134
Cd	-	20	
Pb	340	340	
Zn	400	600	136

Tabla 3.-Concentraciones de inhibición y de toxicidad de los metales pesados en digestión anaerobia (Hayes y Theis, 1978)

2.5.6. Carga orgánica Volumétrica

La carga orgánica es la cantidad de materia orgánica, expresada normalmente en unidades de DQO o de sólidos volátiles, por unidad de reactor y unidad de tiempo, siendo directamente dependiente de la concentración del substrato y del tiempo de retención. Es importante determinar la cantidad de materia orgánica a agregar en un determinado TRH, de lo contrario se excede la carga orgánica, ocasionando que el proceso se desestabilice debido a que las bacterias acidógenas producirían ácido rápidamente y las metanógenas no podrían consumir estos ácidos a la misma velocidad de producción. (VanRollegham, 2003). Altas cargas orgánicas, en ausencia de inhibidores, proporcionan altas producciones volumétricas de biogás. Parece que la resistencia a ciertos inhibidores puede aumentar con la carga orgánica (Angelidaki y col., 1993).

$$C.O.V = \frac{CxQ}{V}$$

Dónde:

$COV = \text{Carga Orgánica Volumétrica } \left(\frac{kgDQO}{m^3d}\right)$

$C = \text{Concentración del influente } \left(\frac{mgDQO}{L}\right)$

$Q = \text{Caudal } \left(\frac{m^3}{d}\right)$

$V = \text{Volumen del reactor } (m^3)$

2.5.7. Tiempo de retención hidráulico (TRH)

El tiempo de retención hidráulico es el tiempo que mantiene la materia orgánica dentro del digestor, varía con los parámetros del proceso, tales como temperatura y composición de los residuos. Bajo condiciones mesofílicas en rango es de 15 a 30 días y en condiciones termofílicas es de 12-14 días (Monnet, 2004). En la mayoría de los sustratos utilizados para la digestión anaerobia se requieren periodos largos de retención para disminuir la cantidad de SV y convertirse a biogás. Entre mayor sea la carga orgánica, mayor será el tiempo de residencia hidráulico para la disminución de los sólidos volátiles (Wilkie y col., 2004).

2.5.8. pH y Alcalinidad

El papel del pH es fundamental en el equilibrio amonio-amoniaco, teniendo por tanto una gran importancia en el proceso general, por ser el amoniaco libre un importante inhibidor de la fase metanogénica (Zeeman y col., 1985). El valor del pH determina la producción total de biogás y su composición, ya que por debajo de pH 6.2, la acidez del medio inhibe la actividad de las bacterias metanogénicas. El pH del medio es función de la alcalinidad bicarbonatada, de la presión parcial del dióxido de carbono y de la concentración de los ácidos volátiles. Las bacterias acetógenas y metanógenas son muy sensibles al pH, por lo que habitualmente debe mantenerse entre 6.6 y 7.6, con un rango óptimo entre 6.8 y 7.2 (McCarty, 1964). La alcalinidad es una medida del contenido de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos de calcio, magnesio, sodio y potasio fundamentalmente; se expresa en mg CaCO₃/l. La alcalinidad debe ser suficiente para contrarrestar este aumento y favorecer la estabilidad del proceso, por lo tanto la alcalinidad ayuda a resistir los cambios en pH causados por la adición de ácidos (Metcalf y col., 2003).

Etapa	Tipo de bacterias	Rango óptimo pH
Hidrólisis	Hidrolíticas acidogénicas	7.2 – 7.4
Acidogénesis	Hidrolíticas acidogénicas	7.2 – 7.4
Acetogénesis	Acetogénicas y homoacetogénicas	7.0 – 7.2
Metanogénesis	Metanogénicas hidrogenófilas y acetoclásticas	6.5 – 7.5

Tabla 4.- Rangos óptimos de pH para los diferentes microorganismos (adaptado de Elías et al., 2012)

2.5.9. Nutrientes

Las bacterias que intervienen en el proceso de Digestión anaerobia necesitan requerimientos nutritivos simples para su desarrollo, los principales son carbono, nitrógeno, fosforo y pequeñas cantidades de azufre, vitaminas, ácidos grasos, aminoácidos y minerales como K, Na, Ca, Mg y Fe en muy bajas concentraciones. (McCarty, 1964; Bryant y col. 1971; Bryant, 1974). El proceso anaerobio se caracteriza, frente a los procesos aerobios, por los bajos requerimientos de nutrientes, debido fundamentalmente a los bajos índices de producción de biomasa. A pesar de ello, la biomasa

necesita para su desarrollo el suministro de una serie de nutrientes minerales, además de una fuente de carbono y de energía. Cuando hay un poco nitrógeno disponible en el medio, las bacterias no son capaces de producir las enzimas necesarias para utilizar el carbono. Si hay exceso de nitrógeno, entonces puede existir una inhibición del crecimiento de las bacterias.

Nutrientes	g/Kg SSV	g/Kg DQO
Nitrógeno	80-120	55-85
Fosforo	10-25	7-18
Azufre	10-25	7-18
Hierro	5-15	4-11

Tabla 5.-Rangos de concentración de nutrientes, necesarios para el correcto crecimiento de las bacterias anaerobias (henze, 1995)

2.5.10. Concentración de sólidos

Para que un digestor opere cerca del óptimo con respecto a degradación de la materia orgánica y producción de biogás, es necesario considerar la concentración de sólidos. Comúnmente, el máximo contenido de sólidos que puede ser efectivamente tratado si el lodo debe ser bombeado a los digestores es de aproximadamente 8% ST ya que el mezclado puede volverse complicado (Hobson, 1990). La eliminación de sólidos en un agua residual antes de la entrada al reactor es importante y supone el aumento de la superficie disponible y mejora el proceso biológico en dos sentidos: incrementa el rendimiento de la producción de biogás y reduce los tiempos necesarios para la digestión. En general, las partículas más grandes presentes en los lodos son las más difíciles de manejar así como las menos biodegradables, por lo que es recomendable la separación de éstas, lo que hace al residuo más manejable sin mucha variación de la producción teórica de biogás (Lo *et al*, 1983; Summers *et al*, 1987). Cuando un agua residual tiene un alto contenido de sólidos se pueden utilizar diferentes pre-tratamientos antes de entrar al reactor anaerobio. Cuando los residuos tienen un contenido de sólidos mayor al 20 %, tienen que ser diluidos con otro residuo o agua para hacer posible la digestión en un reactor anaerobio. (Robbins *et al*, 1980).

2.6. Reactores Anaerobios de Flujo Ascendente (Upflow Anaerobic Sludge Blanket UASB).

Estos reactores solucionan el problema de recirculación de lodos al aumentar la concentración de biomasa en el reactor manteniéndola en su interior. Se trata de un reactor cuyo lecho está formado por gránulos de biomasa. Estos gránulos son porosos y con una densidad poco mayor que la del líquido, con lo que se consigue un buen contacto de éste con la biomasa. Los reactores suelen tener en su parte superior un sistema de separación gas-sólido-líquido, puesto que se acumula biogás alrededor de las partículas, éstas manifiestan una tendencia a ascender separándose con estos dispositivos. Se consigue una alta concentración de biomasa dentro del reactor que conlleva una elevada velocidad de eliminación de materia orgánica con rendimientos elevados de depuración. El agua residual se introduce por la parte inferior, homogéneamente repartida y ascendiendo lentamente a través del manto de lodos (gránulos). (Rodríguez y col; 2006). Los principales problemas que tiene este tipo de reactor son: puesta en marcha, ya que se ha de conseguir que se desarrollen gránulos lo más estables posibles, la incidencia negativa que tiene el que el agua residual a tratar contenga una gran cantidad de sólidos en suspensión y la deficiente mezcla en la fase líquida que se logra. Este último problema se soluciona de una forma eficaz recirculando parte del gas producido e inyectándolo en la parte inferior de equipo, consiguiendo una expansión del manto de lodos, y por lo tanto, una buena mezcla.

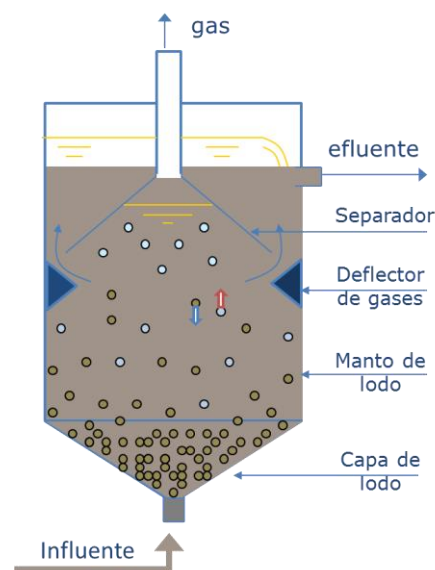


Figura 10.-Reactor Anaerobio de flujo ascendente (Curso Tratamiento de Aguas; 2002).

Ventajas	Desventajas
Menor producción de lodos y menores costos de operación.	Largos periodos de arranque, si no se cuenta con lodo adaptado.
El 90% de la energía es retenida como CH ₄ , No requiere energía. Acepta Alta cargas orgánicas, Requerimiento bajo de nutrientes, Requiere pequeña área superficial.	Por ser recientemente establecidos, tienen bajo desarrollo para aplicaciones específicas y existe poca experiencia práctica, sin embargo la situación respecto a esto está cambiando rápidamente.

Tabla 6.- Ventajas y desventajas del reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB).

2.7. Lodo granular anaerobio (Inóculo)

Los gránulos anaeróbicos son biopelículas particuladas, formadas espontáneamente por auto inmovilización de las bacterias anaerobias en ausencia de un soporte (Lettinga, 1995) Estas densas partículas, consisten en una mezcla de microorganismos anaerobios simbióticos que trabajan en conjunto durante la fermentación metanogénica (Maccarty, 2001). Cada gránulo es una unidad funcional comprendiendo todos los diferentes microorganismos necesarios para la degradación de la materia orgánica (Sekiguchi y col., 1998) y estos pueden incluir millones de microorganismos por gramo de biomasa. El gránulo está formado por varias capas, en donde la capa central está conformada por las bacterias metanogénicas acetoclásticas y rodeada por una capa de bacterias formadoras o bacterias que hidrolizan la materia orgánica compleja (MacLeod, 1990).

La granulación presenta ventajas tales como:

- Bajo condiciones de mezcla y choque hidráulico el gránulo permanece intacto.
- Facilita las interacciones simbióticas entre organismos adyacentes.
- A diferencia de las células libremente suspendidas, el crecimiento dentro del gránulo favorece el aprovechamiento de los nutrientes disponibles en el sustrato.
- La granulación protege las células de los organismos predadores
- Se minimiza la distancia de difusión para la fermentación de productos intermedios.

- Bajo condiciones donde la composición del sustrato es adversa para el crecimiento celular se crea un microambiente más favorable dentro del agregado, de manera que el metabolismo se pueda llevar a cabo (Hulshoff-Pol, 1989).

2.8. Procesos biológicos y compuestos estrogénicos.

Se ha comprobado en varios estudios que los compuestos estrogénicos como Estradiol (E2), Etinilestradiol (E1) y Estriol (E3), pueden tener cierto porcentaje de degradación en un proceso biológico de acuerdo a la población bacteriana que se encuentre en el proceso. La naturaleza de poblaciones microbiológicas adaptadas es una variable importante en el retiro de estrógenos (Layton et al; 2000) La investigación en la identificación de microorganismos que pueden dividir estrógenos con la aplicación posible al tratamiento de aguas residuales ha llevado a investigadores a explorar otras áreas. Por lo que existe la posibilidad de cultivar cepas con estas poblaciones microbiológicas e introducirlas en los reactores biológicos de plantas de tratamiento de aguas residuales lo cual podría reducir potencialmente las concentraciones y las actividades estrogénicas de los estrógenos soltados en el ambiente Sin embargo, hay poca investigación en la literatura sobre el camino de degradación conocido o metabolismo de estrógenos. Se requiere que el estudio adicional identifique el intermedio metabolitos y la que la completa mineralización tengan el retiro elevado aparente de las hormonas y bajen niveles estrogénicos en las aguas residuales. (Y.K.K. Koh, y col; 2008)

Bacterias	Fuente	Bacterias	Fuente
<i>Rodococcus erythropolis</i>	Ferrira, N.P. y col 1984.	<i>Ralstonia picketti</i>	Weber, S. y col 2006.
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	Watanabe, K. y col 1987.	<i>Fusarium proliferatum</i>	Shi, J.H. y col 2002.
<i>Novosphingobium tardaugens</i>	Fujii, K. y col 2002; 2003.	<i>Sphingomonas</i>	Yabbuchi, E. y col 1990.
<i>Rodosoccus zopfii</i>	Yoshimoto, T. y col 2004.	<i>Nitrosomonas europaea</i>	Fujisawa, S. y col 2004.
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	Weber, S. y col 2005.	<i>Sphingobacterium sp.</i>	Haiyan, R. y col 2007.

Tabla 7.-Bacterias degradadoras de Estrógenos (Editada Y.K., Koh, y col 2008)

2.9. Combinación de PAO's con tratamiento biológico

Los PAO's implican elevados costes si se compara con el tratamiento biológico convencional (Lapertot et al. 2007, García-Montaña 2006^a). Estos procesos de oxidación emplean normalmente altas cantidades de reactivos y, en ocasiones, requieren altos consumos de energía, por lo que los costes de operación son elevados. Sin embargo, en ciertas ocasiones, como cuando la solución a tratar contiene compuestos no biodegradables y/o tóxicos o contiene bajas concentraciones de materia orgánica, su uso se hace necesario (Sirtori et al. 2009, Wang et al. 2009, Lapertot et al. 2007). Con el fin de minimizar los costes asociados a su aplicación como tratamiento exclusivo en aguas no biorrecalcitrantes, una solución económicamente atractiva consiste en la combinación de algún PAOs, capaz de incrementar la biodegradabilidad de las aguas o eliminar la toxicidad, con un tratamiento biológico posterior, proceso que presenta la mejor relación coste-eficacia.

2.10. Procesos avanzados de oxidación (POA's)

Los Procesos de Oxidación Avanzada (POAs) fueron definidos por Glaze et al. (1987) como aquellos procesos y tratamientos de aguas a presión y temperatura cercanas a las condiciones ambientales, que implican la generación de radicales hidroxilo en cantidad suficiente para interaccionar con los compuestos orgánicos del medio. Un tratamiento de aguas residuales por POA puede dar lugar a la mineralización completa de los contaminantes a CO₂, agua, compuestos inorgánicos o, al menos a su transformación en productos inocuos.(Osorio; 2010) Una consecuencia de la elevada reactividad del agente oxidante es que los procesos avanzados de oxidación se caracterizan también por su baja selectividad; pero lo que en un proceso de producción puede ser una desventaja, es sin embargo una característica deseable en el caso de la eliminación de contaminantes de aguas residuales.(Rodríguez y col; 2006). Los POA, aunque usan sistemas reactantes diferentes, incluyendo los procesos de degradación fotoquímica, fotocatalisis, y procesos de oxidación avanzada, tienen la misma característica química, la producción de radicales hidroxilo (Osorio; 2010).

Especie	E₀ (V, 25°C)
Flúor	2.23
Radical Hidroxilo	2.06
Oxígeno Atómico	1.78
Peróxido de Hidrógeno	1.31
Permanganato	1.24
Dióxido de Cloro	1.15
Acido Hipocloroso	1.10
Cloro	1.00
Bromo	0.80
Iodo	0.54

Tabla 8.-Potenciales redox de algunos agentes oxidantes (Lergini; 1993).

En general las tecnologías de oxidación avanzada se utilizan en el tratamiento de aguas para efluentes contaminados de una alta estabilidad química y/o una baja biodegradabilidad (Poyatos, 2010).

Por otro lado, se trata de procesos que utilizan reactivos costosos, por lo que su utilización debe restringirse a situaciones en las que otros procesos más baratos, como los biológicos, no sean posibles. Su máximo potencial se explota cuando se consiguen integrar con otros tratamientos, como la adsorción o los tratamientos biológicos, a fin de conseguir la máxima economía de oxidante. (Rodriguez y col; 2006). Los radicales hidroxilos se generan in situ por la aplicación directa o por la combinación de agentes oxidantes como el ozono, el peróxido de hidrógeno, la radiación ultravioleta o las sales férrico/ferrosas. Entre la gran variedad de tecnologías disponibles las más comunes son la combinación UV y peróxido (UV/H₂O₂), el reactivo Fenton (Fe²⁺/H₂O₂), el foto-Fenton, que es una combinación de las anteriores, o la fotocatalisis (UV/TiO₂). (Catalkaya, 2008). Por último cabe decir que en contraste con el alto número de investigaciones y de patentes desarrolladas, la oxidación avanzada no ha tenido hasta la fecha una implantación real en el tratamiento de efluentes contaminados, siendo éste uno de sus retos a futuro.

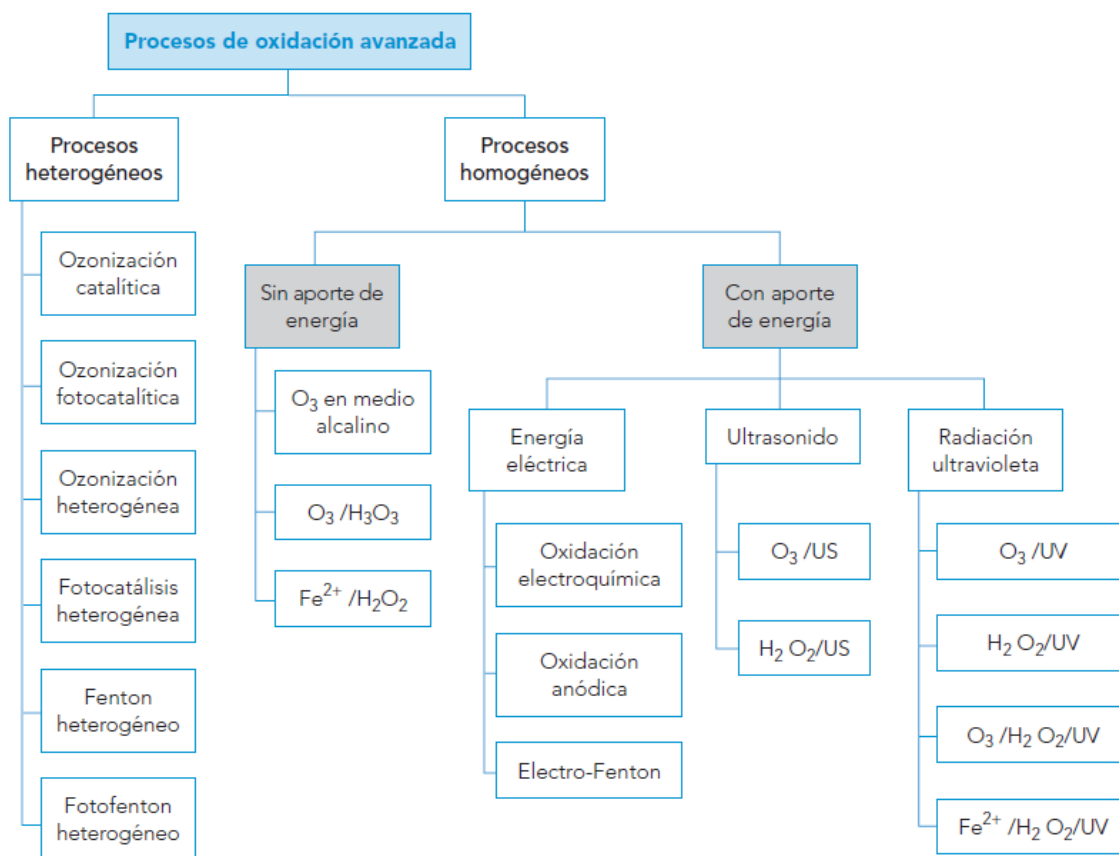


Figura 11.-Clasificación de los procesos de Oxidación Avanzada (J.J Rodríguez y col).

2.11. Reacción Fenton.

El reactivo Fenton fue descubierto hace aproximadamente un siglo, si bien su uso como proceso de oxidación en la destrucción de contaminantes orgánicos no se aplicó hasta finales de los años 60 (Tang, 1996). Este sistema se basa en la generación de los radicales hidroxilo ($\text{OH}\cdot$) a partir de los iones de hierro que actúan como catalizadores homogéneos, preferentemente a temperatura ambiente y pH ácidos (Eq. 1.1) (Walling, 1975; Bautista, 2008).

El potencial de este radical es muy alto (2.80 V), superior a cualquier oxidante tradicional como pueden ser el oxígeno, el ozono o el permanganato potásico, lo que le confiere la capacidad de oxidar la mayoría de contaminantes orgánicos y gran parte de los inorgánicos.



Ecuación 1

Cabe destacar que no todos los compuestos orgánicos reaccionan a la misma velocidad con el radical $\bullet\text{OH}$, sino que la reactividad del sistema es función de la naturaleza de los compuestos orgánicos presentes.

Reacción	k (M ⁻¹ s ⁻¹)	Referencia
$\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \bullet\text{OH}$	76	Wailing (1975)
$\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ + \bullet\text{OOH}$	0,01	Wailing (1975)
$\text{Fe}^{2+} + \bullet\text{OH} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^-$	$3,2 \times 10^8$	Stuglik yZagorski (1981); Buxton et al. (1988)
$\text{OH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \bullet\text{OOH} + \text{H}_2\text{O}$	$2,7 \times 10^7$	Buxton et al. (1988);Christensen et al. (1982)
$\bullet\text{OOH} \rightarrow \text{O}_2^{\bullet-} + \text{H}^+$	$1,58 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$	Bielski et al. (1985)
$\text{O}_2^{\bullet-} + \text{H}^+ \rightarrow \bullet\text{OOH}$	$1,0 \times 10^{10}$	Bielski et al. (1985)
$\text{Fe}^{2+} + \bullet\text{OOH} \xrightarrow{+\text{H}^+} \text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O}_2$	$1,2 \times 10^6$	Jayson et al. (1969); Rush y Bielski (1985)
$\text{Fe}^{3+} + \bullet\text{OOH} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ + \text{O}_2$	$3,1 \times 10^5$	Rush y Bielski (1985)
$\bullet\text{OH} + \bullet\text{OOH} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$	$1,0 \times 10^{10}$	Sehested et al. (1969)
$\bullet\text{OH} + \bullet\text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	$4,29 \times 10^9$	Sehested et al. (1969)
$\bullet\text{OOH} + \bullet\text{OOH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$	$8,23 \times 10^5$	Bielski et al. (1985)
$\text{Fe}^{3+} + \text{O}_2^{\bullet-} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2$	$5,0 \times 10^7$	Rothschild y Allen (1958)
$\text{Fe}^{2+} + \text{O}_2^{\bullet-} \xrightarrow{+\text{H}^+} \text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O}_2$	$1,0 \times 10^7$	Rush y Bielski (1985)
$\bullet\text{OH} + \text{O}_2^{\bullet-} \rightarrow \text{O}_2 + \text{OH}^-$	$1,0 \times 10^{10}$	Sehested et al. (1969)
$\bullet\text{OOH} + \text{O}_2^{\bullet-} \xrightarrow{+\text{H}^+} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$	$9,7 \times 10^7$	Bielski et al. (1985)
$\text{RH} + \bullet\text{OH} \rightarrow \text{R}^{\bullet} + \text{H}_2\text{O}$		Beltrán de Heredia et al. (2001)
$\text{R}^{\bullet} + \text{Fe}^{2+} \xrightarrow{\text{H}^+} \text{RH} + \text{Fe}^{3+}$		Beltrán de Heredia et al. (2001)
$\text{R}^{\bullet} + \text{R}^{\bullet} \rightarrow \text{R}-\text{R}$		Beltrán de Heredia et al. (2001)
$\text{R}^{\bullet} + \text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{R}^+ + \text{Fe}^{2+}$		Beltrán de Heredia et al. (2001)

Tabla 9.-Principales Reacciones descritas en el proceso Fenton (J.J Rodríguez y col).

2.11.1. Condiciones de operación.

En cuanto a las condiciones de operación óptimas el reactivo Fenton está condicionado por el pH, la concentración de peróxido y por la concentración del catalizador (Gogate, 2004; Bautista, 2008), entre otros factores. El pH tiene una gran influencia sobre la marcha del proceso. Su efecto está relacionado con el estado de oxidación en el que se encuentra el catalizador y que, a su vez, influye en la generación de radicales. El pH establecido como óptimo para el proceso Fenton es 3 (Bautista, 2004), algunos autores fijan este valor en 2.8 (Pignatello et al., 1992; Neyens y Baeyens, 2003) a esos valores ácidos los radicales hidroxilo reaccionan con los iones de hidrógeno, haciendo

disminuir la concentración de los primeros y por tanto el grado de oxidación (Pignatello, 1992; Gallard, 1998). A valores mayores que $\text{pH}=3$ el Fe^{3+} comienza a precipitar en forma de $\text{Fe}(\text{OH})_3$, interrumpiéndose la regeneración a Fe^{2+} . La formación de complejos por parte del ion ferroso puede dar lugar a una disminución del hierro libre en la disolución y por tanto a una disminución en la reacción con el peróxido para la formación de los radicales.

A medida que los valores de pH aumentan en torno a $\text{pH}=11$ también el peróxido sufre una reacción de auto descomposición. Son numerosos los autores que han estudiado la influencia del pH en el Fenton y por tanto existe una amplia literatura al respecto (Kitis, 1999; Lu, 2001; Neyens, 2003).

La concentración de peróxido juega también un papel importante en la eficacia del Fenton, ya que si bien por regla general la degradación de contaminante se ve favorecida con la concentración de oxidante, en ocasiones se alcanza un cierto valor límite en la concentración por encima de la cual no se observa una mejora en la degradación del contaminante. En ocasiones incluso un exceso de peróxido puede tener un efecto negativo. Es decir, el peróxido en exceso puede reaccionar con los propios radicales hidroxilo, disminuyendo la concentración de éstos en el sistema y por tanto la capacidad y grado de oxidación.

En la definición de las condiciones de operación del reactivo Fenton se consideran conjuntamente los dos parámetros anteriores, es decir, la relación de la concentración inicial de ion ferroso respecto a la concentración inicial de peróxido ($[\text{Fe}^{2+}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$). (Neyens, 2003; Rizzo, 2008) Sin embargo, se debe tener en cuenta que una elevada concentración de catalizador y/o un exceso de radicales en el medio puede disminuir la eficiencia del proceso al favorecerse las reacciones competitivas en las que los radicales no reaccionarían con la materia orgánica. Entre las principales ventajas del reactivo Fenton se encuentran su facilidad de operación, que la reacción discurre a temperatura y presión ambiental y que no son necesarias fuentes adicionales de energía. Por el contrario, este reactivo puede resultar poco eficiente económicamente por el coste del peróxido de hidrógeno o por la necesidad de un ajuste del pH. La principal desventaja de esta tecnología es la necesaria separación final del hierro utilizado como catalizador, que en ocasiones puede encontrarse en concentraciones superiores a los límites de vertido. Como alternativa a este último punto se han planteado soluciones mecánicas de recuperación de los lodos formados (Urriaga, 200; Banerjee, 2007). Algunas de estas desventajas pueden resolverse mediante la combinación del proceso Fenton con el tratamiento biológico (Mantzavinos et al., 2004; Tantak et al., 2006; Oller et al., 2007; Rodríguez et al., 2009).

En cualquier caso, el sistema Fenton es una tecnología de probada eficacia en la oxidación de compuestos orgánicos e inorgánicos a escala de laboratorio, con numerosa bibliografía relativa a una gran diversidad de compuestos. Además, el reactivo Fenton se ha utilizado satisfactoriamente en el tratamiento de efluentes reales, compuestos por mezclas provenientes de industrias de una alta complejidad en cuanto a su composición y en alta carga. (Bautista; 2008). La aplicación del proceso Fenton al tratamiento de aguas residuales industriales ha sido, hasta ahora, limitado debido a los altos requerimientos tanto de H_2O_2 , lo que supone un elevado coste operacional, como de hierro, que implica la generación de importantes volúmenes de lodos de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ tras la etapa de neutralización previa a su vertido (Barrault et al., 2000; Cañizares et al., 2009).

2.12. Aspectos fundamentales de la electroquímica.

La electroquímica constituye un amplio campo de las ciencias químicas y aborda el estudio de los cambios químicos que produce la corriente eléctrica y la generación de electricidad mediante reacciones químicas (Vante, 2002; Barrow, 1964). Todas las reacciones electroquímicas comprenden la transferencia de electrones y, por lo tanto, son reacciones de óxido-reducción. Los sitios de oxidación y reducción están separados físicamente, por un ánodo y un cátodo respectivamente. El sistema de aplicación se basa principalmente en una celda y una corriente de entrada y de salida por los electrodos.

2.12.1. Identificación de electrodos.

Los electrodos son superficies en las cuales tienen lugar las semi-reacciones de oxidación o de reducción, y pueden o no participar en las reacciones. Los electrodos que no reaccionan reciben el nombre de electrodos inertes y su contraparte recibe el nombre de electrodos activos.

Sin importar el tipo de celda, electrolítica o voltaica, los electrodos se identifican de la manera siguiente.

Cátodo: Es el lugar donde ocurre la reducción, al igual la especie gana electrones.

Ánodo: electrodo donde ocurre la oxidación, al igual la especie pierde electrones.

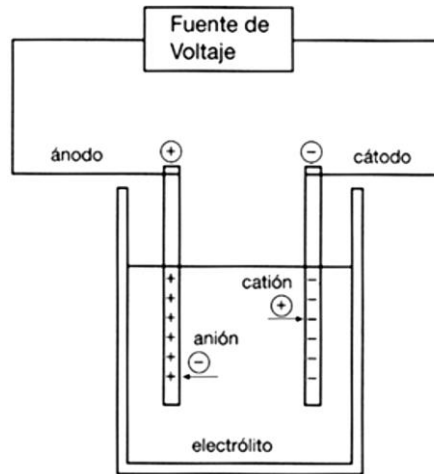


Figura 12.-Celda electrolítica (Castillo 2010).

2.13. Proceso Electroquímico de Oxidación Avanzada.

La electro oxidación avanzada se realiza en una celda electroquímica que se compone por electrodos de trabajo. El electrodo de trabajo en donde ocurre la oxidación es definido como ánodo y el contra electrodo se denomina como cátodo. Los electrodos están inmersos en una solución que contienen moléculas de interés que sean capaces de conducir corriente eléctrica. Frecuentemente a la celda electroquímica se le agregan iones que no participen en la reacción del electrodo llamado “Electrolito de Soporte”, de esta forma se aumenta la conductividad eléctrica.

En los electrodos la carga se mueve por las bandas de conducción del metal pero cuando los electrones llegan al electrolito, los iones disueltos en él son responsable del transporte de la carga y puede llevar esta tarea a cabo a través de 3 métodos (Iniasta, 1999).

La electro oxidación puede ser directa e indirecta. En el primer caso, el contaminante se oxida directamente mediante una reacción de transferencia de carga. En cambio, la EO indirecta el contaminante se oxida gracias a la acción de especies oxidantes formadas durante la oxidación del agua en el ánodo dando lugar a radicales hidroxilos fisisorbidos y protones. El ánodo puede ser de diferentes materiales y su naturaleza condiciona en gran medida la eficiencia del proceso. Por otro lado existen los electrodos clasificados como no activos, se consideran inactivos por que los radicales fisisorbidos permanecen estables lo que permite su disponibilidad para lograr la completa mineralización del contaminante, los electrodos activos, cuando el potencial anódico

sobrepasa al de formación de O₂ ($E^\circ=123$ V vs SHE) reaccionan con radicales hidroxilo fisiadsorbidos M (\bullet OH) dando lugar a superóxidos quimiadsorbidos. Estos superóxidos poseen menor poder oxidante, lo que da lugar a que el contaminante inicial se degrade solo hasta ácidos carboxílicos de cadena corta. (Comninellis y col 1996; E-Ghenymy y col 2012).

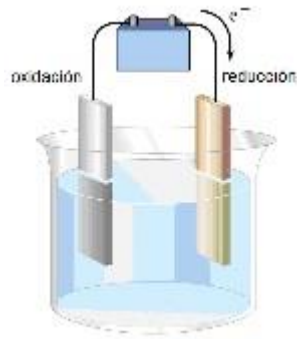


Figura 13.- Proceso Electroquímico de oxidación avanzada (izt.uam.mx).

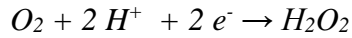
2.13.1. Electroquímica y reacciones.

La electroquímica es la rama de la química dedicada al estudio de la interacción y correlación de los procesos químicos y eléctricos mediante las reacciones de óxido-reducción. Algunas de las principales técnicas electroquímicas son: electrocoagulación, oxidación electroquímica y procesos de electro-Fenton. En este tipo de reacciones se produce básicamente, un intercambio entre los electrones de los electrodos y los iones o moléculas de la solución, mediante la aplicación de una diferencia de potencial, que genera una corriente donde los electrones fluyen desde el punto más negativo hasta el más positivo. Para que estas reacciones se lleven a cabo, inevitablemente ocurrirá la polarización de los electrodos, la cual es definida como la desviación del potencial aplicado respecto al potencial de equilibrio por el paso de corriente. Este cambio de potencial es conocido como sobre potencial, el cual puede ser controlado aumentando la conductividad de la solución, el área efectiva de los electrodos o la distancia entre ellos.

En la oxidación electroquímica, la aplicación de corriente eléctrica (de 2 a 20 A) entre dos electrodos en agua, produce la generación de radicales hidroxilo OH \cdot y la producción de peróxido de hidrógeno en el medio de reacción. Las reacciones que se llevan a cabo son (Martínez O):



Ecuación 2



Ecuación 3

Estos sistemas de oxidación emplean normalmente altas cantidades de reactivos y, en ocasiones, demandan altos consumos de energía, por lo que los costos de operación son elevados. No obstante, en ciertas ocasiones su uso se hace necesario. Una solución económica interesante consiste en la combinación de algún POA's, capaz de aumentar la biodegradabilidad de las aguas, con un post-tratamiento biológico, presentando así, una mejor relación entre costo y eficacia. Otra alternativa es la utilización de un POA's como post-tratamiento luego de un proceso biológico, eliminada la mayor parte de la materia orgánica se reducen los costos asociados al POAs. (Ugurt Kurt y col 2007). En el proceso electro-Fenton, se emplea una mezcla de peróxido de hidrógeno y una sal de hierro (II), conocido como reactivo Fenton, y tiene lugar en ausencia de luz ultravioleta.

Las condiciones de operación y la composición del agua residual afectan sustancialmente a la eficacia y velocidad del proceso de oxidación. Los principales parámetros que influyen son: pH, relación Fe^{2+}/H_2O_2 , concentración de aniones inorgánicos y temperatura. Algunas de las ventajas y desventajas con las que cuenta el método de electro-Fenton se resumen en la *Tabla 11*.

Ventajas	Desventajas
Trabaja a temperatura y presión ambiente.	Se requiere estricto control del pH.
El hierro es un elemento abundante y no toxico, El H2O2 es fácil de transportar y manejar,	Finalizado el proceso, se necesita una etapa de neutralización para separar el hierro, generando un lodo que se ha de gestionar adecuadamente.
El equipamiento y mantenimiento de una planta de tratamiento electrofenton es relativamente sencillo.	No se logra una completa mineralización de todos los contaminantes orgánicos, pero si un incremento de la biodegradabilidad.

Tabla 10.-Ventajas y desventajas del tratamiento electrofenton.

2.13.2. Electro-Fenton.

El electro-Fenton es un proceso que se incluye en el grupo de los métodos de electro-oxidación indirecta con oxidantes fuertes. Estos métodos necesitan la presencia de un oxidante con gran poder de oxidación para degradar oxidando el contaminante. Estos métodos consiguen una reacción homogénea de los contaminantes orgánicos presentes en nuestra muestra a descontaminar con potentes oxidantes generados mediante un proceso de electrólisis, descontaminando aguas parcial o totalmente tintadas. Existen varios métodos en este grupo, como el que utiliza Cloro activo como oxidante.

Esta técnica ha despertado un interés importante por su compatibilidad medioambiental y su efectividad. La generación constante de peróxido de hidrogeno necesario en el proceso resulta gracias a la oxidación de dos átomos de O_2 gracias al cátodo de difusión de oxígeno y un potente ánodo (Bautista 2011). La reacción entre estas dos especies ($FeSO_4$ y H_2O_2) en el medio homogéneo permite la formación de radicales $\cdot OH$ (Ecuación 6) (Oturán, 2000; Oturan et al, 2001; Brillas et al., 2005). Por otra parte, la oxidación de Fe_2^+ regenerada a Fe_3^+ se puede producir al mismo tiempo (Ecuación 7) en la superficie del ánodo. Por otra parte la reacción (Ecuación 6) es la que se produce en la mayor parte debido a la limitada área de superficie de ánodo. Finalmente, las especies de hierro (Fe_3^+ / Fe_2^+) pueden reaccionar con las especies reactivas formadas a partir de reacciones anódica y catódica (Ecuación 8-10) (Sirés et al., 2007). El efecto global de estas reacciones influye en el proceso de mineralización de los compuestos orgánicos en el Electro-Fenton tratamiento.



Debido a que la producción de $\cdot OH$ no implica el uso de reactivos químicos nocivos que pueden ser peligrosos para el medio ambiente, los procesos electroquímicos pueden ser vistos como técnicas respetuosas con el medio ambiente. En conclusión, estos procesos parecen ser muy

prometedor para la purificación de agua contaminada con contaminantes orgánicos persistentes y tóxicos.

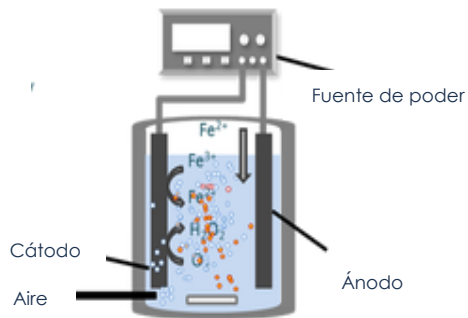


Figura 14.-Proceso Electroquímico Electro Fenton (Bioprocesos.uvigo.es).

3. Justificación

La alteración de productos endocrinos en aguas residuales tratadas en particular las hormonas esteroides es muy conocida y hay preocupaciones sobre el efecto adverso que estas pueden tener en el medio ambiente y los seres humanos. Particularmente hormonas esteroides como 17β Estradiol y 17α Etinilestradiol que se encuentran entre las más potentes. Estas hormonas esteroides se han detectado en vertidos procedentes de instalaciones de tratamiento de aguas residuales a través del mundo a niveles en los que son capaces de causar alteraciones endocrinas y los tratamientos convencionales no son eficaces en la eliminación de estas sustancias químicas por debajo de sus concentraciones potencialmente dañinas.

Es por eso que el uso de procesos biológicos y procesos de oxidación avanzada en conjunto para la eliminación de hormonas en aguas residuales crea grandes expectativas ya que aún no se ha encontrado un proceso eficaz para la eliminación de estas moléculas recalcitrantes. La mayoría de las veces en el tratamiento de aguas residuales es muy común un proceso biológico como la digestión anaerobia pero en algunos casos no proveen buenos resultados en la remoción de contaminantes recalcitrantes ya que solo se encarga de la eliminación de la carga orgánica. Es por esta razón que la aplicación de un proceso de oxidación avanzada (POA) como un post-tratamiento puede ser la solución al tratamiento de aguas con contaminantes orgánicos como lo son las hormonas y a su posterior remoción.

Estos procesos de oxidación han sido reconocidos por una alta eficiencia en su aplicación, logrando degradar una gran variedad de contaminantes por la acción de radicales hidroxilo los cuales presentan un alto potencial de oxidación. Estos son procesos que en la actualidad están considerados como la mejor técnica para la depuración de compuestos recalcitrantes, tóxicos y no biodegradables, podrían eliminar las hormonas y así dar una mejor calidad al agua.

El conjunto de estos procesos beneficiara para que estos procesos sean más económicos y sencillos disminuyendo costos en la inversión de reactivos; por lo que será más accesible y viable el poder tratar el agua de granjas lecheras o industrias en las que se encuentren estas moléculas recalcitrantes obteniendo resultados positivos.

4. Objetivos

4.1. Objetivo General

Proponer una combinación de procesos biológicos con procesos de oxidación avanzada para la eliminación de moléculas recalcitrantes, como las hormonas, además de la alta carga orgánica, sólidos y grasas contenidas en las aguas residuales de ranchos lecheros.

4.2. Objetivos Específicos

Determinar la eficiencia del tratamiento de aguas residuales de granjas lecheras mediante Digestión anaerobia.

Investigar sobre las diferentes hormonas que pueden estar presentes en las aguas residuales de granjas lecheras.

Proponer un método adecuado para la detección de hormonas en aguas residuales.

Probar procesos de oxidación avanzada para encontrar uno que sea adecuado y eficiente para la eliminación de hormonas en aguas residuales.

Proponer un tren de tratamiento para este tipo de aguas residuales, que reduzca la cantidad de carga orgánica, al mismo tiempo que elimina las moléculas recalcitrantes, como las hormonas.

5. Hipótesis

La combinación de un proceso biológico, como la digestión anaerobia, y un proceso de oxidación avanzada en el tratamiento de aguas residuales de granjas lecheras, permitirá obtener un agua tratada libre de materia orgánica, grasas y aceites, así como la remoción de hormonas persistentes.

6. Metodología

A continuación se describe la metodología utilizada para el desarrollo de los experimentos llevados a cabo en la tesis, empezando desde el muestreo para la caracterización de agua residual, recolección de las muestras para los reactores UASB en el laboratorio, análisis fisicoquímicos del agua residual y tratada, pruebas de lodo granular anaerobio, las pruebas de oxidación avanzada y los análisis realizados para verificar la eficiencia de los procesos hasta la determinación de la hormona en aguas residuales por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución.

6.1. Muestreo de agua residual.

Las muestras de agua residual recolectadas para este proyecto de tesis se obtuvieron de una planta tratadora de aguas residuales de una granja lechera con ubicación en el Municipio del Marqués, Querétaro. Las muestras fueron tomadas en la parte de llegada de las aguas residuales de la planta antes de la entrada para su tratamiento, el muestreo y la caracterización se realizaron para conocer las características y parámetros de la muestra de agua residual, ya que pueden estar sobre el límite máximo permisible que la norma establece. Se decidió realizar un muestreo puntual para que las muestras tomadas fueran representativas de las condiciones originales a las cuales el agua residual es descargada, después de determinar esto se realizaron las visitas a la granja para la toma de muestras durante la etapa de experimentación con diferentes fechas de muestreo empezando el 5 de agosto del 2013 al 4 junio 2014. La recolección del agua residual se hizo en garrafas de 20 litros previamente enjuagadas con agua residual para evitar interferencias para su posterior análisis y a continuación se almaceno en un cuarto frio a 4°C para evitar la degradación de la materia orgánica por algunos microorganismos presentes en la muestra.

6.2. Tratamiento preliminar de Agua residual

6.2.1. Cribado

El agua residual se homogenizó agitando las garrafas de 20 litros varias veces para posteriormente hacerla pasar por un tamiz de malla del número 16 para eliminar los sólidos de mayor tamaño, residuos de pelo y comida del ganado, esto se hizo para el mejor funcionamiento de la bomba peristáltica al momento de bombear el agua residual de un garrafón hacia el reactor UASB; así evitando la obstrucción de las mangueras del reactor.

6.2.2. Sedimentación.

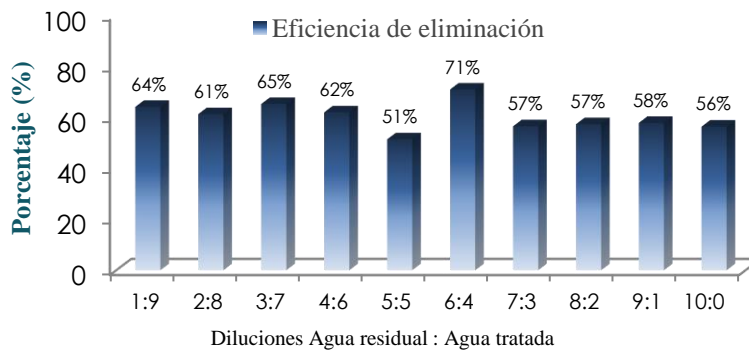
Después del paso de cribado se llevó a cabo el paso de la sedimentación para así sedimentar sólidos y arenas en la muestra, de la misma manera para evitar problemas con el bombeo de la muestra al reactor ya que al eliminar la mayoría de los sólidos se aumenta la superficie de contacto entre las bacterias y el sustrato provocando mayor producción de biogás.



Figura 15.-Tratamientos preliminares de la muestra de agua residual.

6.2.3. Diluciones de la muestra.

En la mayoría de los casos uno de los principales inhibidores del proceso de digestión anaerobia son las altas cargas orgánicas, estos procesos necesitan de la adición inicial de los microorganismos necesarios para que se lleve a cabo la degradación de la materia orgánica, por lo que se debe tomar en cuenta que la alimentación inicial del digester debe ser con una baja carga orgánica volumétrica para que así los microorganismos se adapten al nuevo sustrato, ya que si existe una sobrecarga en el reactor este tendería a acidificarse siendo un paso irreversible. Al inicio se hizo una dilución de la muestra 1:9 Agua residual: agua tratada, para evitar la desestabilización del reactor, y según se iba aclimatando al sustrato, la relación de la dilución fue disminuyendo hasta que la muestra de agua residual entrara directamente al reactor sin necesidad de ninguna dilución, empezando así a trabajar con una carga orgánica volumétrica promedio de 2.5 Kg DQO/m³ d y teniendo una estabilidad del reactor con eficiencias de eliminación de entre 50 y 70 %.



Gráfica 1.-Porcentaje eficiencias de eliminación carga orgánica.

6.3. Caracterización del Agua Residual

La caracterización de la muestra en el influente es para conocer los parámetros con los cuales entra la muestra al reactor y hacer una comparación con el efluente, también para darle un seguimiento al tratamiento de las aguas residuales en el reactor y observar su correcto funcionamiento, además de que así se mantiene estandarizada la entrada del sustrato al reactor y se evita la desestabilización de este. Se usaron diferentes técnicas fisicoquímicas para la caracterización del efluente, de acuerdo a normas establecidas donde se mencionan los límites máximos permisibles para cada uno de estos parámetros. Los parámetros seleccionados para la caracterización fueron: DQOt, DQOs, Alcalinidad total y parcial, pH, Ácidos grasos volátiles, grasas y aceites, sólidos y nitrógeno amoniacal, ya que algunos de estos nos indican la calidad de la muestra a la entrada y salida del tratamiento y la estabilidad del reactor UASB.

Técnica	Referencia
Demanda Química de Oxígeno	NMX-AA-030-SCFI-2001
Determinación del Potencial de Hidrógeno	
Alcalinidad Total	APHA (1995)
Alcalinidad Parcial	APHA (1995)
Ácidos Grasos Volátiles	Jenkins y col., (1983)
Sólidos (ST, SV, SST, SSV)	NMX-AA-034-SCFI-2001
Determinación de Nitrógeno Amoniacal	Manual del equipo HACH DRU/4000
Grasas y Aceites	NMX-AA-005-SCFI-2000

Tabla 11.-Técnicas fisicoquímicas utilizadas para la caracterización de influente y efluente.

6.4. Inóculo.

Se usó como inóculo un lodo granular anaerobio obtenido de una planta piloto de tratamiento de aguas residuales, que en trabajos anteriores ya había sido caracterizado (Flores, 2008) determinando varios parámetros importantes para ver la eficiencia y estabilidad del lodo, de los parámetros más importantes tomados en cuenta son los sólidos suspendidos volátiles ya que de una manera indirecta nos indica la producción de biomasa en él reactor y otro parámetro importante es la actividad metanogénica específica que nos indica la capacidad del inóculo para producir metano. Según la caracterización hecha por Flores en 2008 este lodo tiene una actividad metanogénica de 1.32 g DQO/g SSV*d. lo que indica que es un alto productor de metano.

TÉCNICA	REFERENCIA
Determinación de Sólidos Totales (ST), Sólidos volátiles (SV), Sólidos Suspendidos Totales (SST)	NMX-AA-034-SCFI-2001; APHA (1995)
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	
Índice Volumétrico de lodos (IV)	APHA (1995)
Actividad Metanogénica Específica (AME)	Rozzi y Remigi (2004)

Tabla 12.-Técnicas fisicoquímicas utilizadas para la caracterización del inóculo.

6.5. Reactores UASB.

Para llevar a cabo el proceso de Digestión anaerobia se trabajó con un reactor de flujo ascendente a escala, hecho de acrílico con un volumen de 7 L, cilíndrico y enchaquetado para poder controlar la temperatura del reactor.

Este tipo de reactores cuentan con la entrada del influente en la parte inferior, la cual se maneja por medio de bomba peristáltica para la entrada de la muestra al reactor, que entra en contacto con la cama de lodos y es en esta parte donde se lleva a cabo el proceso de digestión anaerobia pues los microorganismos empiezan con la degradación de la materia orgánica, después del tratamiento el reactor también cuenta con la salida del efluente en la parte superior y una salida para la producción de metano.

Después de la aclimatación de los lodos y la estabilización del reactor con el nuevo sustrato, se hizo un diseño de experimentos para conocer los parámetros con más influencia en el proceso de digestión anaerobia. Se llevó a cabo un diseño de experimentos 2^2 que consiste en dos factores con dos niveles cada uno y 8 corridas con su respectiva replica siendo así un total de 16 experimentos. Según la literatura los parámetros más importantes en este tipo de procesos son: carga orgánica volumétrica que es la cantidad de materia orgánica que entra al reactor, el tiempo de retención hidráulico que indica el tiempo que el agua residual se encuentra dentro del reactor y temperatura, mencionando que a temperaturas elevada hay mayores eficiencias pero es más posible la desestabilización del reactor.

Tomando en cuenta que los primeros dos parámetros se controlan mediante el flujo, se decidió trabajar con los parámetros de Carga orgánica volumétrica con un nivel alto de 3.5 kg DQO/m³ d. y un nivel bajo de 2.5 kg DQO/m³ d. esto dependiendo de la muestra de agua residual y su carga orgánica; y el parámetro de temperatura tomando como nivel alto una temperatura termófila con rangos de (45-55°C) y un nivel bajo con una temperatura Mesófila que se llevó a cabo en temperatura ambiente obteniendo los siguientes resultados en porcentaje de eficiencia mostrados en la tabla(6.2).

COV	Temperatura
2.5	Mesofila
3.5	Termófila
3.5	Termófila
3.5	Mesófila
2.5	Mesófila
3.5	Mesófila
2.5	Termófila
2.5	Termófila

Tabla 13.-Matriz de Diseño de experimentos Digestión Anaerobia

Al obtener los datos de respuesta del diseño de experimentos, estos se analizaron en el programa Minitab 15 obteniendo la siguiente gráfica de Pareto que nos indica los factores más influyentes en la respuesta de nuestro proceso.

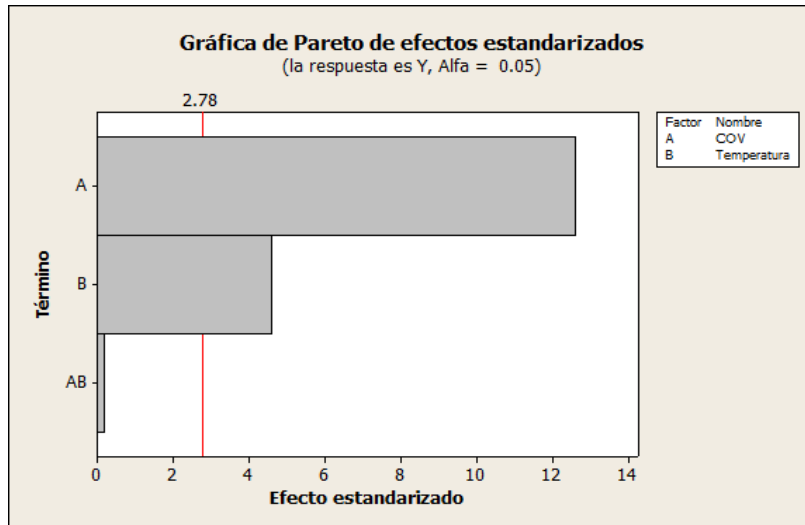


Figura 16.-Análisis de respuestas de Diseño de experimentos Digestión Anaerobia.

Se observó que el parámetro con mayor efecto en la respuesta del proceso de digestión anaerobia fue la carga orgánica volumétrica. El efecto de la temperatura en el proceso no fue tan significativo, incluyendo que aumentaría costos por el uso de energía eléctrica; por lo que se tomó la decisión de trabajar a temperatura ambiente tomando como único parámetro inicial la carga orgánica volumétrica.

6.6. Operación del reactor Anaerobio.

El reactor se inoculó con 2 L de lodo granular anaerobio con una actividad metanogénica específica (AME) de 1.32 g DQO/ g SSV*d y una concentración de SSV de 62.4 g/L (Flores, 2008). Los tiempos de retención hidráulica fueron de 18 horas, trabajando a una temperatura ambiente.

Después de determinar las condiciones de operación para el proceso de digestión anaerobia se alimentó el reactor con el sustrato sin hacer ninguna dilución, esto para que el tratamiento se llevara a cabo con el agua tal cual sale de las granjas.

Se evaluaron varios parámetros según las normas mexicanas y Standard Methods, los parámetros tomados en cuenta fueron: DQOs, DQOt, Alcalinidad parcial y total, relación α , nitrógeno amoniacal, AGVs, sólidos y grasas y aceites.

El reactor se operó de acuerdo a las siguientes condiciones:

Condiciones de entrada Reactor	
UASB	
Volumen	7 L
Flujo	6.5 mL/min
T.R.H.	18 h
C.O.V.	2.5 Kg /m3 d
pH	7-8
Temperatura	Ambiente

Tabla 14.-Condiciones usadas en el reactor UASB.



Figura 17.-Tratamiento de aguas residuales en Reactor UASB escala laboratorio 7(L).

6.7. Trazador hormonal 17 β Estradiol.

La determinación de hormonas en las muestras tanto del influente como del efluente del reactor UASB y de los tratamientos de Fenton y ElectroFenton se llevó a cabo mediante HPLC (High Performance Liquid Chromatography). El trazador hormonal seleccionado para darle seguimiento a la eliminación de hormonas en aguas residual fue 17 β Estradiol, en base a la literatura que menciona que esta es una hormona natural producida en el organismo femenino con grandes

impactos tanto en la fauna como en el organismo humano, es una de las hormonas naturales de las cuales se encuentran en mayor cantidad en aguas residuales.

Los análisis se realizaron a la muestra de agua en el influente del reactor UASB para determinar si esta hormona se encontraba en el agua, por el detector usado en este cromatógrafo no fue posible detectar concentraciones menores a 0.5 mg/L, por lo que se tuvo la necesidad de aplicar la hormona a la muestra en una concentración conocida y observar el comportamiento del reactor UASB y darle seguimiento a la degradación de esta mediante los tratamientos aplicados.

6.8. Reactivo de Fenton.

Para la generación del radical hidroxilo fue necesaria la adición de los siguientes reactivos en la muestra de agua residual.

- Peróxido de hidrógeno, H₂O₂; Reactivo Baker ACS 30%.
- Sulfato ferroso, FeSO₄·7 H₂O; Baker Analyzed ACS.



Figura 18.-Reactivos usados para llevar a cabo la reacción Fenton.

6.8.1. Sistema y procedimiento experimental de reacción Fenton.

El sistema experimental que se usó para llevar a cabo estos experimentos consistió en mantener en agitación 150 mL de muestra de agua proveniente del reactor UASB en un vaso de precipitado de 250 mL, después de agregar los reactivos necesario para la reacción Fenton en un intervalo de 100 a 400 rpm para asegurar la mezcla homogénea en el medio de reacción; como se muestra en la *Figura 21*.

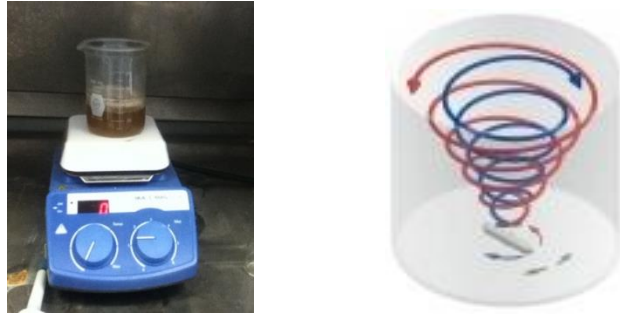


Figura 19.-Sistema experimental para Fenton químico.

En algunas pruebas preliminares al diseño de experimentos se probó filtrar las muestras para eliminar los sólidos del agua residual y averiguar si estos producen algunas interferencias en la reacción Fenton y mejorar el proceso de la mineralización de la materia orgánica; las pruebas filtradas dieron mejores resultados pero aun así se tomó la decisión de que las pruebas del diseño de experimentos se llevaran a cabo sin filtrar las muestras ya que la concentración de sólidos no era tan alta y aplicar filtración implicaría costos más altos. Una de las principales condiciones de operación para llevar a cabo la reacción Fenton es un pH ácido para esto empleó ácido sulfúrico (H_2SO_4) 5M para ajustar el pH inicial a un valor de entre 2 y 3 ya que nuestras muestras se encontraban en un pH aproximado de 8.



Figura 20.-Ajuste de pH del efluente con H_2SO_4 5M.

Las cantidades de los reactivos que se usaron dependieron de la carga orgánica contenida en la muestra; como primer paso se agregó el $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ esperando a que se disolviera en la muestra

y enseguida se agregó en un solo paso el H_2O_2 lentamente así iniciando la reacción de oxidación de Fenton.

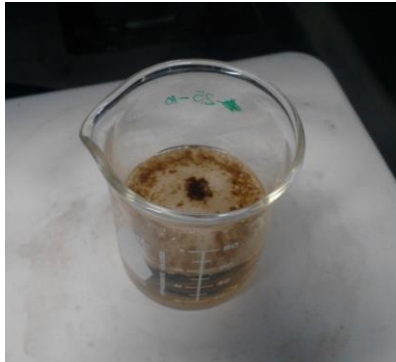


Figura 21.-Formación de lodos durante la reacción Fenton.

El tiempo dependió de los resultados de las combinaciones de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_2O_2 en el diseño de experimentos. Al finalizar el tratamiento se ajustó el pH del efluente tratado a un valor próximo de pH de 11 utilizando hidróxido de sodio (NaOH) 5M provocando la precipitación del hierro añadido al proceso, por último se dejó precipitar y se filtró el sobrenadante analizando las muestras posteriormente.



Figura 22.-a) Neutralización de las muestras usando NaOH b) Filtrado de las muestras para remover los lodos.

Como se mencionaba anteriormente la reacción de Fenton está condicionada por pH, concentración de peróxido y concentración del catalizador esto para obtener resultados eficientes durante el proceso, por lo que en el diseño de experimentos se tomaron en cuenta los últimos dos parámetros

en un tiempo de 3 horas, tomando muestras cada media hora para determinar la eficiencia del proceso conforme el tiempo. Para la determinación de las concentraciones se compararon las principales características de nuestra agua residual (Tipo de agua y concentración de carga orgánica), con características similares en otros estudios realizados en los cuales se obtuvieron buenos resultados usando estas relaciones y concentraciones de reactivos.

Relación	FeSO ₄ (mg/L)	H ₂ O ₂ (mL/L)
1:36	1	25
1:15	2.5	25
1:6	2.5	10
1:15	1	10

Tabla 15.-Relaciones de concentraciones matriz Diseño de experimentos Fenton.

Y también se tomó en cuenta llevar a cabo un experimento en el cual se usara la relación de reactivos con mayor eficiencia, pero antes se seleccionó la dosis óptima para poder obtener el peróxido de hidrógeno estequiométrico necesario para llevar a cabo la oxidación de la materia orgánica.

Esta reacción establece una relación entre la DQO (oxígeno necesario para oxidar la muestra) y el agente oxidante. La relación es de 1g de DQO= 0.03125 mol O₂ = 0.0625 mol H₂O₂ [Ince et al. 1999].

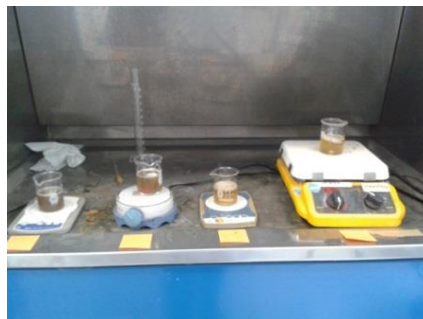


Figura 23.- Pruebas de la reacción Fenton según la matriz del diseño de experimentos.

Los análisis para la caracterización del tratamiento Fenton fueron: Carbono orgánico total y Demanda química de oxígeno para determinar la eficiencia del proceso en la degradación de materia orgánica y por último se hizo un análisis del efluente con cromatografía de líquidos de alta resolución para confirmar la eliminación de la hormona presente en el agua.

En la *Figura 26*. Se muestra un esquema del procedimiento experimental:

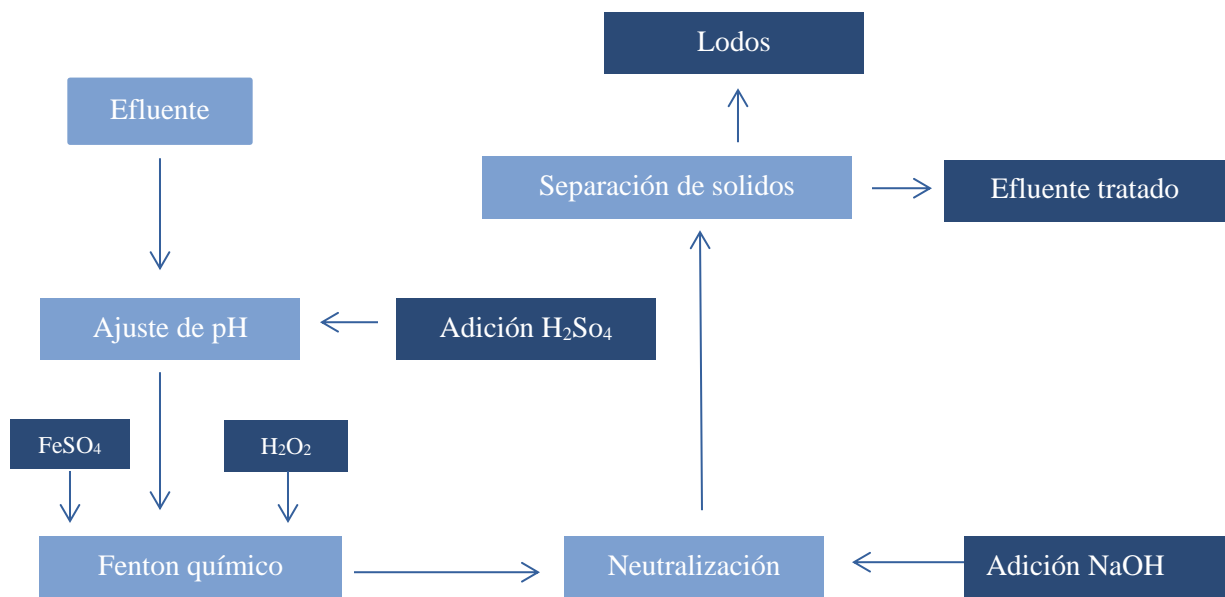


Figura 24.-Esquema del procedimiento experimental reacción Fenton.

6.9. Electro oxidación y Electrofenton

Los experimentos hechos en esta parte del proyecto han sido realizados en una celda electroquímica de tipo filtro prensa y con un volumen de capacidad de 3 L. Los electrodos usados dependieron de las pruebas hechas ya que en las primeras pruebas de electro oxidación que se llevaron a cabo se usó un ánodo de Diamante dopado con boro y un cátodo de acero inoxidable, y para las siguientes pruebas de Electrofenton se llevaron a cabo con un cátodo y ánodo ambos de Diamante dopado con Boro los cuales se activaron con una solución de ácido perclórico por un tiempo de 1 hora para eliminar las posibles impurezas de su superficie. La Celda electroquímica se muestra en la *Figura 27*.



Figura 25.-Celda electroquímica tipo filtro prensa.

Para iniciar las pruebas nuestra celda tipo filtro prensa contaba con una bomba peristáltica, los electrodos (ánodo y cátodo), una fuente de alimentación en donde se controló la densidad de corriente para alimentar la celda, un reservorio para poder tomar las muestras y las llaves de desagüe para el momento de la limpieza de la celda electroquímica. En la celda electroquímica es donde se da la formación de peróxido de hidrogeno por medio de los electrodos que están conectados a una fuente de alimentación, es por esto que es muy importante el correcto armado de la celda ya que algún tipo de fugas o algún fallo en el funcionamiento se puede deber a la existencia de fugas en el sistema.



Figura 26.-Armado de celda e instalación de los electrodos.

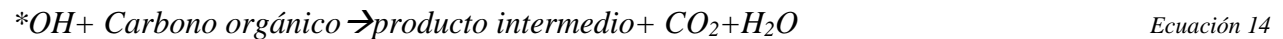
La superficie del reactor, de la toma de contacto de ánodo y cátodo con la fuente de alimentación, fue de 64 cm² que será la superficie a tener en cuenta para calcular la densidad de corriente total que estará usando la celda. Algunas de las reacciones que se llevan a cabo en la celda electroquímica son las siguientes:



El uso del ánodo de BDD acoplado se genera las siguientes reacciones:



Obteniendo los siguientes productos:



Como productos finales se obtiene el agua tratada con baja carga orgánica, peróxido de hidrogeno que se descompondrá químicamente, el electrolito disuelto (Na₂SO₄) y el CO₂ se volatilizará.

6.9.1. Condiciones usadas en los experimentos

Electrolito: La concentración de electrolito usada fue 0.3 M de Na₂SO₄ para mantener una buena conductividad en nuestra muestra de agua residual, debido a que si la conductividad es muy baja la fuente de poder se puede forzar y dañar al aplicar el potencial.

pH: Este parámetro es usado en la parte de Electrofonton, debido a que el pH de nuestra muestra se encontraba entre 8.3 y 8.2 se prosiguió a bajar su pH para que permaneciera ente 2 y 3 debido a la necesidad de un pH ácido para el correcto funcionamiento del proceso Electrofonton. Es necesario que sea entre estos rangos ya que en la producción de peróxido tiende a descender y es necesario que este se mantenga fijo.

Bombeo de oxígeno: Se usaron pequeñas bombas de pecera las cuales proporcionaron oxígeno a nuestra muestra para la producción de H₂O₂ en el medio. Este procedimiento solo fue aplicado a las

pruebas de Electrofenton, para que se llevaran de manera adecuada las reacciones entre H₂O₂ y las sales de hierro.

Concentraciones de NaCl y FeSO₄: NaCl es usado en los experimentos de electro oxidación, las concentraciones usadas fueron de 3g/L y 4.5g/L esto es porque en el ánodo se producen especies oxidantes en este caso cloro que proveniente de la oxidación de los cloruros presentes en el agua, que son liberados al agua y son éstos los que realmente oxidan a la materia orgánica presente en el agua. El FeSO₄ se usó en concentraciones de 0.5 y 0.7 mM este se necesita para que la reacción Fenton inicie, debe tener cierta relación con el peróxido para que no existan interferencias en las reacciones, o al contrario aporte cierta contaminación a la muestra ya que si existe un exceso de hierro puede hacer más lenta la reacción formando complejos.

Densidad de corriente: Esta se ve afectada dependiendo de los amperios seleccionados para cada una de las pruebas que van desde 0.5 A, 1 A, y 2 A. Esta se determina mediante los amperios usados en el proceso entre el área activa de los electrodos.

Volumen: La celda electroquímica tipo filtro prensa fue diseñada para trabajar con un volumen aproximado de 3 a 4 L.

Tiempo: El tiempo para cada uno de los procesos fue de 3 hrs. después de este tiempo la degradación en DQO como en TOC permanece constante, las muestras fueron tomadas cada 30 min para determinar la degradación de DQO, TOC y la hormona 17 β estradiol contra el tiempo.

Tratamiento	Densidad de Corriente:	Amperios	Cátodo	Ánodo	Concentración
EF	15.62 mA/cm ²	1A	BDD	BDD	0.5 mM Feso ₄
EF	31.25 mA/cm ²	2A	BDD	BDD	0.5 mM Feso ₄
EF	31.25mA/cm ²	2A	BDD	BDD	0.7 mM Feso ₄
EO	31.25mA/cm ²	2A	BDD	BDD	3 g/L NaCl
EO	31.2 mA/cm ²	2 A	Acero Inoxidable	BDD	---
EO	31.25mA/cm ²	2A	BDD	BDD	4.5 g/L NaCl

Tabla 16.-Condiciones usadas para los procesos de Electrofenton (EF) y Electro oxidación (EO); tomando en cuenta que para cada prueba se usó un volumen de 3 Litros, un flujo de 4L/min en un tiempo de reacción de 180 min.

Las determinaciones para la degradación de materia orgánica igual se llevaron a cabo por medio de análisis de DQO y TOC (*Anexos*), para determinar la eliminación de hormonas en este caso 17 β Estradiol se usó cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).

6.10. Determinación de 17 β Estradiol

6.10.1. Materiales y Métodos.

17 β Estradiol (E2). U.S Pharmacopeia (USP); Reference Standard.

Solventes grado HPLC:

- Metanol (MeOH) J.T Baker HPLC.
- Acetonitrilo (ACN) J.T Baker Analyzed HPLC Ultra.
- Agua Ultra pura J.T Baker HPLC.

Todas las muestras del estándar fueron preparadas en Acetonitrilo (ACN) y refrigeradas a 4°C.

6.10.2. Medidas analíticas.

Las concentraciones del trazador se determinaron utilizando LC/DID que consiste en un HPLC (Modelo Agilent Technologies 1260 Infinity) equipado con un detector (DAD VL 1260) y Detector (RID 1260), el estradiol fue separado en una columna Agilent Poroshell 120 (EC-C18 2.7 μ m 4.6 x 50 mm). Las condiciones para la detección fueron las siguientes: Se utilizó una mezcla de solventes; metanol, agua, Acetonitrilo (23:53:24) como fase móvil, a un caudal de 0.9 mL/min. La temperatura de la columna se mantuvo a 40 °C, la muestra tomada para la inyección fue de 10 μ l. Las soluciones del estándar fueron preparadas individualmente, a partir de una solución madre de 100 mg/L que fue preparada en Acetonitrilo (ACN), en un matraz de aforación de 10 mL pesando una cantidad de 1mg de 17 β Estradiol (E2). Las concentraciones de la curva de calibración fueron de 100, 50, 30, 15, 10, 5.1 y 0.5 mg/L.

Las longitudes de onda que se utilizaron para la detección de la hormona (λ_{max}) fueron de 197 nm (Vallejo y col 2011); 225 nm y 280 (Y.K.K, Koh y col 2007) nm, esta última también se tomó en cuenta ya que por medio del espectrofotómetro logramos detectar la señal de 17 Estradiol a esta longitud de onda.

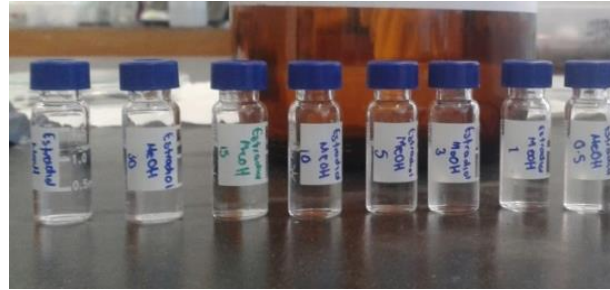


Figura 27.- Viales para curva de calibración 17 β Estradiol.

6.11. Decoloración de la muestra.

Para determinar la decoloración de la muestra a esta se le da seguimiento mediante el descenso de la absorbancia (A) en la longitud de onda de 280 nm que es la longitud en la que logramos determinar nuestro compuesto por medio del espectrofotómetro. Se registró la longitud de onda y absorbancia en un espectrofotómetro UV-Visible Lambda XLS. El porcentaje de eliminación del color (% color removido) se calcula mediante la *Ecuación 16* en la que A_0 es la absorbancia inicial y la A, la absorbancia a cada tiempo de proceso.

$$\%Color\ removido = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

Ecuación 16

7. Resultados

7.1. La caracterización del agua residual

En esta caracterización se observa que este tipo de aguas residuales presentan una concentración media de materia orgánica debido al tipo de desechos de esta industria que sería básicamente alimento, leche, orina y excremento del ganado; aun así este tipo de influente cuenta con una gran cantidad de y grasas y aceites por los productos lácteos.

Parámetro	Valor	Límite máximo permisible (mg/L)
DBO ₅	5918.00	200
DQO	15397.67	No indicado
Fósforo total	54.47	30
Grasas y Aceites	2252.43	25
Nitrógeno Total (Kjeldahl)	251.39	No indicado
N-Nitritos	0.13	No indicado
N-Nitratos	0.11	No indicado
Nitrógeno Total	251.59	60
pH	7.63	5 - 10
Temperatura	22.53	No indicado
Materia flotante	Ausente	Ausente
Sólidos Sedimentables (mL/L)	83.33	2
SST	6366.67	200
SSV	5150.00	No indicado
SSF	1216.67	No indicado
Huevos de Helminto	Negativo	Un huevo/L
Coliformes fecales	> 240 000	2000 NMP/100 mL
Arsénico	0.003	0.5
Cobre	0.275	6
Cromo total	1.8	1.5
Niquel	< 0.037	4
Plomo	< 0.069	1
Mercurio	0.0057	0.02
Cadmio	< 0.043	0.4
Zinc	0.991	20
Cianuros	< 0.0052	3

* Límite permisible conforme a la NOM-001-SEMARNAT-1996, Ríos uso en riego agrícola promedio diario.

Tabla 17.-Principales parámetros para la caracterización del Influyente.

En la *Tabla 17* se el rango de valores para grasas y aceites, donde podemos observar que esta sobre los límites permisibles que marca la ley, por lo que esto representa que es un influente con baja biodegradabilidad y un problema para su posterior tratamiento. Con lo que respecta al pH, se

considera como neutro por lo que no se tiene ningún problema para suministrarlo directamente al reactor, sin que este afecte negativamente su correcto funcionamiento. También es resaltable la gran cantidad de sólidos totales por lo que se llevó a cabo un pretratamiento a las muestras para evitar el taponamiento de las bombas al reactor UASB y así reducir un poco la materia orgánica.

7.2. Caracterización de Inóculo.

La caracterización del inóculo se llevó a cabo en trabajos previos (Flores, 2008). Los parámetros que se tomaron en cuenta para esta caracterización se mencionan en la tabla (). El parámetro más importante en la caracterización del inóculo es la actividad metanogénica ya que esta nos indica la capacidad del inóculo para producir metano obteniendo un resultado de 1.32 g DQO/g SSVd, indicando que el inóculo es eficiente en producción de metano. Otros parámetros importantes que se han tomado en cuenta son el índice volumétrico de lodos, que nos indica el nivel de compactación del lodo, ya que si el nivel de compactación es bajo, al momento en que el efluente entre al reactor UASB la cama de lodos puede ser arrastrada por la velocidad de carga y por último el parámetro de sólidos suspendidos volátiles indicándonos de una manera indirecta la cantidad de biomasa producida o microorganismos contenidos en los lodos anaerobios, en este caso con una cantidad de 62.4 g/L.

Parámetro	Valor	Unidades
Sólidos Totales	76.31	g/Kg
Sólidos Volátiles	50.3	g/L
Sólidos Suspendidos Totales	83.4	g/L
Sólidos Suspendidos Volátiles	62.4	g/L
Índice Volumétrico de Lodos	10	mL/g
Actividad Metanogénica Específica	1.32	g DQO/ g SSV d

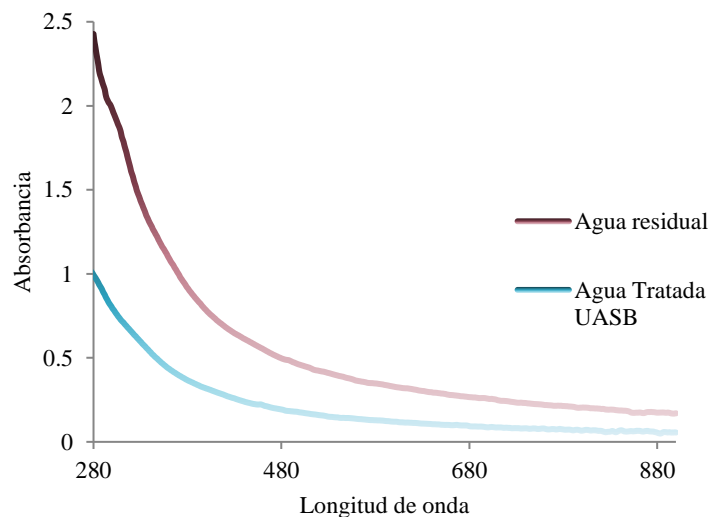
Tabla 18.-Principales parámetros para la caracterización del inóculo correspondiente.

7.3. Digestión Anaerobia del Agua Residual en Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (UASB)

Como se mencionó anteriormente antes de iniciar las pruebas en el reactor anaerobio de flujo ascendente, este se acondiciono iniciando con un pretatamiento al agua residual para aumentar su eficiencia en el tratamiento, quitando la mayoría de solidos por medio de cribado y sedimentación y para que el inoculo se aclimatara al sustrato, se llevaron a cabo las diluciones mencionadas en la sección 6.2.3, esto debido a que en los sistemas biológicos el arranque es muy lento por la adaptación de los microorganismos al nuevo sustrato, por lo que la Carga Orgánica Volumétrica fue baja por las diluciones hasta la adaptación del inoculo al sustrato sin disolución con una carga orgánica de 2.5 kgDQO/m³ d.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de los parámetros y la degradación de materia después de aplicar el tratamiento de digestión anaerobia a un efluente de Industrias de granjas lecheras.

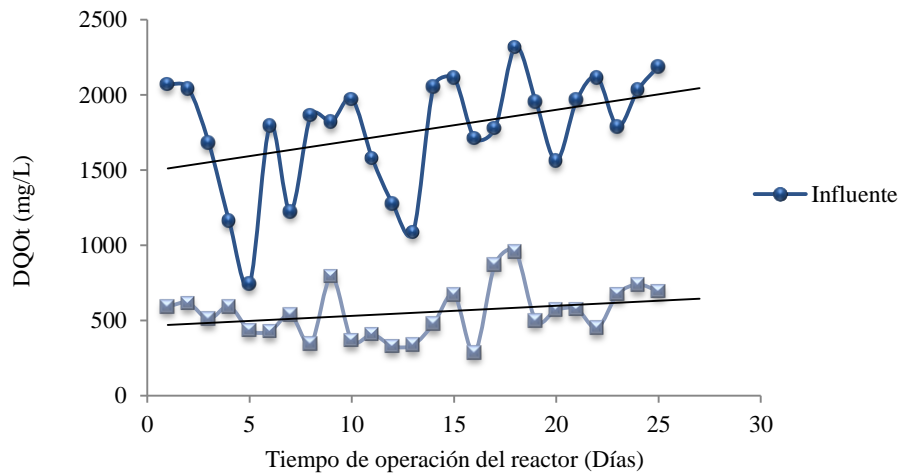
Al inicio de los análisis se hizo un espectro de absorción tanto de agua residual como agua tratada, de esta forma podremos observar mediante un barrido de espectrofotometría la concentración de la muestra según el espectro al que pertenezcan los compuestos formados y que contienen la muestra.



Gráfica 2.-Espectro de absorción de Agua residual y agua tratada UASB (dilución 1:5)

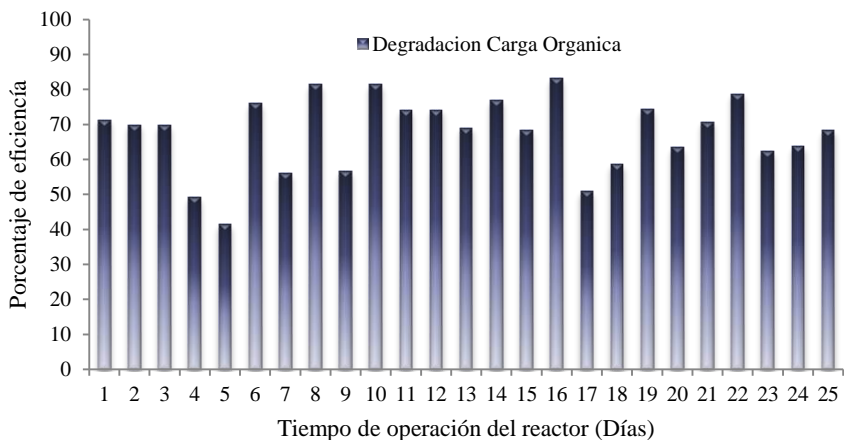
7.3.1 Remoción y eficiencias de la Demanda Química de Oxígeno total y soluble.

En la siguiente Gráfica se representa el comportamiento de la DQO a lo largo de la experimentación en influente y efluente, alimentando el reactor con agua directamente de la granja sin ninguna dilución para que el reactor se adaptara a las características de esta. La carga orgánica se trató de mantener dentro del rango de 2.5 kg DQO/m³ d, por lo que se monitoreo la DQO del influente , si esta variaba y modificaba la COV era necesario regular el flujo del influente en el rector para mantener estable el rango de COV con un tiempo de retención de 18 horas.



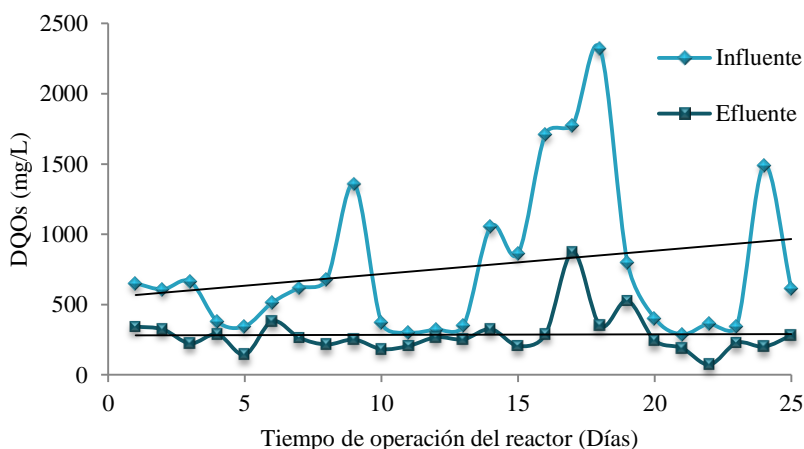
Gráfica 3.- Monitoreo de DQOt durante el tiempo de operación del reactor UASB (Influente y Efluente).

Se puede observar que los primeros días la eficiencia del reactor fue muy alta degradando hasta un 70 % de materia orgánica, sin embargo en el día 5 el DQO del influente bajo, por lo que la degradación de la materia orgánica solo fue de un 40% siendo este el valor menor a lo largo de todo el proceso. Las oscilaciones en el proceso se deben a que se usaron diferentes lotes de agua en el influente, aun así observando la línea de tendencia marcada en el efluente y el influente del proceso, se muestra que se mantuvo estable en la degradación de la materia orgánica.



Gráfica 4.- Eficiencia en degradación de DQOt durante el tiempo de operación del reactor UASB.

En la Gráfica 4 se representan el porcentaje de degradación por días, como se comentó anteriormente el día con menor eficiencia fue el 5 con un aproximado de 40% de eficiencia en cambio el día 16 que fue el de mayor eficiencia con un 85% de degradación, la mayoría de los resultados se encuentra sobre el 50% de degradación obteniendo un promedio de 68% de degradación en todo el proceso; con esto se puede corroborar que la Biomasa se encuentra completamente adaptada al sustrato.



Gráfica 5.- Evolución de DQOs en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del reactor UASB.

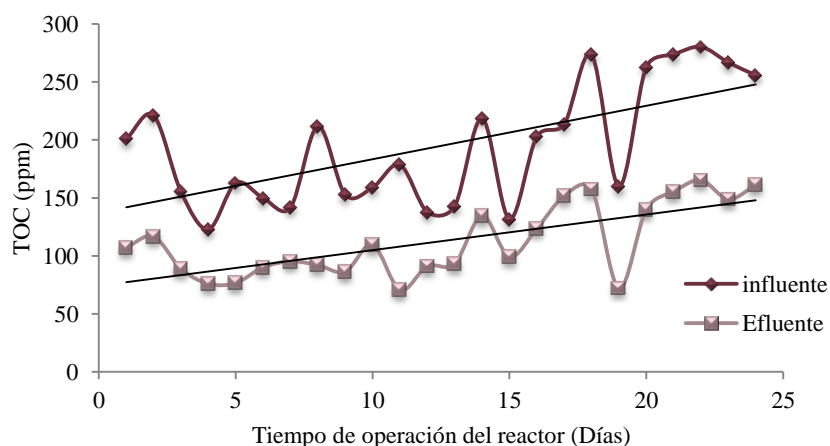
Por los cambios de lotes de agua en el proceso también hubo cambios en los resultados de la DQOs por las cantidades diferentes de solidos que contiene la muestra, ya que para determinar este

parámetro es necesario centrifugar y filtrar. Las oscilaciones mayores se observan en el influente obteniendo la DQOs más alta de aproximadamente 2000 kgDQO/m³ d. Aun así debido a la aclimatación del reactor al sustrato, los resultados en el efluente son muy estables manteniendo una DQOs promedio de 285.32 KgDQO/m³ d demostrando la estabilidad del Reactor UASB y del proceso de digestión anaerobia.

7.3.2. Remoción Carbono orgánico Total

Este análisis complementa el análisis de DQOt pues mediante estos podemos conocer la calidad de nuestra muestra; en la *Gráfica 6* podemos observar los resultados de la operación del reactor.

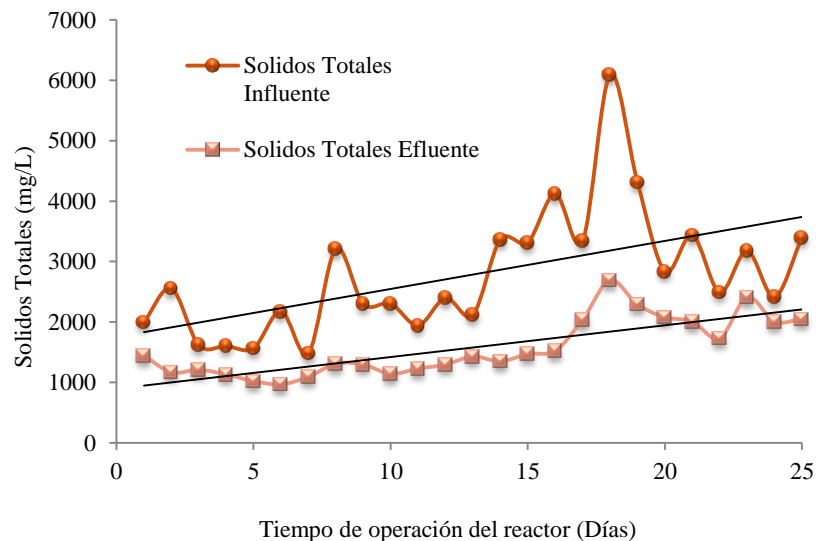
Se inició con una concentración de 221 ppm en el influente, después del tratamiento hay una degradación de más del 47% de COT, ya que el efluente se reporta con una concentración de 116.7 ppm. La mayor degradación de COT ocurre en el día 11 con un 60% de remoción con una concentración de 178.5 ppm en el influente y 70.7 ppm en el efluente, por lo que en promedio la eficiencia de remoción de COT es del 41.7% comparando con el parámetro de DQOt la degradación en ambos parámetros es similar pues la línea de tendencia tiene el mismo comportamiento en ambos análisis tendiendo a aumentar en los últimos días debido a las altas concentraciones de materia orgánica.



Gráfica 6.-Evolución del COT en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del reactor UASB.

7.3.3. Remoción de sólidos volátiles totales y sólidos totales

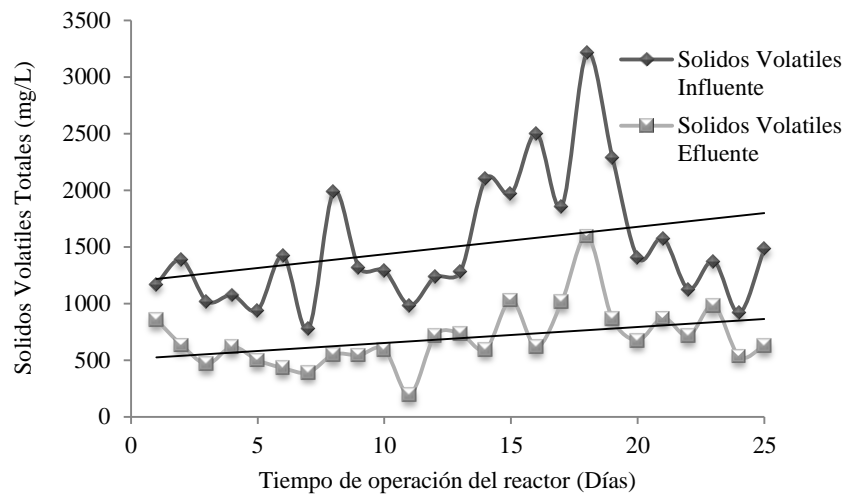
Por medio de estos parámetros se determina el contenido de materia orgánica biodegradable en el reactor UASB, en la *Gráfica 7* y *Gráfica 8* se muestran los sólidos totales y sólidos volátiles totales durante el proceso de operación del reactor, mostrando una remoción de sólidos constante; para las últimas pruebas la concentración de sólidos fue en aumento, esto por los diferentes lotes de agua que contenían concentraciones de materia orgánica más alta que los lotes iniciales. La concentración de sólidos totales como volátiles totales más alta se reporta de 6090 mg/L y 3212.5 mg/L respectivamente, aun así estas concentraciones no afectaron el funcionamiento del reactor observando la buena degradación de los sólidos posteriormente.



Gráfica 7.-Comportamiento de Sólidos Totales en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del Reactor UASB.

La relación SV/ST determina la estabilidad del reactor, si disminuye se considera que la estabilidad es mayor, ya que significa la degradación de materia orgánica biodegradable en el agua.

El contenido de sólidos no es muy alto para esta agua residual, contando con un promedio de 2783.2 mg/L el influente en el caso de sólidos totales, y para los sólidos volátiles totales cuenta con un promedio de 1507.7 mg/L obteniendo como relación SV/ST 0.54.



Gráfica 8.-Comportamiento de Sólidos Volátiles en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del Reactor UASB.

Los promedios de sólidos en el efluente se redujeron aproximadamente a la mitad teniendo valores a la salida de sólidos totales de 1574.9 mg/L y para sólidos volátiles totales de un 694.08 mg/L obteniendo eficiencias de remoción de sólidos de 45% y 53% respectivamente.

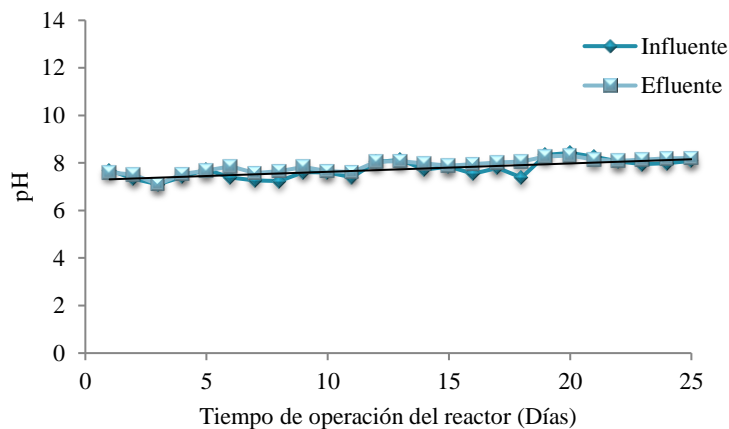
Por lo que la relación de SV/ST disminuyó a 0.44 indicando la degradación de materia biodegradable en el efluente.

7.3.4 Monitoreo de pH

Mediante este parámetro también se puede determinar la estabilidad del reactor UASB, por lo que se monitoreo durante el tiempo de operación del reactor, analizando el pH del influente y del efluente.

Podemos observar en la *Gráfica 9* el comportamiento del pH, que se mantuvo constante a lo largo de la operación del reactor dentro de los rangos de 7 y 8 unidades, los valores de entrada se encontraban aproximadamente en 7 unidades y los valores de salida siempre tendían a subir por encima de 8.

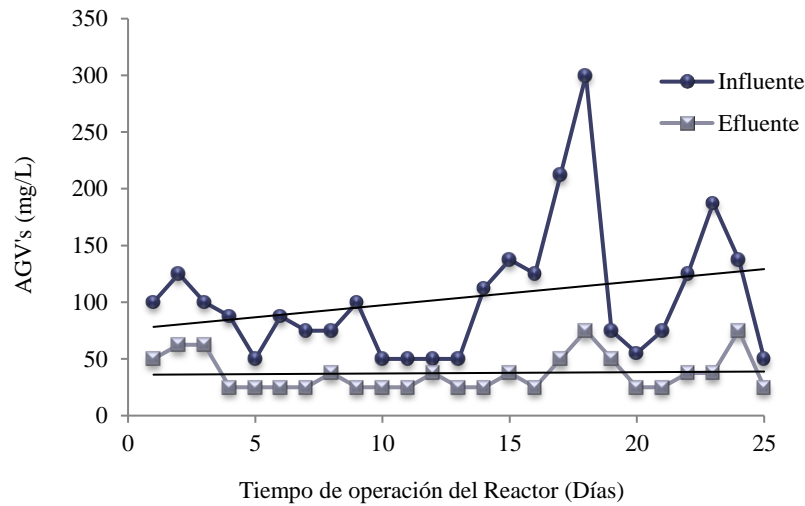
Cabe resaltar que estos valores en ningún momento afectaron el funcionamiento del reactor o el proceso de digestión anaerobia y esto se puede deber a que el inoculo esta aclimatado a este tipo de sustrato, ya que si el pH tendiera a bajar podría indicar la acidificación del reactor.



Gráfica 9.-Monitoreo de pH en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del reactor UASB.

7.3.5. Ácidos Grasos Volátiles

En la *Gráfica 10* se muestra el comportamiento de los AGV's durante el proceso de digestión anaerobia, donde se puede observar que los primeros días se obtuvieron niveles bajos. Para el influente, se encontraban entre 100 y 150 mg/L y para el efluente fueron un poco más estables con niveles de menos de 75 mg/L; acercándose al día 20 se puede observar el aumento de la concentración de AGV's a 300 mg/L, esto debido a los diferentes lotes de agua usados para el proceso, indicando un aumento en la carga orgánica por lo que hay una acumulación de AGV's, ya que son producidos por las bacterias acidógenas a mayor velocidad de lo que son consumidos por las bacterias metanogénicas para ser convertidos en metano, o el TRH es muy corto y las bacterias metanogénicas no tienen el suficiente tiempo de contacto con el sustrato.



Gráfica 10.-Monitoreo de AGV's durante el tiempo de operación del reactor UASB (Influente y Efluente).

Después del día 18 se observa la disminución de los AGV's, que como se mencionó anteriormente representa su transformación a metano, obteniendo valores por debajo de los 75 mg/L completando el proceso de digestión anaerobia.

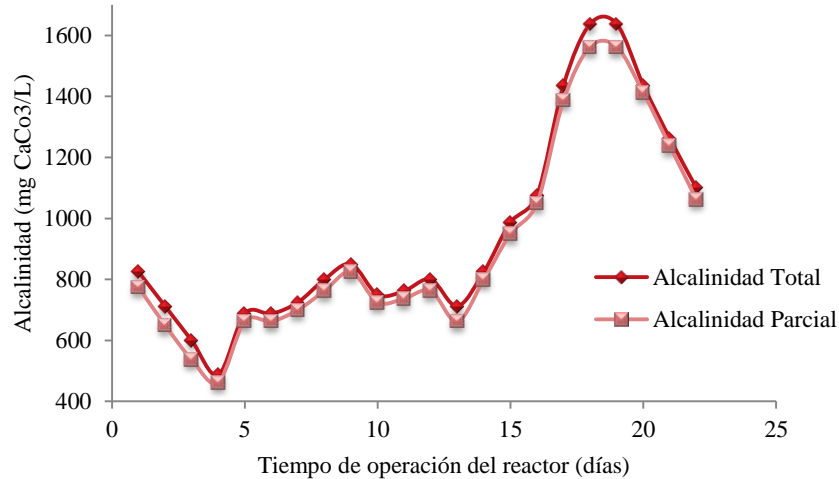
7.3.6 Alcalinidad Total y Parcial.

En la *Gráfica 11* se muestra la alcalinidad total y parcial a lo largo de la operación del reactor anaerobio, se puede observar que los valores de las alcalinidades son relativamente parecidas, lo que indica la capacidad amortiguadora del reactor. Ya que las alcalinidades tienen la capacidad de neutralizar los ácidos dentro del reactor.

Comparando la *Gráfica 11* de alcalinidades con la *Gráfica 10* de AGV's se puede observar similitudes ya que después del día 15 existe una mayor producción de AGV's lo que provoca que las alcalinidades aumenten para neutralizar el aumento de AGV's producidos.

El punto más bajo de alcalinidad total y parcial es en el día 4, la alcalinidad total con 487.5 mg CaCo₃/L y la alcalinidad parcial con 462.5 mg CaCo₃/L. La concentración más alta se muestra entre los días 18 y 19 con una concentración de 1637.5 mg CaCo₃/L y 1562.5 mg CaCo₃/L para AT y

AP respectivamente, obteniendo como promedio a lo largo de todo el proceso un 945.45 mg CaCo3/L para alcalinidad total y 906.81 mg CaCo3/L en alcalinidad parcial.



Gráfica 11.-Comportamiento de Alcalinidad Parcial y Total Durante el tiempo de operación del reactor UASB.

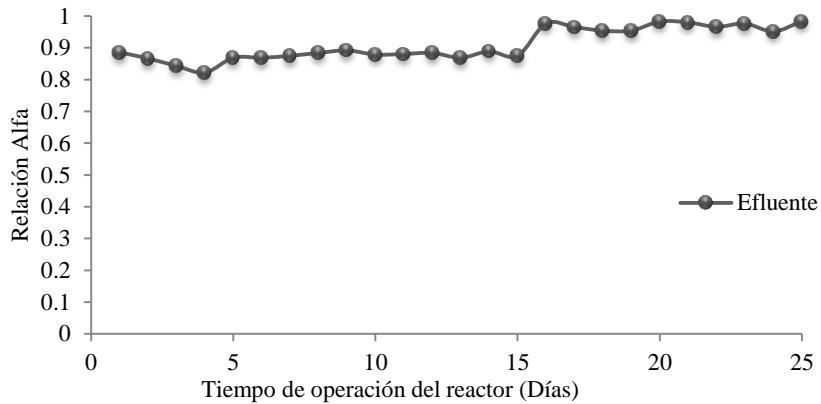
7.3.7. Relación Alfa

Jenkins *et al*, (1983) propusieron el seguimiento de la evolución del reactor mediante la relación de alcalinidades, alfa (α), definida como:

$$\alpha = \text{alcalinidad parcial} / \text{alcalinidad total}$$

La relación α es la relación de alcalinidades, este parámetro nos indica la estabilidad del reactor, según la literatura generalmente si la relación de alcalinidades es mayor a 0.5, se considera que existe un equilibrio entre la capacidad amortiguadora debida a carbonatos y bicarbonatos y los ácidos grasos generados en la etapa de acidogénesis.

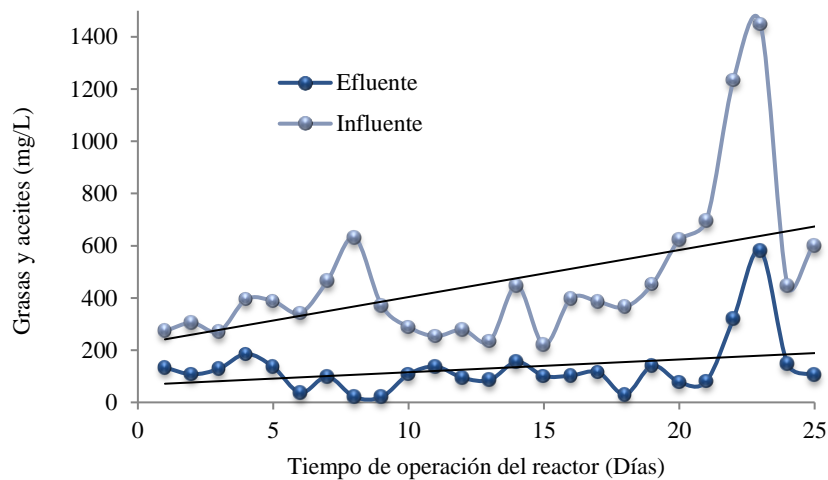
En la *Gráfica 12* se muestran la relación alfa a lo largo del proceso mostrando una estabilidad muy alta ya que desde que comenzó el proceso de digestión anaerobia se mostraron relaciones de alcalinidades mayores a 0.8 manteniendo esta estabilidad hasta el día 15 donde sube la relación de alcalinidades sobre valores mayores de 0.9 indicando el buen funcionamiento del Reactor UASB.



Gráfica 12.-Evolución de la Relación α durante el tiempo de operación del reactor UASB.

7.3.8. Grasas y aceites

En la *Gráfica 13* se puede observar las grasas y aceites a la entrada y a la salida del reactor UASB, se tomó en cuenta los diferentes lotes de agua usados para el tiempo de operación del reactor ya que esto provocó las oscilaciones en los análisis de grasas y aceites, igual que en los otros parámetros, se puede observar que los últimos días de operación del reactor las concentraciones de contaminantes en el agua residual fueron más altas que al inicio, reportando el punto más alto de grasas y aceites en el influente como 1448.5 mg/L mientras que para el influente fue de 581.5 mg/L. El promedio de grasa y aceites en el influente fue de 460 mg/L y para el efluente se reportó de 130 mg/L. La eficiencia en la eliminación de grasas y aceites por medio del reactor UASB fue alta, observando que las líneas de tendencia tanto del influente como del efluente tienden a aumentar por la concentración de las grasas y aceites.



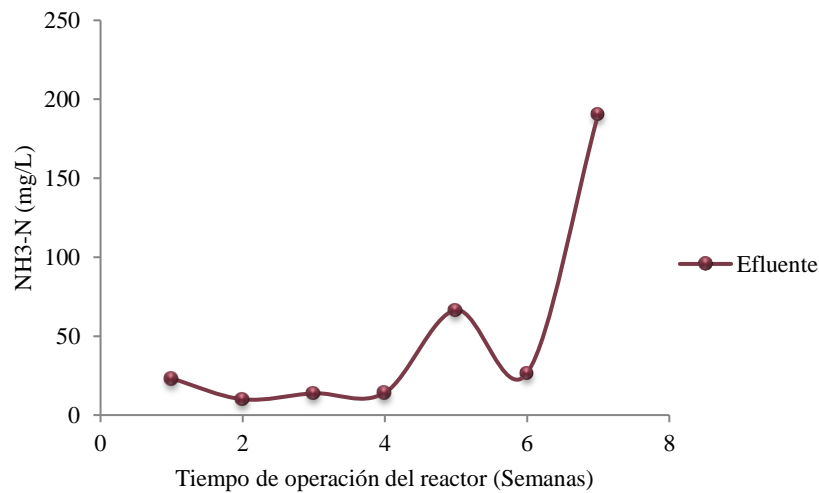
Gráfica 13.-Concentración de Grasas y Aceites en Influyente y Efluente durante el tiempo de operación del reactor UASB.

A pesar de que se elevó la concentración en el influente a partir del día 20, las relaciones en las muestras de agua en el efluente fueron bastante estables obteniendo un porcentaje de remoción de grasas y aceites de un 70%, eliminando más de la mitad de grasas y aceites de las aguas residuales de la granja.

7.3.9 Nitrógeno Amoniacal

Para este parámetro podemos observar en la *Gráfica 14* las concentraciones de nitrógeno amoniacal tomado a la entrada y salida del reactor dos veces por semana. Como en parámetros anteriores podemos ver nuevamente el aumento en la concentración en la última semana del proceso de digestión anaerobia, la concentración de nitrógeno en el efluente inicio por debajo de los 50 mg/L manteniéndose estable las siguientes semanas, para la última semana se elevó a aproximadamente 200 mg/L.

Debido a que algunas bacterias utilizan este elemento como nutriente para su crecimiento, esta concentración se puede considerar dentro del rango de valores como no inhibitorio para los microorganismos metanogénicos ya que este parámetro puede afectar estos microorganismos inhibiendo la producción de metano, aun así las concentraciones a las que se encontró en el sistema no fueron las necesarias para inhibir o desestabilizar el reactor ya que a pesar del aumento de Nitrógeno Amoniacal, el funcionamiento del reactor siguió estable.



Gráfica 14.-Comportamiento de Nitrógeno Amoniacal durante el tiempo de operación del reactor UASB (Efluente).

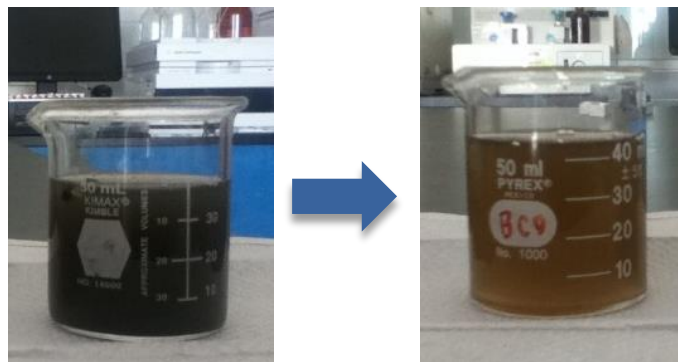


Figura 28.- Influyente antes y después del tratamiento de Digestion Anaerobia en reactor UASB.

7.3.10. Cromatografía de líquidos de alta Resolución Agua Residual

La determinación de 17β Estradiol se llevó a cabo mediante HPLC (*Anexos*), en la *Figura 29* se observa el Cromatograma realizado para agua residual, que como se menciona en el *Apartado 6.7* la concentración aproximada adicionada a la muestra de agua para el constante monitoreo de la degradación de esta, fue de 1mg/L, logrando determinar la concentración de esta hormona de 1.6 mg/L en un tiempo de retención de 5.8 min. Una de las razones por las cuales la concentración del compuesto es más elevada de la concentración inicial, puede ser por la homogenización de la

muestra ya que al inicio de los análisis se llevó a cabo una prueba con el agua residual sin hormona para determinar si esta se encontraba en el agua obteniendo resultados negativos, aunque también se puede considerar que la concentración es menor a los límites de detección del equipo.

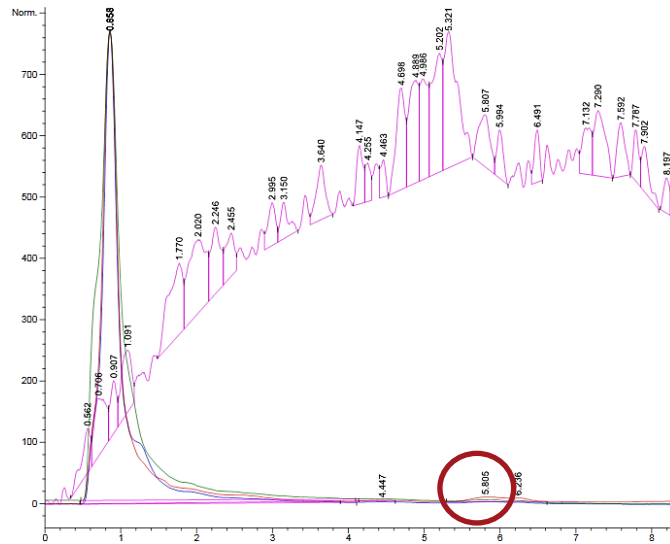


Figura 29.-Cromatograma Agua Residual con detección de 17β Estradiol 5.8 min.

Las señales que se muestran en el Cromatograma son las siguientes:

DAD1 A, señal=225(color azul), DAD1 B, señal=197(Color rojo), DAD1 C, señal=280 (Color verde), RID1 A, señal=225 (Color rosa).

7.4. Oxidación Avanzada

7.4.1. Caracterización del efluente

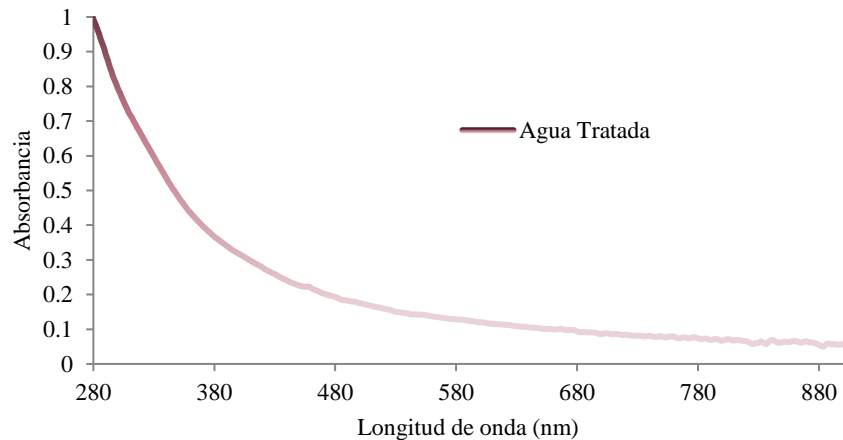
El efluente empleado en esta parte del proyecto, proviene del reactor UASB usado anteriormente en la parte de digestión anaerobia como un pretatamiento a la muestra de agua residual. Mediante el tratamiento biológico se degrada la carga orgánica aproximadamente más de un 60%, también bajando la concentración de sólidos, grasas y aceites y carbono orgánico total. Las muestras fueron tomadas en el efluente del reactor para obtener datos más precisos por lo que en la siguiente tabla

de caracterización del efluente se muestran los diferentes rangos encontrados, de las muestras analizadas en las diferentes tomas realizadas a lo largo del tiempo de operación del proyecto.

Parámetros	Rango Mínimo - Máximo	Unidades
pH	7.6-8.21	-
Conductividad	1.71-3.36	mS/cm
Solidos suspendidos	20-315	mg/L
DQO	300-1000	mg/L
TOC	76-234	ppm
Nitrógeno Amoniacal	10-190	mg/L

Tabla 19.- Parámetros Caracterización Efluente UASB.

A partir de la *Tabla 19* se puede ver que estas aguas se caracterizan por tener una DQO media, con alto contenido en sólidos en suspensión, pH neutro y una conductividad moderada, el carbono orgánico total se puede considerar como una concentración media después del proceso biológico. También se analizó la muestra mediante espectro UV donde se indica la longitud de onda de 280 nm que es la longitud de onda donde se puede observar la señal del 17 β Estradiol en la *Gráfica 15* podemos observar el espectro de la muestra.



Gráfica 15.-Espectro de absorción del efluente (dilución 1:5)

7.5. Proceso de Fenton

El primer proceso de oxidación avanzada seleccionado para el tratamiento de aguas residuales de granjas lecheras fue la reacción de Fenton químico ya que es uno de los POA's más conocidos y muy sencillo de operar. Para este proceso las variables más influyentes son las concentraciones de H₂O₂ y FeSO₄, por medio de estas se determinara el costo de operación y la eficiencia del proceso.

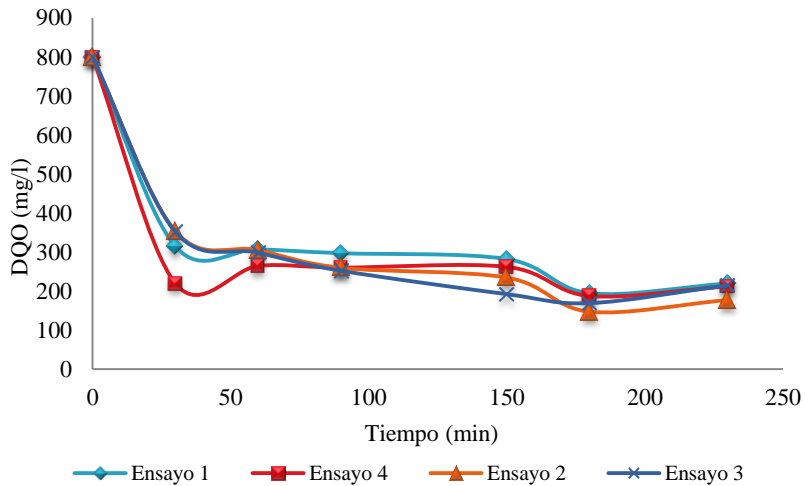
7.5.1. Efecto de la concentración de FeSO₄

La cantidad de catalizador es una variable con especial influencia sobre la cinética del proceso. Como en el caso del peróxido de hidrógeno, existe una concentración óptima del catalizador que puede ser determinada con el fin de obtener la máxima eficacia con el menor consumo posible de reactivos. Partiendo de la cantidad de peróxido de hidrógeno, se estudió el efecto de varias según el diseño de experimentos como se menciona en la *Tabla 20*.

Ensayo-Relación	Condiciones
Efecto de la concentración FeSO ₄ y H ₂ O ₂	
1-1:36	[FeSO ₄]= 1000 mg/L, [H ₂ O ₂]= 36.25 g/L
2-1:15	[FeSO ₄]= 2500 mg/L, [H ₂ O ₂]= 36.25 g/L
3-1:6	[FeSO ₄]= 2500 mg/L, [H ₂ O ₂]= 14.5 g/L
4-1:15	[FeSO ₄]= 1000 mg/L, [H ₂ O ₂]= 14.5 g/L

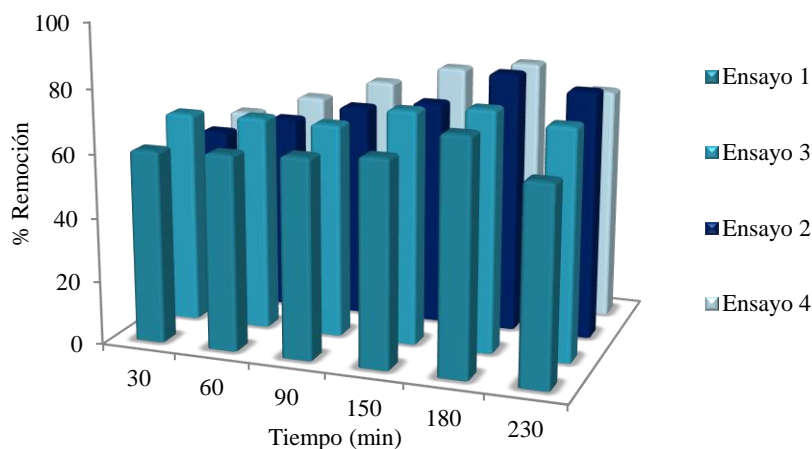
Tabla 20.-Condiciones de operación de los experimentos de proceso Fenton.

Todos los ensayos finalizaron cuando la degradación se mantuvo constante a lo largo del tratamiento (entre 200 y 250 min).



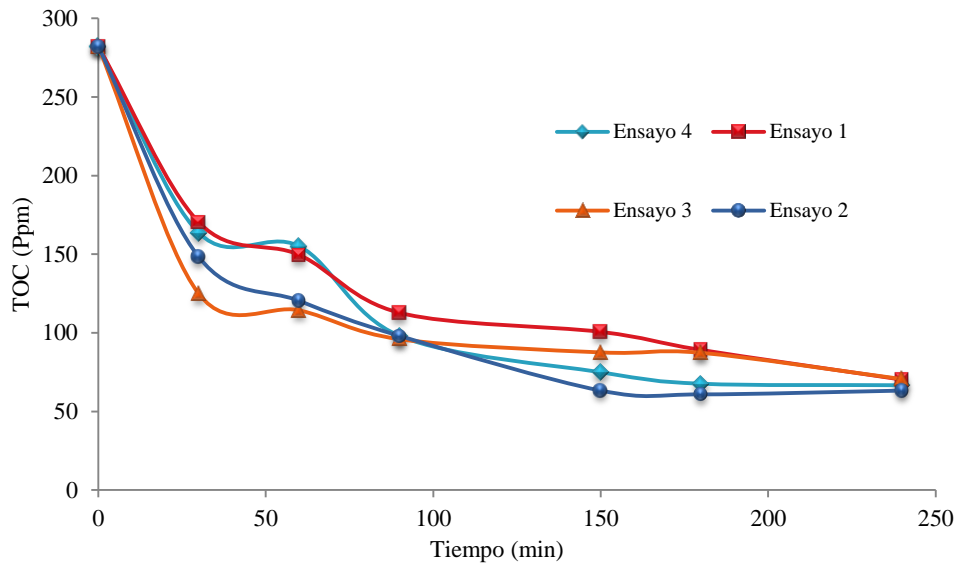
Gráfica 16.-Degradación de materia orgánica con respecto al tiempo proceso Fenton químico.

Se puede observar en la *Gráfica 16* que en los primeros minutos es donde ocurre mayor degradación de materia orgánica, ya que al tiempo 0 se encontraba con una concentración de 800 mg/L logrando degradar en los primeros minutos la materia orgánica hasta aproximadamente 300 mg/L, dependiendo de las concentraciones usadas, ya que conforme avanzaba en tiempo la degradación permaneció muy estable después de los 60 min, logrando degradar la materia orgánica hasta entre 150 y 200 mg/L. El hecho de que no se degrade más materia orgánica en el proceso de Fenton puede ser debido a la fracción de materia orgánica recalcitrante probablemente compuesta por ácidos de cadena corta.



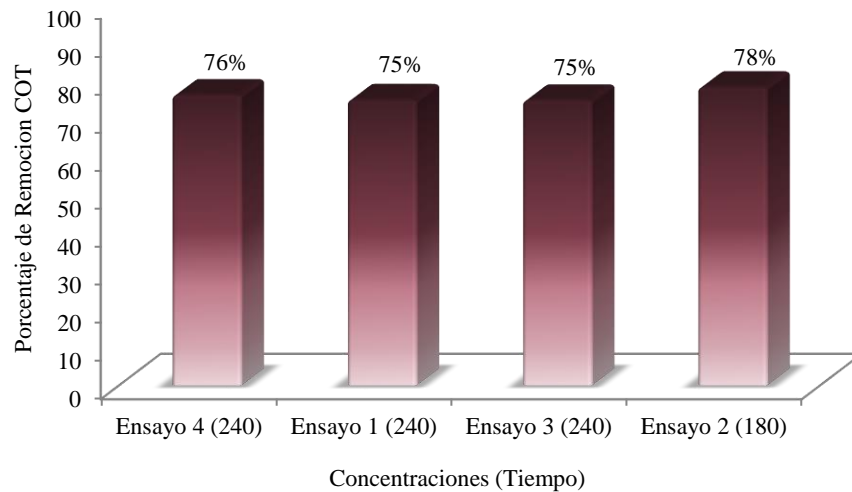
Gráfica 17.- Porcentaje de Remoción DQO Fenton químico.

En la *Gráfica 17* se observa la degradación final a la que se llegó en cada experimento, con respecto al tiempo, viendo que la cinética óptima es la relación 1:15 $[\text{FeSO}_4]= 2500 \text{ mg/L}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]= 36.25 \text{ g/L}$ degradando una alta concentración de materia orgánica con un aproximado mayor del 80% de eficiencia de remoción.



Gráfica 18.-Degradación de Carbono orgánico total con respecto al tiempo Fenton químico.

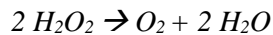
Al igual que en la degradación de DQO podemos observar en la *Gráfica 18* que el comportamiento del Carbono Orgánico Total durante el proceso de Fenton tuvo un comportamiento similar a la demanda química de oxígeno, ya que en los primeros minutos es donde se reportan las mayores remociones, aunque conforme pasaba el tiempo en este parámetro la degradación si fue más notoria logrando la mayor degradación con la relación 1:15 $[\text{FeSO}_4]= 2500 \text{ mg/L}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]= 36.25 \text{ g/L}$, degradado desde 282 ppm a 60.84 ppm. Aun así los porcentajes de remoción mayores son muy similares entre las relaciones de concentraciones para el proceso Fenton, teniendo una diferencia no mayor de un 3% entre ellas. (*Véase Gráfica 19*)



Gráfica 19.- Porcentaje de remoción TOC Fenton químico.

Por lo que si se hace una comparación de los 4 experimentos no existe una diferencia de más del 10% entre ellos tanto en los resultados de DQO como COT, por lo que se puede decir que los 4 experimentos son óptimos para la degradación de materia orgánica; en nuestro caso los experimentos más viables serían los de menor concentración de reactivos de esta forma el consumo de reactivo será menor, al igual que la generación de lodos al final del proceso.

Es por eso que después de obtener estos resultados se decidió tomar esta relación de concentraciones de reactivos 1:15 para llevar a cabo un siguiente experimento en el cual se tomó en cuenta la concentración de DQO con respecto a la concentración de H_2O_2 como se menciona en el apartado 9.8.1 determinando la siguiente concentración de reactivos :



La relación es de 1g de DQO = 0.03125 mol O_2 = 0.0625 mol H_2O_2

Se promedió la concentración de DQO del fluente para calcular los moles de O_2 .

$$\frac{\frac{1050mg}{L} * (0.03125 mol O_2)}{1000 \frac{mg}{L}} = 0.0328 mol O_2$$

Teniendo los moles de O_2 se calculó la concentración necesaria de peróxido de hidrógeno para la reacción.

$$\frac{0.0328 \text{ mol } O_2 * (0.0625 \text{ mol } H_2O_2)}{0.03125 \text{ mol } O_2} = 0.0656 \text{ mol } H_2O_2$$

Y por último se convirtieron los moles de peróxido de hidrogeno en gramos para luego conocer la relación en mL.

$$0.0656 \text{ mol } H_2O_2 * \left(30.0147 \frac{g}{mol}\right) = 1.96 \text{ g}$$

$$1.96 \text{ g} * (1.45 \text{ g/cm}^3) = 1.35 \text{ cm}^3$$

Por lo tanto:

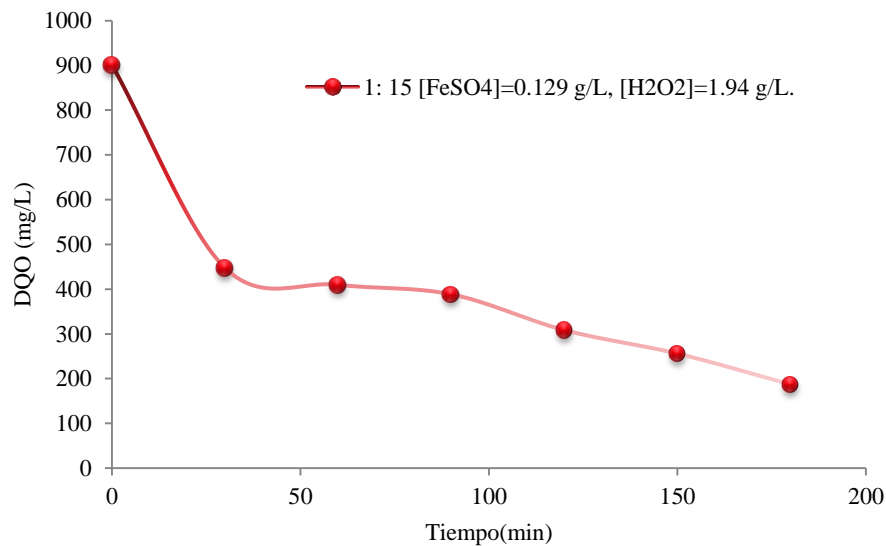
La DQO promedio del efluente UASB: 1050 mg/L

Densidad H2O2: 1.45 g/cm3

Peso molecular H2O2: 30.0147 g/mol

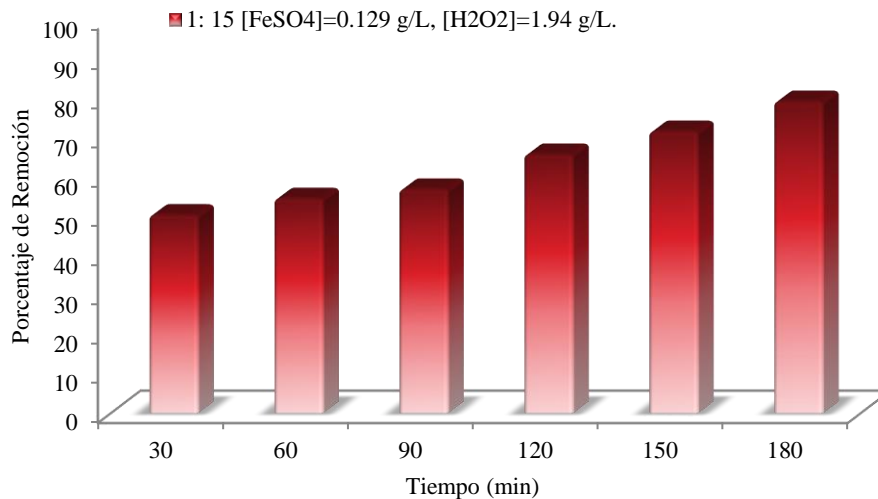
Al tener la relación de dosis de en concentración de H₂O₂: DQO se prosiguió a iniciar con los siguientes ensayos usando la relación de concentraciones óptima (1:15 FeSO₄/H₂O₂).En este caso usando 1.35 mL/L de Peróxido de Hidrogeno y 0.129 g/L de FeSO₄; ahorrando un total de reactivos de más del 90% teniendo así un proceso más efectivo con menos inversión de reactivos.

El la *Gráfica 20* podemos observar que la concentración inicial de nuestra muestra se encontraba en 901 mg/L DQO; después de la aplicación del tratamiento Fenton se logró degradar la concentración de materia orgánica hasta 447.2 mg/L logrando una remoción de casi el 50 %. Durante el tiempo de reacción en el tratamiento se puede observar la degradación constante de la materia orgánica obteniendo la mayor remoción a los 180 min logrando degradar la materia orgánica hasta 187.2 mg/L.



Gráfica 20.-Degradación DQO Fenton químico (relación 1:15.)

En la Gráfica 20 se muestran los porcentajes de remoción con la aplicación del tratamiento Fenton, modificando la concentración usada de reactivos para así optimizar el proceso; podemos observar que los porcentajes de remoción son buenos desde el inicio del tratamiento logrando degradar un 50 % de materia orgánica a los 30 min del tratamiento, y conforme avanzaba el tiempo, el porcentaje de remoción aumento hasta lograr al final del proceso una degradación de un 79.2 % a los 180 min.



Gráfica 21.- Eficiencia de Remoción DQO Fenton químico (relación 1:15).

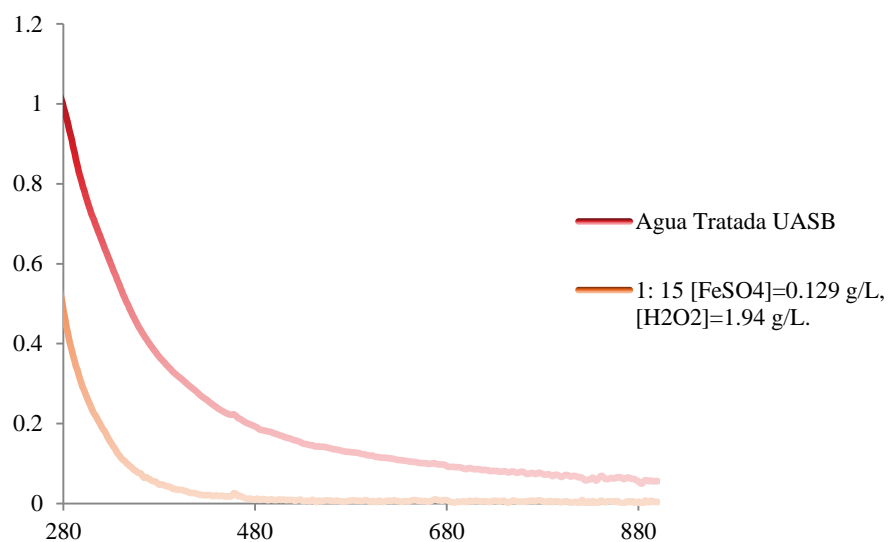
7.6. Caracterización del agua tratada Fenton químico

En la siguiente tabla (*Tabla 21*) se muestran los porcentajes de reducción de algunos parámetros analizados al final del proceso Fenton químico y tras la etapa de neutralización, en comparación con los valores a la entrada del proceso. La concentración de DQO y TOC presentó reducciones de entre 74 % y de 70 % respectivamente.

Parámetro	Entrada Proceso	Neutralización	
		Valor	Reducción %
pH	7.9	8.2	-
Conductividad (mS/cm)	1.71-3.36	2.45-3.40	-
Sólidos en suspensión (mg/L)	9.3- 15	<0.1	99.99
DQO (mg/L)	300-1000	187-147	74.31
TOC (ppm)	108-234	60- 42	70.18
UV (abs) (Remoción Color)	1.0	0.40	60.17

Tabla 21.-Caracterización Agua tratada Fenton químico.

Sólo se observó un incremento de la conductividad con respecto al agua sin tratar, debida a los ajustes de pH y a la adición de los reactivos de Fenton. En cuanto a sólidos en suspensión la reducción es prácticamente total. Según los resultados obtenidos el efluente sería apto para su posterior reutilización. Por último, en cuanto al análisis de UV se observa una importante eliminación, (*Gráfica 22*), comparando el efluente original con la muestra tratada y neutralizada. La eliminación de color al final del tratamiento tiene dependencia de la cantidad de hierro empleado. Tras la neutralización, una vez filtrado resulta un efluente libre de color. En la *Figura 31* se puede comprobar la variación del color a lo largo de las 4 etapas del proceso.



Gráfica 22.-Espectro de absorbancia Fenton mejores relaciones.

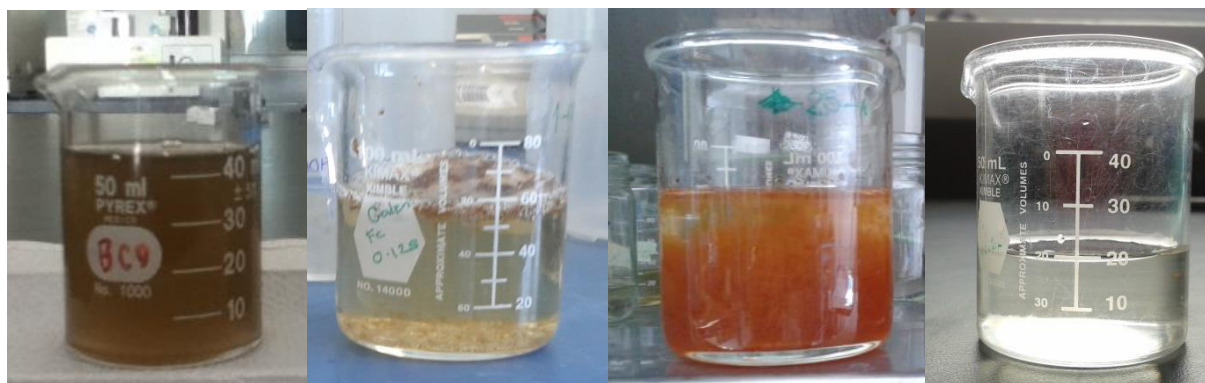


Figura 30.-Aspecto visual de las muestras a lo largo del proceso: (1) Original, (2) Salida del proceso Fenton (3) Neutralizada (4) Neutralizada y Filtrada.

Cabe remarcar que las condiciones del tratamiento de Fenton realizado, son las de mayor eficiencia comparando todas las pruebas hechas con anterioridad Se tomaron estas condiciones para demostrar la eficacia del proceso con una concentración de reactivos mínima. Por ello se espera obtener unos mejores resultados al aplicar la dosis óptima de ratio 1:15 $[\text{FeSO}_4]= 0.129 \text{ g/L}$ y $[\text{H}_2\text{O}_2]= 1.94 \text{ mL/L}$

7.7. Electrofenton y Electro oxidación.

Entre los diferentes POA's, varias investigaciones han demostrado que los procesos electroquímicos son una tecnología prometedora para ser más económicos, eficientes y amigables con el medio ambiente para eliminar la materia orgánica en comparación con otros procedimientos

Los ensayo hechos, se llevaron a cabo con agua del efluente caracterizado anteriormente en la *Tabla 19*, ya que se hará una comparación entre procesos de oxidación avanzada para conocer cual proceso es el más efectivo en la remoción de contaminantes tanto orgánicos como recalcitrantes.

7.7.1. Efecto de la intensidad de corriente y resistencia eléctrica en celda electroquímica.

Si bien el voltaje juega un rol importante dentro de un proceso electroquímico, la densidad de corriente juega un rol de igual o mayor importancia que el voltaje. Esto se debe a que el flujo de corriente que circula por una determinada área de los electrodos controla la velocidad del proceso electroquímico producido en el ánodo y el cátodo. Es por esto que al inicio de los ensayos se probó con diferentes densidades de corriente para así determinar cuál era la más eficiente en la degradación de materia orgánica, calculándola de la siguiente manera:

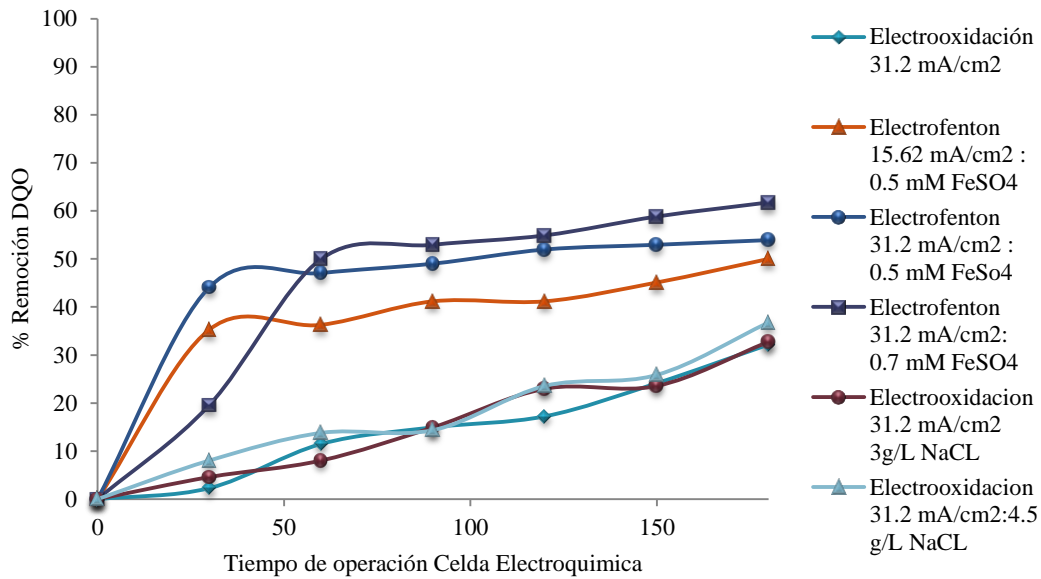
$$A * 1000/cm^2 = mA/cm^2$$

Dónde:

A= Amperios.

Cm²= Área activa del electrodo.

De esta manera se determinaron las densidades de corriente para cada ensayo, que son mostradas en la *Tabla 17*, obteniendo los siguientes resultados de remoción de DQO tanto en el proceso de Electro oxidación como Electrofenton.



Gráfica 23.-Efecto en el porcentaje de remoción de DQO con aplicación de procesos Electroquímicos.

En esta gráfica podemos observar que en los tres tratamientos de Electrofenton la mayor degradación existe en los primeros minutos, ya que después de los 60 min la tendencia de esta permanece constante debido a que la eliminación de DQO no supera el 10% de degradación entre los 60 min y los 180 min.

El método en el que se consigue una mayor mineralización es el Electrofenton 0.7 mM usando electrodos de diamante dopado con boro (BDD), los procesos en los que el BDD actúa como ánodo, la remoción es mayor ya que los radicales hidroxilo formados en la superficie del ánodo por la oxidación del agua, no interaccionan con la superficie del mismo, permaneciendo disponibles para oxidar al contaminante, aun así la mayor remoción del proceso fue de 61% a los 180 min.

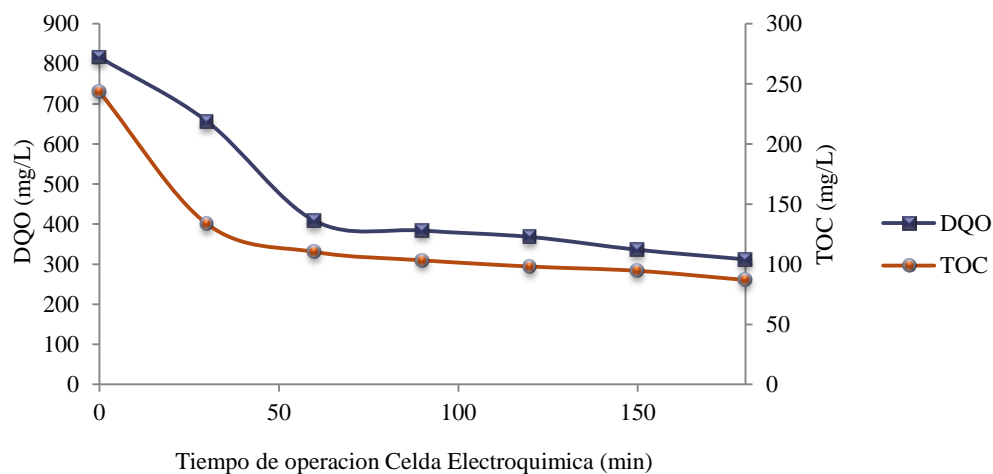
De los procesos de Electro oxidación aplicados el más eficiente fue en el que se usaron 4.5 g de NaCl con una densidad de corriente de 31.2mA/cm² obteniendo resultados de remoción de DQO de 36.8 % y 27.9 % en TOC.

En la *Tabla 22* podemos observar las eficiencias tanto de DQO como TOC y las concentraciones a las cuales se logró llegar después de cada uno de los tratamientos aplicados a la muestra.

Tratamiento	Densidad de Corriente:	Amperios	Concentración	Degradación DQO (mg/L)	Degradación TOC (mg/L)	Eficiencia % (DQO-TOC)
EF	15.62 mA/cm ²	1A	0.5 mM Feso4	408	98.1	50-59.7
EF	31.25 mA/cm ²	2A	0.5 mM Feso4	376	88.56	53.9-63.6
EF	31.25mA/cm ²	2A	0.7 mM Feso4	312	86.86	61.7-64.3
EO	31.25mA/cm ²	2A	3 g/L NaCl	936	225.6	32.7-27.0
EO	31.2 mA/cm ²	2A	---	510	112	40-58.7
EO	31.25mA/cm ²	2A	4.5 g/L NaCl	880	407	36.7-27.9

Tabla 22.- Resultados de los tratamientos de oxidación avanzada aplicados al efluente; con un tiempo de tratamiento de 180 min; con un DQO de inicio en EF de 816 mg/L y en EO de 1392 mg/L.

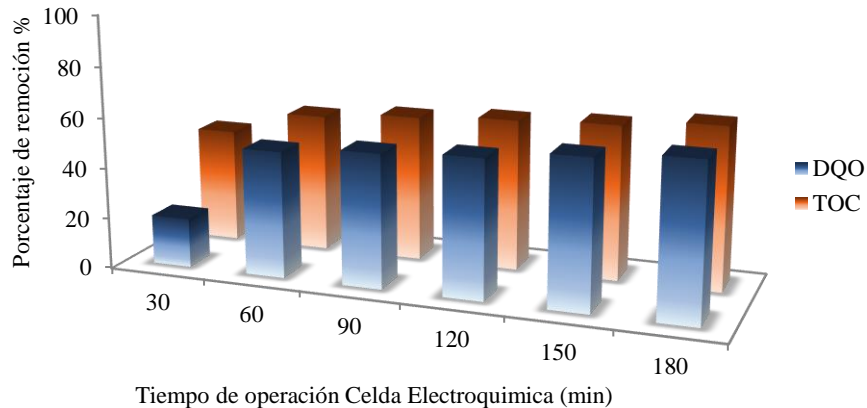
Los procesos de Electro oxidación en los cuales se aplicó NaCl no tuvieron buenos resultados en la remoción de DQO ya que estuvieron por debajo del 40% de eficiencia de remoción de DQO. Los análisis de TOC se vieron afectados ya que la aplicación de NaCl a la muestra para el tratamiento con Electro oxidación aumento la concentración del carbón orgánico total; por lo que se decidió trabajar solo con el proceso de Electrofenton con el cual se obtuvieron mejores resultados, siendo este el que tenía una densidad de corriente de 31.25 mA/cm² con una concentración de FeSO₄ de 0.7 mM, observando sus resultados en la Gráfica 24.



Gráfica 24.-Degradación DQO Electrofenton 0.7mM FeSO₄ Densidad de Corriente 31.25 mA/cm².

En la siguiente gráfica podemos observar los porcentajes de remoción tanto de DQO como de TOC, en los cuales se obtuvieron mejores resultados de degradación en carbono orgánico total que en

materia orgánica, ya que en la primera media hora las eficiencias de remoción superan el 50% aun así obteniendo de ambos parámetros porcentajes de remoción mayores al 60 %



Gráfica 25.-Porcentaje de remoción DQO y TOC Electrofenton 0.7mM $FesO_4$ Densidad de Corriente 31.25 mA/cm²



Figura 33.-a) Muestra antes y después de la aplicación del tratamiento Electrofenton 0.7mM b) Muestras tomadas por tiempos en el tratamiento Electrofenton 0.7 mM

7.7.2. Cromatografía de líquidos de alta resolución agua tratada Fenton.

Se determinó la presencia del 17 β Estradiol en la muestra de agua sin tratar por lo que se inició el tratamiento con Electrofenton para determinar si este tratamiento es eficiente en la remoción de este tipo de compuestos. En la *Figura 35* podemos observar la muestra sin tratamiento con la señal identificada de 17 β Estradiol.

Después de aplicar el tratamiento de electrofenton se puede observar una respuesta similar a la del tratamiento de Fenton químico ya que después de un tiempo de 30 min la señal desaparece por lo que se puede decir que el compuesto ha sido removido de nuestra muestra. *Figura 36*.

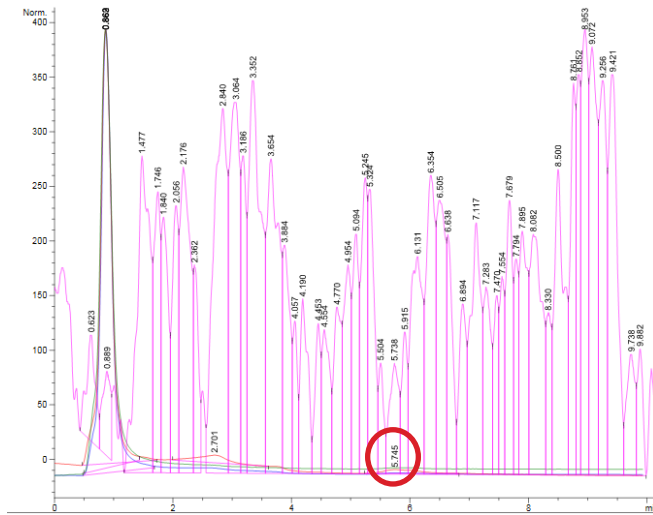


Figura 34.-Cromatograma Efluente antes del tratamiento de ElectroFenton.

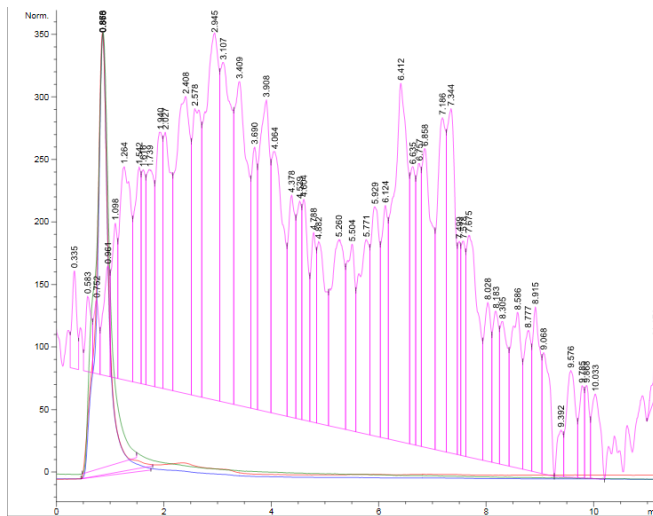
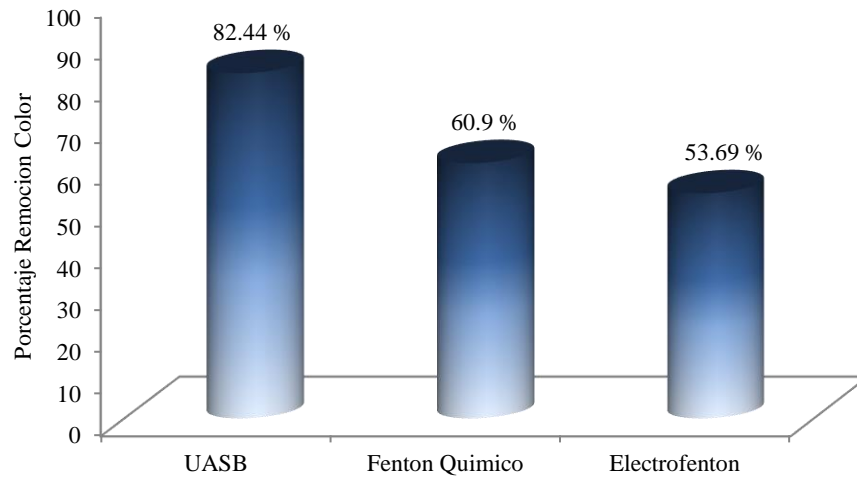


Figura 35.-Cromatograma Efluente después del tratamiento ElectroFenton 30 min.

7.8. Remoción de color por tratamiento.

La *Gráfica 26* muestra el efecto de los tratamientos aplicados al influente en el reactor UASB y al efluente con los procesos de oxidación avanzada. La mayor tasa de remoción de color se obtiene para el tratamiento biológico con un 82% del color eliminado. Para los tratamientos de oxidación avanzada la remoción de color es menor, de 60.9 y 53.69 % para Fenton químico y ElectroFenton respectivamente, esto se le puede atribuir a que las concentraciones de materia orgánica eran mucho más bajas comparadas a las concentraciones iniciales en el tratamiento biológico.

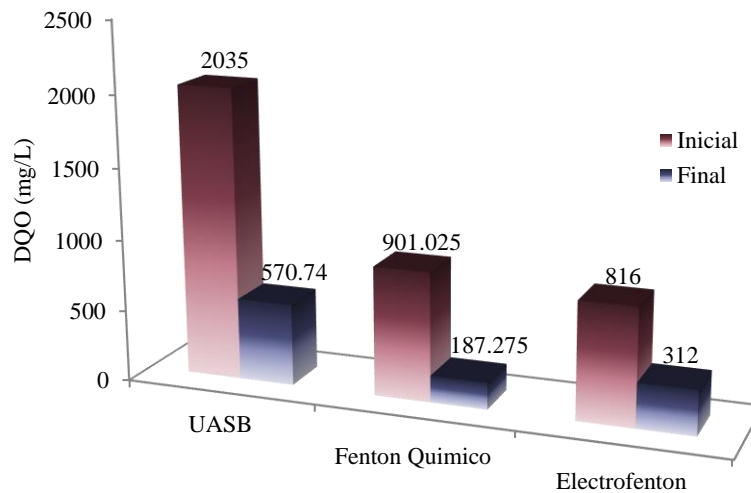


Gráfica 26.-Variación del porcentaje de remoción dependiendo de los tratamientos aplicados.

7.9. Comparación de la efectividad de los procesos Biológicos y de Oxidación Avanzada.

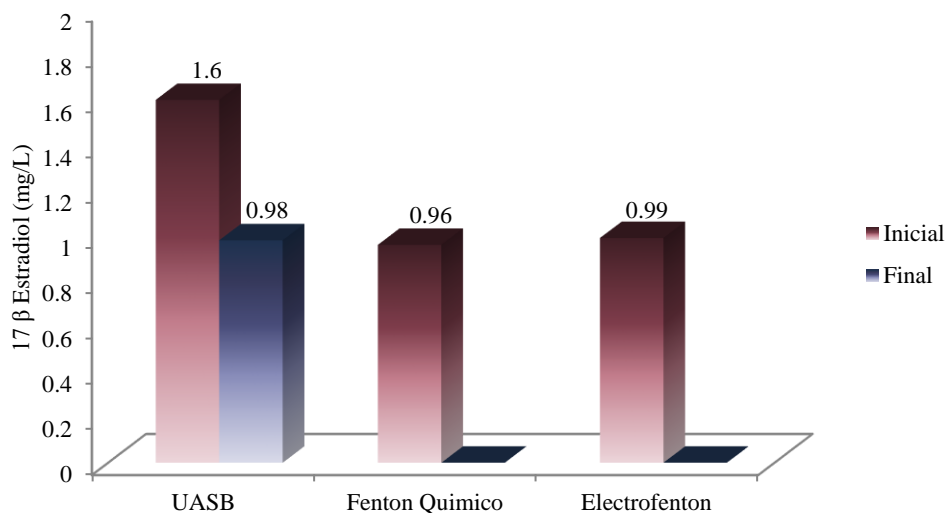
Es importante determinar la efectividad tanto del reactor UASB como de la celda electroquímica al trabajar con efluentes con altas concentraciones, (manteniendo los parámetros de operación constantes) y efectuar una comparación de los procesos para determinar si es conveniente usar como pos tratamiento un proceso biológico para bajar los costos del proceso combinado. Para el desarrollo del ensayo se utilizó como base el los mejores resultados en términos de depuración de materia orgánica, en caso del proceso biológico basándonos en los parámetros de tiempo de retención hidráulico y carga orgánica volumétrica, para el proceso de Fenton químico los principales parámetros fueron las concentraciones de los reactivos ($\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$) y por último en el tratamiento de Electrofenton los parámetros fueron densidad de corriente, tipo de electrodos y concentración de FeSO_4 . En la Gráfica 27 se presentan las concentraciones iniciales y finales de DQO, después de los diferentes tratamientos. Si se compara las columnas de los tratamientos aplicados tanto al influente como al efluente se aprecia que la aplicación de un proceso biológico al inicio del proceso combinado tiene una gran efectividad en la eliminación una gran parte de materia orgánica en el influente, la cual presenta una eliminación de 1464.26 mg/L DQO, lo que corresponde a alrededor de 71% de remoción de la cantidad inicial presentada. Para el efluente, al usar Fenton químico y

Electrofenton la eliminación es de menos de 713.75 mg/l y 504 mg/L de DQO respectivamente, lo que equivale a 79% de remoción en Fenton químico y 61.76% en Electrofenton.



Gráfica 27.- Cantidad de la DQO retirada mediante proceso Biológico (UASB) en el influente. Fenton químico al efluente y Electrofenton al efluente.

En la *Gráfica 28* se muestra las cantidades de 17 β Estradiol iniciales y finales para los procesos de tratamiento aplicados. La determinación de la concentración de la hormona se siguió por medio de HPLC, por lo cual se hizo una curva de calibración (*Anexos*) de este compuesto para determinar el tiempo de retención y poder calcular la concentración de nuestro compuesto mediante el área del pico o la señal que nos daba. Se pudo determinar que la aplicación de un proceso biológico no elimina totalmente este compuesto recalcitrante ya que la mayor concentración sigue persistente en la muestra, degradando solo 0.6mg/L lo que corresponde a un 38% de remoción de 17 β estradiol atribuyendo esta degradación al tipo de consorcios bacterianos que se encuentran en el reactor UASB, es por esto que es necesaria la aplicación de un pos tratamiento de la muestra para la eliminación de compuestos recalcitrantes. Después de la aplicación de los procesos de oxidación avanzada tanto Fenton como Electrofenton, se puede observar que la remoción del compuesto es total, logrando la degradación de este en los primeros minutos del tratamiento siendo así un porcentaje de remoción del 100%.



Gráfica 28.- Unidades de Estradiol eliminadas mediante los procesos aplicados: UASB, Fenton químico y Electrofenton.

7.10 Propuesta de tren de tratamiento para eliminación de hormonas persistentes en aguas residuales.

En base a los resultados obtenidos y el comportamiento de los parámetros evaluados y eficiencia de porcentajes de degradación de la materia orgánica y a las características de agua residual requeridas para un buen funcionamiento de los rectores UASB, se propone el tren de tratamiento para agua residual proveniente granjas lecheras, para la eliminación de materia orgánica y la degradación de las hormonas persistentes. A continuación se describen las etapas de la propuesta de planta de tratamiento.

Tratamiento preliminar. Es la primera unidad de la PTAR, constituye un proceso físico, cuyo objetivo es eliminar sólidos de gran tamaño, que puedan interferir con el buen funcionamiento de las bombas del tanque de homogeneización. El tratamiento preliminar consta de un sistema de rejillas, un triturador, desarenador y un tamiz para eliminar la mayor cantidad de sólidos de gran tamaño del agua residual.

Tanque de Homogeneización. La homogeneización de caudales es una operación importante en el pre tratamiento de las aguas residuales. La homogeneización de caudales será empleada con la

finalidad de alcanzar un caudal constante o casi constante, y concentraciones de contaminantes mucho más homogéneas. También para amortiguar las variaciones de pH que se puedan presentar.

Flotación por Aire Disuelto (DAF). Esta unidad sigue al tanque de homogeneización. En el DAF se llevará a cabo la operación física de flotación, cuya finalidad es reducir la concentración de los sólidos en suspensión, aceites y grasas presentes en el agua sometida a tratamiento. La principal ventaja de la flotación frente a la sedimentación consiste en que permite eliminar mejor y en menor tiempo las partículas pequeñas y ligeras cuya deposición es lenta.

Tratamiento biológico anaerobio. Consiste en un reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente, tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket).

Procesos de Oxidación avanzada (POA). El agua proveniente del reactor UASB llegará al sistema de oxidación avanzada con la finalidad de obtener la degradación de las hormonas persistentes contenidas en el agua residual.

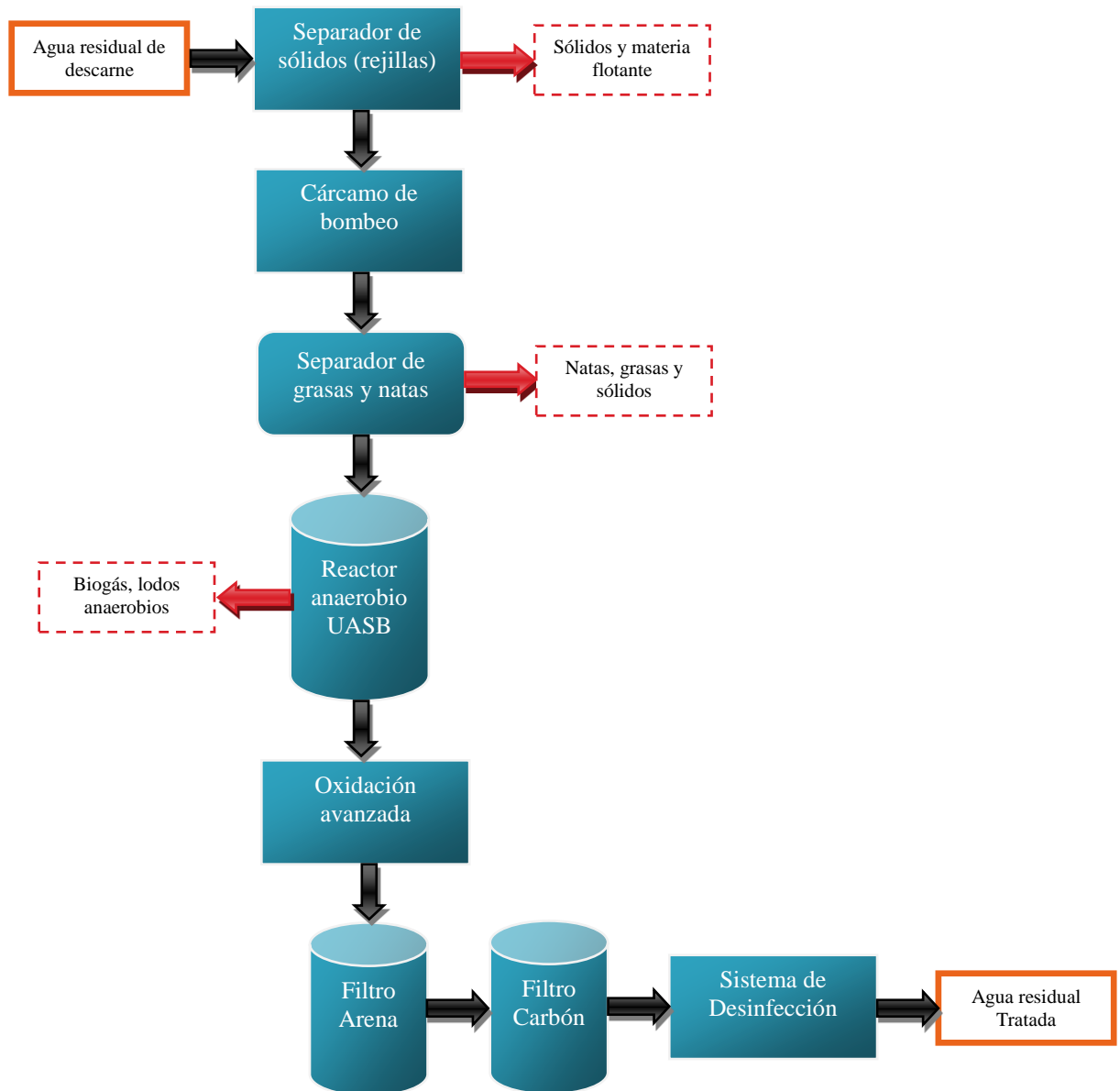
Tanque de almacenamiento de agua residual tratada. El agua residual tratada se almacenará en este tanque, con la finalidad de hacerla pasar primeramente por un filtro de grava y arena y posteriormente por otro de carbón activado.

Filtro de grava y arena y Filtro de carbón activado. El agua tratada será pasada primeramente por el filtro de grava y arena para eliminar los sólidos que aún hayan quedado, posteriormente se harán pasar por un filtro de carbón activado para eliminar olor y color.

Sistema de desinfección. Por último, el agua residual pasará por el sistema de desinfección, que en este caso se propone sea un sistema de cloración.

El tren de tratamiento y las unidades propuestas, se deberá diseñar para tratar el caudal específico de cada empresa en particular, y para que el agua residual tratada cumpla con lo establecido en la norma oficial mexicana NOM-002-SEMARNAT-1996 en el apartado de descarga a sistemas de alcantarillado urbano o municipal.

Una representación esquemática del tren de tratamiento propuesto se presenta en la figura siguiente:



7.11 Costos de Tratamientos

A continuación se presenta un costeo a groso modo de los tratamientos mediante los procesos de oxidación avanzada utilizados, basado solamente en el consumo de reactivos y de energía eléctrica:

Proceso	H ₂ SO ₄	NaOH	H ₂ O ₂	FeSO ₄	NaCl	Energía eléctrica	COSTO TOTAL
Fenton	9.1	1.9	20.0	7.2	0.0	0.0	38.1
Electrofenton	9.1	1.9	0.0	0.0	14.0	1.5	26.4

Nota: los precios están determinados por metro cúbico de agua tratada.

Aunado a lo anterior, se debe contemplar el tratamiento biológico anaerobio al que previamente se sometió el agua residual, el cual está para este tipo de procesos se estima en 3.5 pesos por metro cúbico. Basado en lo anterior, el costo final del tratamiento del agua residual sería:

Digestión anaerobia + Fenton: 41.6 \$/m³

Digestión anaerobia + Electrofenton: 29.9 \$/m³

8. Conclusiones

Los objetivos de este proyecto se cumplieron igual que las hipótesis establecidas.

Se llevó a cabo un análisis de resultados para resaltar las partes importantes de este estudio, durante el tratamiento de este tipo de aguas. El objetivo general era la eliminación de hormonas persistentes en aguas residuales mediante un proceso acoplado entre digestión anaerobia y procesos de oxidación avanzada, también enfocado en la eliminación de materia orgánica, sólidos, grasas y aceites.

Se llevaron a cabo diseños de experimentos para los procesos que se tomaron en cuenta, principalmente en digestión anaerobia tomando en cuenta un tiempo de retención de 18 horas, carga orgánica volumétrica de 2.5 kg/L*d DQO y una temperatura ambiente, en la cual se determinó que los resultados fueron muy buenos tanto en la degradación de materia orgánica con una eficiencia en DQO de 68% , 41% en sólidos y 70% en grasas y aceites, haciendo un efluente más biodegradable listo para un tratamiento de oxidación avanzada para que los costos fueran más económicos.

La cantidad de nitrógeno amoniacal no fue demasiado alta por lo que no existió ningún problema en la desestabilización del reactor y la inhibición de bacterias metanogénicas. El pH durante todo el proceso de digestión anaerobia fue muy estable permaneciendo entre 7 y 8 por lo que está dentro de los límites máximos permisibles de la norma, DQO de 551.5 mg/L, grasas y aceites 130.71 mg/L, y sólidos de 1.5 g/L.

En los procesos de oxidación avanzada se tomaron en cuenta los 2 procesos con mayores resultados siendo estos los de Fenton químico 1:15 [FeSo₄]=0.129g/L [H₂O₂]=1.94 g/L y Electrofenton 0.7 mM con una densidad de corriente de 31.25 mA/cm².

En el proceso de Fenton químico se analizaron los parámetros de DQO en materia orgánica y HPLC para verificar la presencia del compuesto a tratar y su posterior eliminación, obteniendo resultados positivos ya que se determinó que el 17 β Estradiol es eliminado en los primeros minutos del tratamiento y en cuanto la concentración de DQO valores de remoción fueron de 73% logrando obtener un efluente con una concentración de 187.2 mg/L.

Usando el proceso de Electrofenton se pudieron observar resultados parecidos en cuanto a la eliminación del compuesto 17 β Estradiol removiéndolo en los primeros 30 min. En cuanto a la degradación de DQO y TOC los resultados fueron los siguientes: logrando una eficiencia de remoción de DQO de 61% obteniendo un efluente de 310 mg/L y en TOC la eficiencia de remoción fue de 64% logrando un efluente de 85.86 mg/L.

Tomando en cuenta el análisis de costos exclusivos del tratamiento, se puede decir que el tratamiento de oxidación seleccionado para el tratamiento acoplado es el de Electrofenton ya que aunque ambos

procesos removieron el compuesto de 17 β Estradiol, en cuanto al consumo de reactivos el proceso de Fenton tradicional resulta más costoso. Cabe aclarar que esto no contempla los costos de inversión del sistema de tratamiento, lo cual podría revertir esta conclusión debido a que los electrodos utilizados para el proceso Electrofenton suelen ser muy caros. Para tomar una decisión basada en este principio, se debe hacer un análisis de tasa de retorno de la inversión, tomando en cuenta el volumen de agua a tratar y por consiguiente el dimensionamiento del sistema de tratamiento necesario.

9. Perspectivas

Este trabajo se inició para desarrollar un sistema el cual sea capaz de la eliminación de hormonas en aguas residuales principalmente de granjas lecheras, aunque existe la posibilidad de que sea utilizado en industrias farmacéuticas donde igual existe esta problemática. Para la optimización de este proceso se pueden tomar en cuenta los siguientes puntos.

- ◆ Iniciar un estudio a fondo para determinar si las bacterias que se mencionan en la literatura las cuales degradan compuestos estrogénicos, existen en nuestro medio y de qué forma podemos aplicarlas para obtener resultados más eficientes en la eliminación de estos compuestos.
- ◆ Darle seguimiento la remoción de la hormona mediante HPLC, conforme el tiempo en los tratamientos de oxidación avanzada tomando en cuenta que en este estudio se degradó en los primeros 30 min, por lo que el seguimiento de este compuesto se daría desde el minuto 5 en adelante u observar si tiene algún efecto desde los primeros minutos, para así tener una cinética de degradación del compuesto removido.
- ◆ Determinar qué tipos de compuestos de cadena corta se producen después de los tratamientos de oxidación avanzada mediante Cromatografía de líquidos, y que tratamiento puede ser aplicado para que exista una remoción completa de materia orgánica.

10. Anexos

10.1. Métodos Analíticos.

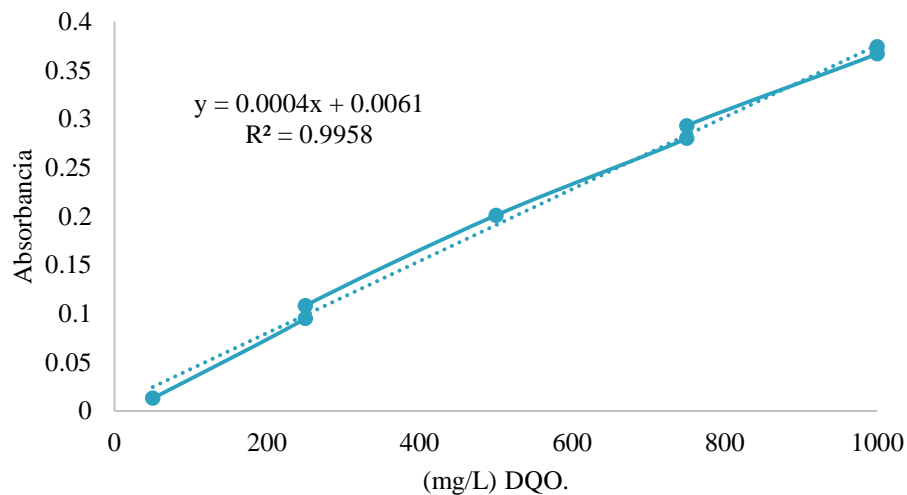
Los métodos analíticos usados durante el tiempo de operación del proceso biológico y los procesos de oxidación avanzada se muestran a continuación.

10.2. Demanda Química de Oxígeno.

Se entiende por demanda química de oxígeno (DQO), la cantidad de materia orgánica e inorgánica en un cuerpo de agua susceptible de ser oxidada por un oxidante fuerte. El método que involucra el uso de dicromato es preferible sobre procedimientos que utilizan otros oxidantes debido a su mayor potencial redox y su aplicabilidad a una gran variedad de muestras. (NMX-AA-030-SCFI-2001) Se realizó una curva de calibración preparando una dilución estándar de biftalato de potasio (1mL = 1mg de DQO) para lo cual se pesan 0.8510 g de biftalato de potasio y se afora a 1 L con agua destilada. Con la cual representaremos los mg/L de DQO. A continuación se prepararon otras disoluciones una de ellas conocida como de digestión (dicromato de potasio) para la cual se pesan 10.216g de dicromato de potasio, se añaden 500mL de agua destilada, adicionando posteriormente 167 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) y 33.3 g de sulfato mercuríco ($HgSO_4$). Todos los reactivos anteriores se disuelven y se aforan a 1L con agua. Por último la solución de sulfato de plata en ácido sulfúrico se prepara pesando 15 g de sulfato de plata (Ag_2SO_4) y disolviéndolo en un litro de ácido sulfúrico concentrado. Una vez teniendo las disoluciones se realiza una curva de calibración preparando disoluciones de biftalato que representen 50, 250, 500, 750 y 1000 mg /L, estas se colocan en los tubos de ensaye 1.5 mL de la disolución de sulfato de plata, se añaden 3.5 mL de la disolución de digestión y 2.5 mL de muestra de biftalato de potasio (esto se hace con todas las concentraciones de biftalato de potasio). Se cierran los tubos inmediatamente para evitar que se escapen los vapores. Se invierten los tubos varias veces destapando después de cada inversión para liberar la presión. Se colocan todos los tubos en el digestor previamente precalentado a 150°C por dos horas. Se retiran los tubos del digestor y se mide la absorbancia en el espectrofotómetro HACH DR/4000, ajustado en 600 nm. Se gráfica la curva de calibración con cinco concentraciones de biftalato conocidas y sus respectivas absorbancias (Figura A-1).

Tubo	Concentración DQO (mg/L)	Absorbancia
1	50	0.013
2	50	0.013
3	250	0.095
4	250	0.108
5	500	0.201
6	750	0.280
7	750	0.293
8	1000	0.367
9	1000	0.374

Tabla A 1.-Preparación de la curva estándar para la determinación de la DQO.



Gráfica A 1.- Curva de calibración para determinación de la demanda química de oxígeno

Las determinaciones de las muestras, se realizan de forma similar a la curva de calibración, solo que en lugar de tomar los 2.5 mL de Biftalato se tomara la muestra necesaria para la determinación de DQO.

Para la demanda química de oxígeno soluble se utiliza el mismo fundamento que para la DQO pero este análisis se realiza sobre la fracción soluble, es decir esta se obtiene mediante la centrifugación y separación sucesiva del sobrenadante, a una velocidad de 5,000 rpm durante 10 min.

Para la determinación del DQO durante los procesos de oxidación avanzada se usó la misma metodología para la preparación de estos, más sin embargo después de la digestión de los tubos, para conocer la concentración de DQO se hizo por medio de titulación como lo marca la NMX-AA-030-SCFI-2001.

Se preparó una disolución de sulfato ferroso amoniacal (0.25 M); en la que se disolvió en aproximadamente 800 mL de agua aproximadamente 98.0 g de sulfato ferroso amoniacal hexahidratado se agregó cuidadosamente 20 mL de ácido sulfúrico concentrado, y se dejó enfriar, se aforó a 1 L. Tomar una alícuota de 10 mL de la disolución estándar de dicromato de potasio 0.041 7 M Después de diluyó con agua hasta 100 mL, agregando cuidadosamente 30 mL de ácido sulfúrico concentrado y homogenizando, enfriando y valorando con la disolución de sulfato ferroso amoniacal 0.25 M. se utilizaron 3 gotas de 1,10-fenantrolina como indicador, hasta el cambio de color de azul verdoso a café rojizo.



Figura A 1.-Muestras de Oxidación avanzada después de la titulación para determinar DQO.

10.3. Determinación de pH

La determinación de este parámetro se realizó mediante un potenciómetro de marca Denver Instrument modelo UB-10 ultrabasic. Este parámetro se midió directamente sobre la muestra, midiendo por duplicado cada muestra; se realizó la calibración con diluciones tampón estándar de pH 4.7, 7 y 10.

10.4. Determinación de Carbono Orgánico Total.

Carbono orgánico total (COT) o TOC (en Inglés, Total Organic Carbon) es la cantidad de carbono unido a un compuesto orgánico y se usa frecuentemente como un indicador no específico de calidad del agua o del grado de limpieza de los equipos de fabricación de medicamentos. Se mide por la cantidad de dióxido de carbono que se genera al oxidar la materia orgánica en condiciones especiales.

$$COT(\text{Carbono Orgánico Total}) = CT(\text{Carbono Total}) - CIT(\text{Carbono Inorgánico Total})$$

El grado de mineralización de los compuestos en estudio se monitoriza con un analizador Shimadzu TOC-Vcsh-TNM-1 Para el análisis de carbono, todo el carbono existente en la muestra es convertido en CO₂ y posteriormente arrastrado hasta un detector infrarrojo no dispersivo. El analizador de TOC no diferencia entre el carbono de diferentes compuestos químicos, pero sí lo hace entre orgánico e inorgánico. Un horno catalítico a 720 °C nos asegura una total combustión catalizada del carbono orgánico en la muestra, mientras que el carbono inorgánico es volatilizado por acidificación de la solución. El COT, expresado en mg.L-1 de C, se obtiene por diferencia de las medidas de carbono total y carbono inorgánico.



Figura A 2.-Equipo para determinación de Carbono Orgánico Total.

10.5. Determinación de Alcalinidad Parcial y Total.

Para esta determinación se utilizó la metodología propuesta en el Standard Methods con algunas adecuaciones propuestas por Jenkins (1983).

Se centrifugó una muestra de 30 mL, durante 15 minutos a 6000 rpm en una centrifuga Spectrafuge 7M, posteriormente se toman del sobrenadante 20 mL, se mide el pH de nuestra muestra para conocer el valor y se comienza con la titulación con HCl 0.1 N hasta llegar a pH de 5.75 (V1), posteriormente se continua titulando hasta llegar a un pH de 4.3 (V2).

Alcalinidad total (AT) medida al punto pH 4.3.

Alcalinidad parcial (AP), asociada a la alcalinidad al bicarbonato, medida al punto de pH 5.75.

$$AT = \text{Alcalinidad Total} \left(\frac{\text{mgCaCO}_3}{L} \right) = \frac{V_{4.3} V_{4.3} N_{HCl} * 50000}{\text{Vol muestra (mL)}}$$

$$AP = \text{Al cal. Bicarbonato} \left(\frac{\text{mgCaCO}_3}{L} \right) = \frac{V_{5.75} N_{HCl} * 50000}{\text{Vol muestra (mL)}}$$

Dónde:

AT = Alcalinidad Total en mg de CaCO₃/L.

AP = Alcalinidad Parcial en mg de CaCO₃/L.

V_{4.3} = Volumen gastado HCl gastado para llegar a pH 4.3 (mL).

V_{5.75} = Volumen gastado HCl gastado para llegar a pH 5.75 (mL).

50 = Peso molecular del CaCO₃.

1000 = conversión de los g de CaCO₃ a mg.

N_{HCl} = Normalidad del HCl.

10.6. Determinación de Ácidos Grasos Volátiles.

A partir de las mediciones realizadas para la determinación de la alcalinidad total y parcial, la diferencia entre el volumen gastado para la titulación de la muestra a pH de 4.3 menos el volumen gastado hasta pH de 5.75 corresponde al volumen consumido por los AGVs (Ácidos Grasos Volátiles) presentes

$$AGVs \left(\frac{mg}{L} \right) = \text{Alcalinidad total} - \text{Alcalinidad parcial}$$

10.7. Determinación de sólidos.

El principio de este método se basa en la medición cuantitativa de los sólidos y sales disueltas así como la cantidad de materia orgánica contenidos en aguas naturales y residuales, mediante la evaporación y calcinación de la muestra filtrada o no, en su caso, a temperaturas específicas, en donde los residuos son pesados y sirven de base para el cálculo del contenido de estos.

La determinación del contenido de sólidos totales (ST) y de sólidos volátiles (SV) se realizó de acuerdo a NMX-AA-034-SCFI-2001 Los ST se determinaron mediante el peso del residuo seco, secado a 105°C en una estufa marca Yamato modelo DKN810, durante 24 horas. Se colocan aproximadamente 25mL de muestra en una cápsula de evaporación previamente a peso constante registrando el peso. Se coloca en la estufa a 103- 105°C por 24 horas. Después se pasan las muestras a un desecador por aproximadamente 30 min y se pesa registrando nuevamente el peso de ésta. Para el cálculo es los sólidos se utiliza la siguiente expresión:

$$\frac{mg}{L} \text{ de sólidos totales} = \frac{(mg \text{ residuo}(105^{\circ}C) * 1000)}{mL \text{ de muestra}}$$

La determinación de los sólidos volátiles (SV) y sólidos fijos (SF) se realizó sobre la misma muestra, mediante calcinación, en una mufla marca Furnace modelo 1500, a 550°C durante 2 horas. La cápsula con el residuo seco se introduce a una mufla a 550°C por 2 horas. A continuación la cápsula se mete a una estufa a temperatura de 103-105°C para bajar la temperatura y, posteriormente se coloca en un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente.

$$\frac{mg}{L} \text{ de solidos volatiles} = \frac{mg}{L} \text{ de ST.} - \frac{mg}{L} \text{ de fijos}$$

$$\frac{mg}{L} \text{ de solidos volatiles} = \frac{mg}{L} \text{ de ST.} - \frac{mg}{L} \text{ de fijos}$$

Para la determinación de los sólidos suspendidos totales (SST) se lleva a cabo el siguiente procedimiento: en un filtro gooch previamente a peso constante se filtran 10 mL de muestra con una bomba de vacío, se dejan secar a 105-103°C durante 1 hora, a continuación se deja enfriar durante 30 minutos dentro de un desecador y se vuelve a registrar el peso. Para los sólidos suspendidos fijos (SSF) y suspendidos (SSV) la muestra se calcina a 550°C durante 20 minutos, a continuación se disipa el calor en una estufa por 5 minutos y se deja enfriar en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente. Los sólidos se determinan de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$\frac{mg}{L} (SST) = \frac{mg \text{ residuo}(105^{\circ}C) * 1000}{mL \text{ de muestra}}$$

$$\frac{mg}{L} (SSF) = \frac{mg \text{ residuo } (550^{\circ}C) * 1000}{mL \text{ de muestra}}$$

$$\frac{mg}{L} (SSV) = \frac{mg}{L} SST - \frac{mg}{L} SSF$$

10.8. Determinación de Nitrógeno Amoniacal.

Esta prueba se realizó por medio del método espectrofotométrico utilizando el espectrofotómetro marca Hach modelo DR/4000U. La técnica consiste en utilizar viales comerciales marca Hach para rango alto (0-50 mg/L).

La determinación de nitrógeno consiste en agregar a los viales el reactivo de salicilato de amonio y posteriormente el sobre con el reactivo de cianuro de amonio. Debido a la alta concentración de nitrógeno en este tipo de efluentes fue necesario hacer una dilución 1:10 Enseguida se agrega 0.1 mL de la dilución y se agita el tubo de ensaye para mezclar perfectamente. Se da un tiempo de 20

minutos para hacer reaccionar los reactivos, enseguida se realizan las mediciones en el espectrofotómetro seleccionando el programa 2465 y automáticamente se selecciona la longitud de onda de 655nm que es la apropiada para esta prueba.

10.9. Grasas y Aceites.

Este método permite una estimación del contenido de grasas y aceites en aguas naturales, residuales y residuales tratadas al determinar gravimétricamente las sustancias que son extraídas con hexano de una muestra acuosa acidificada. La determinación de grasas y aceites es indicativa del grado de contaminación del agua por usos industriales y humanos.

En la determinación de grasas y aceites no se mide una sustancia específica sino un grupo de sustancias con unas mismas características fisicoquímicas (solubilidad).

Entonces la determinación de grasas y aceites incluye ácidos grasos, jabones, grasas, ceras, hidrocarburos, aceites y cualquier otra sustancia susceptible de ser extraída con hexano. NMX-AA-005-SCFI-2000 Se modifica el pH para que sea menor a 2 y previamente se ponen a peso constante los matraces balón de fondo plano. Se colocan en un papel filtro 100 mL de la solución de diatomeas-sílice y una vez acidificada la muestra, ésta se filtra. Con la ayuda de unas pinzas, el filtro junto con la muestra filtrada se transfiere a un cartucho de extracción de celulosa para Soxhlet, se limpian las paredes internas del embudo así como del frasco que contiene la muestra con trozos de papel filtro previamente impregnado de disolvente (hexano) y se colocan estos trozos de papel dentro del mismo cartucho de celulosa. Se seca el cartucho en estufa a 103-105°C por 30 minutos aproximadamente, transcurrido el tiempo colocar en el equipo Soxhlet para realizar la extracción. A continuación se le agrega un volumen adecuado de hexano al matraz de extracción. Para evitar impregnar el matraz de grasa se utilizan guantes de látex. Se coloca el equipo de extracción sobre una parrilla de calentamiento y el sistema se deja a reflujo durante un periodo de 4 horas. Una vez transcurrido el tiempo de reflujo se evapora el disolvente y se coloca en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente. Pesar el matraz de extracción y determinar el contenido de grasas y aceites mediante la siguiente formula:

$$G \text{ y } A \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{A - B}{V}$$

Dónde:

A= peso final del matraz de extracción (mg).

B= peso inicial del matraz de extracción (mg).

V= volumen de la muestra en litros.



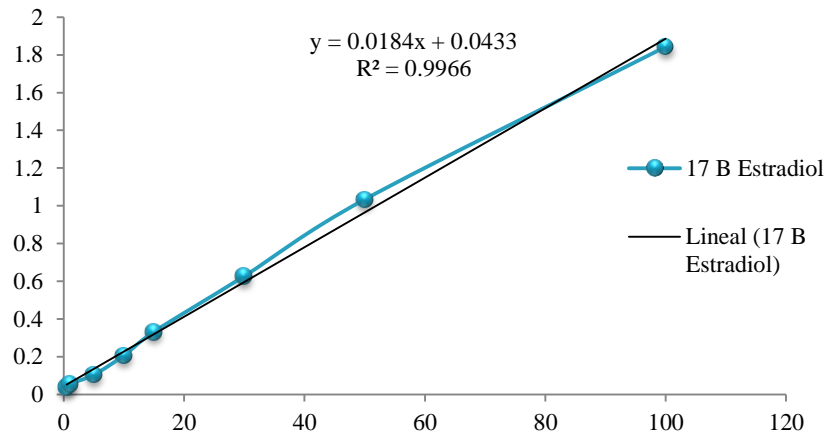
Figura A 3.-Extracción de Grasas y Aceites.

10.9. Curva de calibración de 17 β Estradiol en Espectrofotómetro

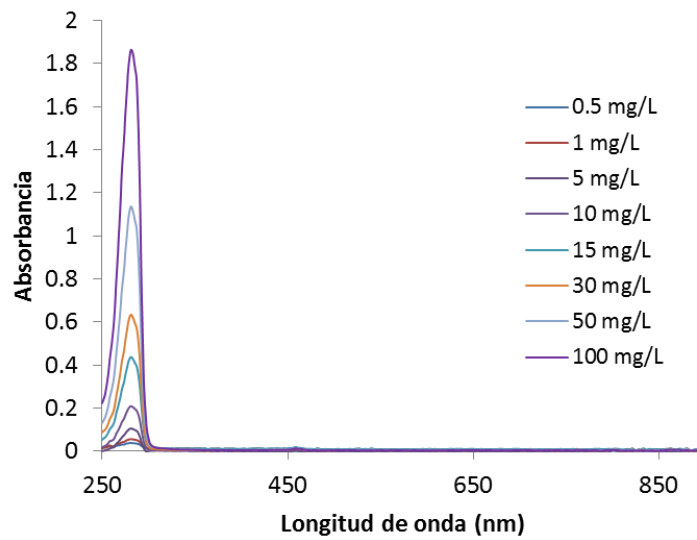
Según la literatura señala que la longitud de onda en la que se puede leer este compuesto es a 280 nm; por lo que se hicieron 8 muestras de las cuales todas fueron tomadas de la muestra madre de 100 mg/L con sus respectivas diluciones. Las muestras fueron las siguientes:

Muestras mg/L	Absorbancia	Concentración (mg/L)
0.5	0.0382484	-0.27454348
1	0.0557215	0.67508152
5	0.104643	3.3338587
10	0.206937	8.89331522
15	0.332745	15.7307065
30	0.627485	31.7491848
50	1.03385	53.8342391
100	1.84294	97.8065217

Tabla A 2.-Concentraciones para Curva de Calibración Espectrofotómetro.



Gráfica A 2.- Curva de Calibración en Espectrofotómetro.



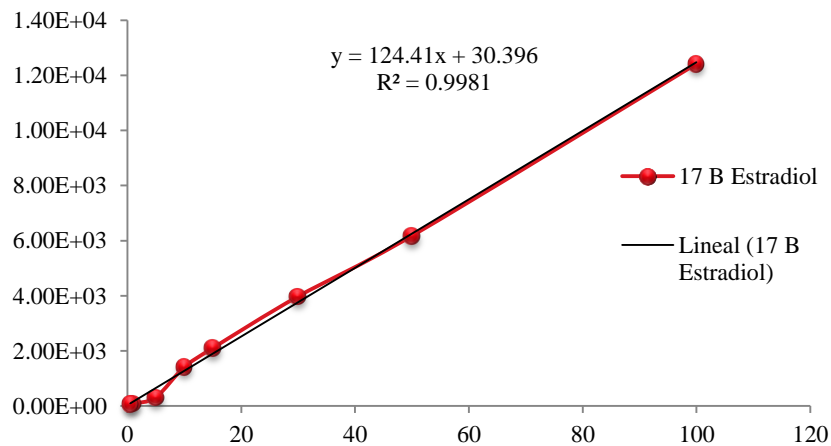
Gráfica A 3.- Espectrofotómetro de concentraciones de 17 B Estradiol.

10.10. Curva de calibración 17 β Estradiol Cromatografía de Líquidos.

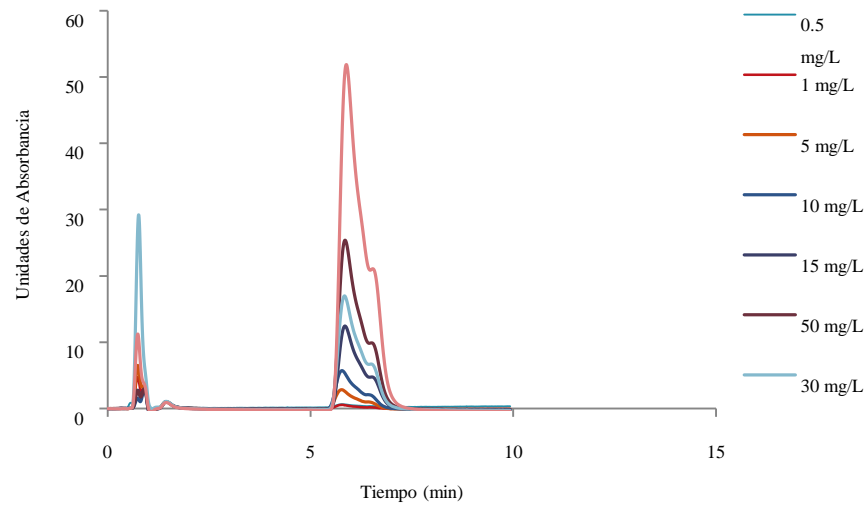
La curva de calibración usada para los resultados obtenidos en este estudio fueron con una longitud de onda de 197 nm la cual es donde se detectan los estrógenos, logrando determinar nuestro compuesto a un tiempo de 5.8 min.

mg/L	Área	Concentración (mg/L)
100	1.24E+04	99.57080621
50	6175.05518	49.39039611
30	3978.66821	31.73597147
15	2101.78076	16.6496645
10	1413.63062	11.1183556
5	317.61899	2.308680894
1	85.07793	0.439530022
0.5	66.98704	0.29411655

Tabla A 3 Concentraciones para Curva de Calibración HPLC.



Gráfica A 4.-Curva de Calibración HPLC.



Gráfica A 5.- Cromatografía de líquidos (HPLC) 17 β Estradiol.

11. Referencias

- Ana L. F. A. Andrade-Ribeiro, Aldo Pacheco-Ferreira, Cynara L. Nóbrega da Cunha, Ana S. Mendes- Kling.(2006) *Disruptores endocrinos: potencial problema para la salud pública y medio ambiente*. Secretaria Estadual de Salud, Rio de Janeiro Brasil.
- Andreas Kortenkamp A et al. (2012) STATE OF THE ART ASSESSMENT OF ENDOCRINE DISRUPTERS SUMMARY OF THE STATE OF THE SCIENCE European Commission, DG Environment.
- Angelidaki, I., Ahring, B.K. (1993). *Effect of the clay mineral bentonite on ammoni inhibition of anaerobic thermophilic reactors degrading animal waste Biodegradation*.3, p. 409-414.
- Antonia Elena Campos Pozuelo. (2001). *Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria*. Tesis Universidad de Lleida.
- Antonio Rodríguez Fernández-Alba, Pedro Letón García, Roberto Rosal García, Miriam Dorado Valiño, Susana Villar Fernández, Juana M. Sanz García (2006) *Tratamientos Avanzados de Aguas Residuales Industriales*. Fundación para el conocimiento Madrid CEIM.
- Aurelio Hernández Lehmann, Juan Antonio Cortacans Torre, Isabel del Castillo González, Aurelio Hernández Muñoz, (2006) *Eficacia de los tratamientos avanzados en la eliminación de sustancias estrogénicas* Cátedra de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Universidad Politécnica de Madrid.
- Ayda Luz Moya Moreno (1995) *Evaluación de una planta anaerobia UASB con agua residual doméstica de un sector residencial de Barranquilla* " Ingeniería & Desarrollo. Universidad del Norte. 1:90-101,
- Banerjee P., Gupta S.D., De S.,(2007). 'Removal of dye from aqueous solution using a combination of advanced oxidation process and nanofiltration', *Journal of Hazardous Materials*, 140, 95–103,
- Barrault, J.; Abdellaoui, M.; Bouchoule, C.; Majesté, A.; Tatibouët, J.M.; Louloudi, A.; Papayannakos, N.; Gangas, N.H., (2000), *Catalytic wet peroxide oxidation over mixed (Al-Fe) pillared clays*. *Appl. Catal., B*, 27, L225-L230.
- Bautista P., Mohedano A.F., Casas J.A., Zazo J.A., Rodríguez J.J., (2008). 'An overview of the application of Fenton oxidation to industrial wastewaters treatment', *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 83, 1323–1338.
- Bila DM, Dezotti M. (2003) *Fármacos no meio ambiente*. *Química Nova*; 26:523-30.

- Bradford, S. A.; Segal, E.; Zheng, W.; Wang, Q.; Hutchins, S. R..(2008), *Reuse of concentrated animal feeding operation wastewater on agricultural lands*. J. Environ. Qual.37, S97–S115.
- Brillas, E., Sirès, I., Arias, C., Cabot, P. L., Centellas, F., Rodriguez, R. M., Garrido, J. A. (2005), “*Mineralization of paracetamol in aqueous medium by anodic oxidation with a boron-doped diamond electrode*”, Chemosphere, 58, 399-406.
- Brito, A., Rodrigues, A., y otros (1997). *Granulation during the start-up of a UASB reactor used in the treatment of low strength wastewaters*. Biotechnology letters. 19: 363-367.
- Bryant, M., Tzeng, S., y otros (1971). *Nutrient requirements of methanogenic bacteria*. *Anaerobic biological treatment processes*. Advances in chemistry series, 105.
- Cairó J.J., París, J.M. (1988). *Microbiología de la digestión anaerobia, metanogénesis*. *Actas del 4th seminario de tratamiento anaerobio de aguas residuales*. Valladolid, pag.41-51.
- Cañizares P., Lobato J., Paz R., Rodrigo M.A., Sáez C.,(2007) ‘Advanced oxidation processes for the treatment of olive-oil mills wastewater’, Chemosphere, 67, 832–838.
- Carr, B R , (1992) Disorders of the ovary and female reproductive tract. In Williams Textbook of Endocrinology, 8th edition. Edited by Wilson, J D and Foster, D W Philadelphia, PA: W B Saunders Co., 733-798,
- Catalkaya E.C., Kargi F., (2008)Advanced oxidation treatment of pulp mill effluent for TOC and toxicity removals', Journal of Environmental Management, 87, 396–404.
- Cominellis,Ch.; de Battisti, A. (1996). Electrocatalysis in anodic oxidation of organics with simultaneous oxygen evolution. J. Chim. Phys. 93: 673-679.
- Daughton, C. y Ternes, T. (1999). "Pharmaceuticals and Personal Care Products in the environment: Agents of subtle change" Environ. Health Perspectives 107:907-938.
- Desbrow, C., Routledge, E.J., Brighty, G.C., Sumpter, J.P., Waldock, M.,(1998). Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. Environmental Science & Technology 32, 1549e1558.
- Deublein, D. and A. Steinhauser (2008). Biogas from waste and renewable resources. Weinheim, Willey-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Dolores Romano Mozo (2012); DISRUPTORES ENDOCRINOS: Nuevas respuestas para nuevos retos Instituto Sindical de Trabajo, Ambiente y Salud (ISTAS)

- E. Carlsen, A. Giwercman, N. Keiding and N. E Skakkebaek, Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Br med, J.*, 1992,305,609
- Elena Campos, Xavier Elias y Xavier Flotats (2012) *Procesos biológicos: La digestión anaerobia y el Compostaje* pp 618
- El-Ghenemy, A.; Arias, C.; Cabot, P,L.; Centellas, F.; Garrido, J.A.; Rodriguez, R,M,; Brillas, E. (2012) Electrochemical incineration of sulfanilic acid at a boron.doped diamond anode. *Chemosphere*, 19: 1126-1133.
- EPA United States Enviromental Protection Agency
- Ferguson, T., Mah, R. (1987). “Methanogenic bacteria”, en *Anaerobic digestion of biomass*. Editado por Chynoweth, D. Y yIsaacson, R. Elsevierappliedscience LTD.
- Fernández, J., Pérez, M., Romero, L. I. (2008). Effect of substrate concentration on dry mesophilic anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). *Bioresource Technology* 99 6075–6080
- Ferre, J.; Viñas, J.M: (2002). Degradación del 2,4-DP en medio acuoso mediante AEOP’ EUETIB
- Ferreira, N.P. and Tracey, R.P., (1984). Numerical taxonomy of cholesterol-degrading soil bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, **57**, 429-446
- Francisco Osorio Robles, Juan Carlos Torres Rojo y Mercedes Sanchez Bas (2010) *Tratamiento de aguas para la eliminación de microorganismos y agentes contaminantes* pp 47
- Fujii, K., Kikuchi, S., Satomi, M., Ushio-Sata, N. and Morita, N., (2002). Degradation of 17 beta-estradiol by a gram-negative bacterium isolated from activated sludge in a sewage treatment plant in Tokyo, Japan. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 2057-2060
- Fujii, K., Satomi, M., Morita, N., Motomura, T., Tanaka, T. and Kikuchi, S., (2003) *Novosphingobium tardaugens* sp nov., an oestradiol-degrading bacterium isolated from activated sludge of a sewage treatment plant in Tokyo. *Int. J. Syst. Evol. Microbol.*, **53**, 47-52
- Gallard H., DeLaat J., Legube B., (1998). ‘Effect of pH on the oxidation rate of organic compounds by Fe-II/H2O2. Mechanisms and simulation’, *New Journal of Chemistry*, 22, 263–268.
- García-Gámez, C., P. Gortáres-Moroyoqui y P. Drogui (2011) *Tratamientos biológicos y de oxidación avanzada combinados para una solución a la biotecnología ambiental. Ideas CONCYTEG*, 6 (71), pp. 585-605

- García-Montaña J. (2007). Tesis doctoral. Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for commercial reactive azo dyes removal. Departamento de Química. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Gaspar M. Mejía Sánchez (1996) IV Utilización de la digestión anaerobia. Pag 41.
- Gladys Vidal S. Jessica Nieto J. Fernando Márquez R. Héctor Mansilla H. Cristian Bornhardt B. (2002) Combinación de procesos biológicos y de oxidación avanzada para el tratamiento de una corriente de proceso de la industria de curtiembre.
- Gogate P.R., Pandit A.B.,(2004). ‘A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions’, *Advances in Environmental Research*, 8, 501–551,
- Gonzales GF (1997). Serotonina sanguínea: Regulación y significación endocrina. *Rev. Soc Per. Endocrinol*; 3:77-94.
- Gossett J.M. & Belser R.L. (1982). Anaerobic digestion of waste activated sludge. *Journal Environmental Engineering ASCE* 108 p.1101---1120.
- Granger, M.C.; Xen, Q.; Strojek, J.W.; Lister, T.E.; Swain, G.M.; *Anal. Chem* (1997).
- H.O. Adami, R. Bergstrom, M. Mohner, W. Zatonski, H. Storm, A. Ekblom, S. Tretli, L. Teppo, H. Zeigler, M. Rahu, R. Gurevicius and A. Stengrevics, *Int.J. Cancer*, (1994), 59, 33
- Haiyan, R., Shulan, J., ud din Ahmad, N., Dao, W. and Chengwu, C., (2007). Degradation characteristics and metabolic pathway of 17-alpha-ethynylestradiol by *Sphingobacterium* sp. *JCR5. Chemosphere*, **66**, 340-346
- Hall, J E Polycystic ovarian disease as a neuroendocrine disorder of the female reproductive axis. In *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America, Neuroendocrinology II*. Edited by Veldhuis, J D Philadelphia, PA: W B Saunders Co., 75-92
- Hills, D.J., Nakano, K. (1984). Effects of particle size on anaerobic digestion of tomato solid wastes. *Agricultural Wastes*. Vol. 10, pag. 285-295.
- Hobson, P. (1990). The treatment of agricultural wastes. *Anaerobic digestion: a waste treatment technology*. Critical reports of applied chemistry vol 31.
- Hulshoff-Pol, L. (1989). The phenomenon of granulation of anaerobic sludge. Tesis doctoral. Universidad Agrícola de Wageningen, Holanda.
- Ince N.H., Tezcanli G. (1999). Treatability of textile dye-bath effluents by advanced oxidation: preparation for reuse. *Water Science and Technology*. 40, 183-190.

- J. Auger, J.M. Kunstmann, F. Czyglik and P. Jouannet, N. (1995) Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *Engl. J. Med.*,332,281
- J. De Mouzon, A, Spira, P Thonneau and L. Multigner,(1996) Declining sperm count. Semen quality has declined among men born in France since 1950. *Br. Med. J*,313,43
- J.J Bermudes, M. Canovas, A. Manjon, J.L. Iborra y J.A Howell. (1988) La digestión anaerobia Universidad de Murcia
- J.J. Rodríguez, J.A. Casas, A.F. Mohedano, J.A. Zazo, G. Pliego y S. Blasco Sección de Ingeniería Química. Universidad Autónoma de Madrid,
- J.L. Jacobson and S.W. Jacobson,(1996) Intellectual impairment in children exposure to polychlorinated biphenyls in utero *N Engl, J. Med.*,,335,783.
- JARABO, F., (1999). La energía de la biomasa. 2º ed. Madrid: S.A.P.T publicaciones técnicas, S.L.
- Jason W. Bett; John N. Lester (2003) Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes pp 1-4
- Jenkins, S., Morgan, J., y otros (1983). Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. *Journal of Water Pollution* 55:448-453.
- Jobling, S.; Nolan, M.; Tyler, C. R.; Brighty, G.; Sumpter, J. P. (1998), Wildspread sexual disruption in wild fish. *Environ. Sci. Technol.* 32, 2498–2506.
- Kitis M., Adams C.D. and Daigger G.T., (1999). ‘The effects of Fenton’s reagent pretreatment on the biodegradability of non-ionic surfactants’, *Water Research*, 33 (11), 2561–2568.
- Komatsu,T., Hanaki,K. and Matsuo,T. (1991) Prevention of lipid inhibition in anaerobic processes by introducing a two-phase system.*WaterScience and Technology*, 23 (7- 9), p. 1189-1200.
- Koster, I. (1986). Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH-levels. *Water resource.* 20:1561-1567.
- Kotze, J. P., et al. *Anaerobic Digestion II. The Characterization and Control of Anaerobic Digestion.* *Water Research*, 3: 459, 1969.
- Kugelman, I.J., and McCarty, P.L. (1965). “Cation toxicity and stimulation in anaerobic waste treatment. Slug feed studies.” *Journal of the Water Pollution Control Federation.* 37, 97-116
- Kugelman, I.J., Chin, K.K. (1971). Toxicity synergism, and antagonism in anaerobic waste treatment processes. *Ananerobic biological treatment processes. Advances in chemistry series*, 105. American chemical society. Washington D.C.

- L. M Brown, L. M Pottern, R. N Hooever, S.S Devesa, P. Aselton and J.T. Flannery, (1986) Testicular cancer in the United States: trends in incidence and mortality. *Int. J. Epidemiol*, 15, 164.
- L.D.Nghiem, A.Manis, K.Soldenhoff, A.I.Schäfer (2004) Estrogenic hormone removal from wastewater using NF/RO. *Journal of Membrane Science* 242 pp.37–45.
- Lalman J.A. & Bagley D.M. (2001). Anaerobic degradation and methanogenic inhibitory effects of oleic and stearic acids. *Water Research* 35 (12) p. 2975--•]2983
- Lapertot M., Ebrahimi S., Dazio S., Rubinelli A., Pulgarin C. (2007). Photo-Fenton and biological integrated process for degradation of mixture of pesticides. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 187, 40-40.
- Laura N. Vandenberg, Theo Colborn, Tyrone B. Hayes, Jerrold J. Heindel, David R. Jacobs, Jr., Duk-Hee Lee, Toshi Shioda, Ana M. Soto, Frederick S. vom Saal, Wade V. Welshons, R. Thomas Zoeller, and John Peterson Myers. (2012) Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals: Low-Dose Effects and Nonmonotonic Dose Responses. *Endocrine Reviews*, pp.2011-1050.
- Layton, A.C., Gregory, B.W., Seward, J.R., Schultz, T.W. and Sayler, G.S., (2000). Mineralization of steroidal hormones by biosolids in wastewater treatment systems in Tennessee USA. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 3925-3931
- Lesley and Clinton (2005) *Science of The Total Environment* Volume 343, Issues 1–3, Pages 1-292
- Lettinga, G. (1995). Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. *Antoine van Leeuwenhoek*. 67: 3-28.
- Lettinga, G. Hulshoff, P. (1995) Anaerobic wastewater treatment technology with emphasis to upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactor system. Universidad del valle. Cali
- Lintelmann, J., Katayama, A., Kurihara, N., Shore, L., Wenzel, A., (2003). Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical report). *Pure and Applied Chemistry* 75, 631e681.
- Lu M.-C., Lin C.-J., Liao C.-H., Ting W.-P., Huang R.-Y., (2001) ‘Influence of pH on the dewatering of activated sludge by Fenton’s reagent’, *Water Science Technology*, 44 (10), 327–332.
- Luciano Bautista Suárez (2011) “degradación de Colorantes (azul de metileno) por Métodos Electroquímicos Universidad Veracruzana Facultad de Ciencias Químicas. pp 23-24

- MacLeod, F., Guiot, S., y otros (1990). Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. *Applied Environmental Microbiology*. 56: 1598–1607.
- Madigan, M., Martinko, J. (1998). *Biología de los microorganismos*. Editorial Prentice Hall International (UK) Ltd. 8a edición.
- Mantzavinos, D. and Psillakis, E., (2004), Enhancement of biodegradability of industrial wastewaters by chemical oxidation pre-treatment. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 79, 431-454.
- Margarita Salazar González. (2009) *Sistemas integrales de tratamiento de aguas residuales, mediante el uso combinado de digestión anaerobia y micro algas* Departamento de Biotecnología, UAM–Iztapalapa.
- Mariana F. Fernández, Begoña Olmos, Nicolás Olea (2007) *Exposición a disruptores endocrinos y alteraciones del tracto urogenital masculino (criptorquidia e hipospadias)* Laboratorio de Investigaciones Médicas, Universidad de Granada, Granada, España
- Martinez O.: (2008) *Mejoras en el tratamiento de lixiviados de vertedero de RSU mediante procesos de oxidación avanzada*. Tesis doctoral. Univ. De Cantabria.
- MCCARTY P.L., MCKINNEY R.E., (1961). Salt toxicity in anaerobic digestion. *J. Water Pollut. Control Fed.* 33, pp. 399–415.
- McCarty, P. (2001). The development of anaerobic treatment and its future. *Water Science and Technology*. 44: 149–156.
- McCarty, P.L.(1964), *Anaerobic Waste Treatment Fundamentals- Part I: Chemistry and Microbiology*, Pub. Works, Sept.
- McCreery,R.L.; Kneten, K.R.; (1992) Effects of redox system structure on electron.transfer kinetics at order graphite and glassy-carbon electrodes *Anal.Chem* 64 2518
- McCreery,R.L.; Kneten, K.R.; (1996) Control of Electron Transfer Kinetics at Glassy Carbon Electrodes by Specific Surface Modification *Anal.Chem* 68 3958
- McHugh, S., O'Reilly, C., y otros (2003). Anaerobic granular sludge bioreactor technology. *Reviews in environmental science and biotechnology*. 22: 225-245.
- Metcalf &Eddy. (2003).*Wastewater Engineering*. 4th Ed. New York: McGraw Hill.
- Metzler, D.E. (1981). *Catabolismo de los azúcares*. *Bioquímica: Las reacciones químicas en las células vivas*. Ed. Omega, S.A. Barcelona.

- Monnet F. (2004). An introduction to anaerobic digestion of organic waste, Final Report, Remade Scotlan, November.
- Mosey, F. (1983). Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. *Water science and technology*. 15, p.209-232.
- Muñoz Valero, J.A., Ortiz Cañavate, J., Vázquez Minguela, J.(1987). Técnica y aplicaciones agrícolas de la biometanización. Serie Técnica- Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid.
- Neyens E., Baeyens J., (2003). ‘A review of classic Fenton’s peroxidation as an advanced oxidation technique’, *Journal of Hazardous materials B*, 98, 33–50,
- Nicolás Olea Serrano María Tarancón Estrada (2007) Disruptores endocrinos y medio ambiente NMX-AA-030-SCFI-2001 ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA
- O. Legrini, E. Oliveros y A.M. Braun, (1993). Photochemical processes for water treatment *Chem. Rev.*, 93, 671-698
- O’Connor, G. A.; Elliott, H. A.; Bastian, R. K. Degraded water reuse: An overview. *J. Environ. Qual.* (2008), 37, S157–168.
- Oller, I.; Malato, S.; Sánchez-Pérez, J.A.; Maldonado, M.I.; Gernjak, W.; Pérez-Estrada, L.A., (2007), Advanced oxidation process-biological system for wastewater containing a recalcitrant pollutant. *Water Sci. Technol.*, 55, 229-235.
- Oturan, M. A. (2000), “An ecologically effective water treatment technique using electrochemically generated hydroxyl radicals for in situ destruction of organic pollutants”, *J. Appl. Electrochem.*, 30, 475–482.
- Oturan, M. A., Oturan, N., Lahite, C., Trévin, S. (2001), “Production of hydroxyl radicals by electrochemically assisted Fenton’s reagent. Application to the mineralization of an organic micropollutant, pentachlorophenol”, *J. Electroanal. Chem.*, 507, 96–102.
- Oturan, M. A., Peirotten, J., Chartrin, P., Acher, A. J. (2000), “Complete destruction of p-nitrophenol in aqueous medium by electro-Fenton method”, *Environ. Sci. Technol.*, 34, 3474-3479.
- P. Bromwich, J. Cohen. I.Stewart and A. Walker,(1992) Decline in sperm counts: an artefact of changed reference range of "normal" *Br. Med.J.*,.1994,309,19.

- Pavlostathis, S.G., Giraldo-Gómez, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment: a critical review. *Critical reviews in environmental control*. 21 (5,6), p. 411-490.
- Pérez Rivera J.A.; Villatoro Monzón W.R.; Pérez Zeomeno H.R.; Gutiérrez Medrano A.L.; Pizano García M.J.(2009) Búsqueda de alteradores endocrinos durante el tratamiento de aguas residuales.
- Pignatello J.J., (1992). 'Dark and photoassisted Fe³⁺-catalytic degradation of chlorophenoxy herbicides by hydrogen peroxide', *Environmental Science & Technology*, 26, 944–951.
- Poyatos J. M., Muñio M. M., Almecija M. C., Torres J. C., Hontoria E., Osorio F., (2010). 'Advanced oxidation processes for wastewater treatment: state of the art', *Water Air & Soil Pollution*, 205, 187–204.
- R.E Hester and R.M Harrison.(2001) Endocrine disrupting chemical issues in environmental Science and technology pp 4-5
- Racz, L.A., Goel, R.K., (2010). Fate and removal of estrogens in municipal wastewater. *Journal of Environmental Monitoring* 12, 58e70.
- Ramiro Vallejo-Rodríguez, Alberto Lopez-Lopez, Hugo Saldarriaga-Noreña, Mario Murillo-Tovar, Leonel Hernández-Mena1 (2011) Optimization of Analytical Conditions to Determine Steroids and Pharmaceuticals Drugs in Water Samples Using Solid Phase-Extraction and HPLC *American Journal of Analytical Chemistry*, 2, 863-870
- Ratledge, C. (1992). Microbial Oxidations of fatty alcohols and fatty acids, en Mini-review compilation: Biodegradation and Biotransformations of oils and fats. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. Vol. 55, 397-414.
- Reyes-Fuentes, A. and Veldhuis, J D (1993). Neuroendocrine physiology of the normal male gonadal axis. In *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. Edited by Veldhuis, J D Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co., 22:93-124.
- Rizzo L., Lofrano G., Grassi M., Belgiorno V., (2008) 'Pre-treatment of olive mill wastewater by chitosan coagulation and advanced oxidation processes' , *Separation and Purification Technology*, 63, 648–653.
- Robbins, J., Gerhardt, A. (1989). Effects of total ammonia on anaerobic digestion and an example of digester performance from cattle manure- protein mixtures. *Biological wastes*, 8:1-14.

- Robert Bigsby, Robert E. Chapin, George P. Daston, Barbara J. Davis, Jack Gorski, L. Earl Gray, Kembra L. Howdeshell, R. Thomas Zoeller, and Frederick S. vom Saal (1999) Evaluating the Effects of Endocrine Disruptors on Endocrine Function during Development.
- Rodrigues, C.S.D.; Madeira, L.M.; Boaventura, R.A.R., (2009), Treatment of textile effluent by chemical (Fenton's Reagent) and biological (sequencing batch reactor) oxidation. *J. Hazard. Mater.*, 172, 1551-1559.
- Sarmah, A. K.; Meyer, M. T.; Boxall, A. B. A. (2006) A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics
- SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA, DESARROLLO RURAL PESCA Y ALIMENTACION Subsecretaría de Desarrollo Rural Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural Sistema de producción de leche en granjas bovinas familiares
- Sekiguchi, Y., Kamagata, Y., y otros (1998). Diversity of mesophilic and thermophilic granular sludge determined by 16S rRNA gene analysis. *Microbiología*. 22: 2655–2665.
- Shi, J., Fujisawa, S., Nakai, S. and Hosomi, M., (2004). Biodegradation of natural and synthetic estrogens by nitrifying activated sludge and ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea*. *Water Res.*, **38**, 2323-2330
- Shi, J.H., Suzuki, Y., Lee, B.D., Nakai, S. and Hosomi, M., (2002). Isolation and characterization of the ethynylestradiol biodegrading microorganism *Fusarium proliferatum* strain HNS-1. *Water Sci. Technol.*, **45**, (12), 175-179
- Sirés, I., Centellas, F., Garrido, J. A., Rodríguez, R. M., Arias, C., Cabot P. L., Brillas, E. (2007), “Mineralization of clofibric acid by electrochemical advanced oxidation processes using a boron-doped diamond anode and Fe²⁺ and UVA light as catalysts”, *Appl. Catal. B: Environ.*, 72, 373-381.
- Sirtori C., Zapata A., Oller I., Gernjak W., Agüera A., Malato S. (2009). Decontamination industrial pharmaceutical wastewater by combining solar photo-Fenton and biological treatment. *Water Research*, 43, 661-668.
- Sleat, R., Mah, R. (1987). “Hydrolytic bacteria”, en *Anaerobic digestion of biomass*. Editado por Chynoweth, D. Y y Isaacson, R. Elsevier applied science LTD.
- Sonia Martínez Sanchs; Mercedes Almela Zamorano; Carmen Carrasco Pozo; Ma Teresa Colomina Fosch; Esperanza Gonzales Bono; Luis Moya Albiol; Rosa Redolat Ibarra; Ferran Suay i

- Lerma; Marjolein Torenbeek; Paloma Viceris Calderónn(2007) Hormonas estado de ánimo y función cognitiva Delta Publicaciones Universitarias pp 14.
- Stams, A.J.M. (1994). Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. *Antonie van Leeuwenhoek*. 66, p.. 271-294.
- State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals – 2012 Åke Bergman, Jerrold J. Heindel, Susan Jobling, Karen A. Kidd and R. Thomas Zoeller pp 7-8
- Summers, R., Hobson, P. Harries, C. (1987). Stirred-tank, mesophilic anaerobic digestion of fattening cattle wastes and of whole and separated dairy-cattle wastes. *Biological wastes*, 20:43-62.
- Sung S., Liu T. (2001). Ammonia inhibition on thermophilic acetoclastic methanogenic. Proc. 9th World Congress on anaerobic digestion I: Antwerp, Belgium, p 401-407.
- Tabb M, Blumberg B. (2006). New modes of action for endocrine-disrupting chemicals. *Mol. Endocrinol*. 20:475–82
- Tang W.Z., Huang C.P., (1996). ‘2,4-Dichlorophenol oxidation kinetics by Fenton’s reagent’, *Environmental Technology*, 17, 1371–1378,
- Tantak, N.P. and Chaudhari, S.,(2006), Degradation of azo dyes by sequential Fenton’s oxidation and aerobic biological treatment. *J. Hazard. Mater.*, 136, 698-705.
- Terry Damstra Aake Bergman Glen Van Der Kraak Robert KavlockSueBarlow (2003) Evaluación Global del estado de la ciencia sobre Disruptores Endócrinos Argentina.
- Thrope, K. L.; Cummings, R. L.; Tutchinson, T. H.; Scholz, M.; Brighty, G.; Sumpter, J. P.; Tyler, C. R. (2003), Relative potencies and combination effects of steroidal estrogens in fish. *Environ. Sci. Technol*. 37, 1142–1149.
- Ugur Kurt, Omer Apaydin, M. Talha Gonullu (2007): Reduction of COD in wastewater from an organized tannery industrial region by Electro-Fenton process. *J. Hazar. Mater*. 143 33–40
- Urriaga A., Muela C., González L., Ortiz I.,(2001) ‘Desarrollo de un proceso más limpio basado en la oxidación Fenton para el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de materia orgánica’, *Medio Ambiente*, 53–60.
- Üstün G.E., Solmaz S.K.A., Morsünbül T., Azak H.S., (2010). ‘Advanced oxidation and mineralization of 3-indole butyric acid (IBA) by Fenton and Fenton-like processes’, *Journal of Hazardous Materials*, 180, 508–513.

- Van Lier, J.B., Tilche, a., Ahring, B.K., Macarie, h., Moletta, R., Dohanyos, M., Hulshoff Pol, L.W., Lens P. Y Verstraete W., (2001). New perspectives in anaerobic digestion. *Water Science & Technology*, Vol 43 No 1 pp 1–18.
- Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR Jr, Lee DH, Shioda T, Soto AM, vom Saal FS, Welshons WV, Zoeller RT, Myers JP.(2012) Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. 378-455. Epub
- Vanrolleghem, P.A. and Lee, D.S. (2003) On-line monitoring equipment for wastewater treatment processes: State of the art. *Water Science and Technology*, 47(2), 1-34.
- Veeken, A., Hamelers, B. (1999) Effect of temperature on hydrolysis rates of selectes biowaste components. *Bioresource technology*. Vol. 29, pag. 249-254
- Walling C., (1975). ‘Fenton’s reagent revisited’, *Acc. Chem. Res.*, 8, 125–131.
- Wang X., Chen S., Gu X., Wang K.. (2009). Pilot study on the advanced treatment of landfill leachate using combined coagulation, fenton oxidation and biological aerated filter process. *Waste Management*,29,1354-1358.
- Watanabe, K., Aihara, H., Tachi, N. and Nakamura, R., (1987). Degradations of 4-cholesten-3-one and 1,4-androstadiene-3,17-dione by cholesterol-degrading bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, **62**, 151-155
- Weber, S., Leuschner, P., Kampfer, P., Dott, W. and Hollender, J., (2005). Degradation of estradiol and ethinyl estradiol by activated sludge and by a defined mixed culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **67**, 106-112
- WeiZheng, XiaolinLiottR.Yates, A.Bradford. (2012) Cinética Anaerobic Transformation Kinetics and Mechanism of Steroid Estrogenic Hormones in Dairy Lagoon Water American Chemical society.
- Wilkie A.C., Smith P.H. y Bordeaux F.M. (2004). An economical bioreactor for evaluating biogas potential of particulate biomass.*Bioresource Technology*, 92 p.103- 109.
- Xu X.R., Li X.Y., Li X.Z., Li H.B., (2009).‘Degradation of melatonin by UV, UV/H2O2, Fe2+/H2O2 and UV/Fe2+/H2O2 processes’, *Separation and Purification Technology*, 68, 261–266.
- Y.K.K. Koh, T.Y. Chiu. Boobis E. Cartmell , J.N. Lester , M.D. (2007) Determination of steroid estrogens in wastewater by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry Scrimshawc, *Journal of Chromatography A*, 1173, 81–87

- Y.K.K. Koh , T.Y. Chiu , A. Boobis , E. Cartmell , M.D. Scrimshaw & J.N. Lester (2008) Treatment and Removal Strategies for Estrogens from Wastewater, *Environmental Technology*, 29:3, 245-267.
- Yabuuchi, E., Yano, I., Oyaizu, H., Hashimoto, Y., Ezaki, T. and Yamamoto, H.,(1990) Proposals of *Sphingomonas-paucimobilis* gen-nov and comb nov, *Sphingomonas-parapaucimobilis* sp-nov, *Sphingomonas-yanoikuyae* sp-nov, *Sphingomonas-Adhaesiva* np-nov, *Sphingomonas-capsulata* comb nov, and 2 genospecies of the genus *Sphingomonas*. *Microbiol. Immunol.*, **34**, 99-119
- Yoon J., Lee Y., Kim S., (2001) ‘Investigation of the reaction pathway of OH radicals produced by Fenton oxidation in the conditions of wastewater treatment’, *Water Science & Technology*, 44 (5), 15–21.
- Yoshimoto, T., Nagai, F., Fujimoto, J., Watanabe, K., Mizukoshi, H., Makino, T., Kimura, K., Saino, H., Sawada, H. and Omura, H.,(2004). Degradation of estrogens by *Rhodococcus zopfii* and *Rhodococcus equi* isolates from activated sludge in wastewater treatment plants. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 5283-5289
- Zazo, J., (2004), Oxidación de fenol de aguas residuales mediante H₂O₂/Fe²⁺/Carbón activo. Tesis doctoral.
- Zeeman G., Wiegant W.M., Koster-Treffer M.E., Lettinga g., (1985). The influence of the total ammonia concentration on the thermophilic digestion of cow manure. *Agric. Wastes* 14, pp. 19-35.
- Zeeman, G., Wiegant, W.M., Koster-Treffers, M.E., Lettinga, G. (1985). The influence of total ammonia concentration on the thermophilic digestion of cow manure. *Agricultural Wastes*. 14, p.19-35.
- Zeikus, G. Thomas, K. (1980). A continuous spectrophotometric assay for the determination of cellulose solubilizing activity. *Analytical biochemistry*. 103 p.44-50.
- Zheng, W., Yates, S.R., Bradford, S.A., (2008). Analysis of steroid hormones in a typical Dairy waste disposal system. *Environmental Science & Technology* 42, 530e535.