



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE INGENIERÍA



Tesis para optar al Título de  
Magister en Ingeniería Ambiental

**PRINCIPIOS ACTIVOS HORMONALES EN  
EFLUENTES Y CURSOS DE AGUA:  
CONCENTRACIÓN AMBIENTAL PREVISTA (PEC) PARA URUGUAY  
Y ESTUDIO DE REMOCIÓN POR OZONIZACIÓN**

**Autor:**

Ing. Andrea Pitzer

**Tutores:**

Dra. Elizabeth González (Universidad de la República, Uruguay)

Dr. Luiz Antonio Daniel (Universidade de São Paulo, Brasil)

**Montevideo, Uruguay**

**2014**

## AGRADECIMIENTOS

A Elizabeth, por acompañarme y apoyarme durante todo el desarrollo de este trabajo, por sus buenos consejos y por alentarme siempre a seguir adelante sabiendo que muchas veces se me hacía cuesta arriba.

A Luiz Daniel, por aceptar el desafío de acompañarme en este trabajo más allá de las diferencias de idioma y de la distancia, por orientarme y guiarme desde su experiencia en este tema donde hay tantas incertidumbres por resolver.

A Luis, por comenzar a investigar en esto juntos, por todo el apoyo brindado durante el desarrollo de los ensayos a escala piloto, y por contribuir a este trabajo en esas ricas discusiones que son usuales compartir con él.

A todo el equipo de trabajo de Estudio de Ingeniería Ambiental, y en especial a los dos Carlos, a Gustavo y a Juan por el apoyo y la buena disposición en todo lo vinculado al desarrollo de mi formación académica, no siendo diferente con el desarrollo de esta tesis.

A Pablo Correa y a todo el equipo de la industria farmacéutica, que fomentó y viabilizó el desarrollo de la parte experimental presentada en el marco de esta tesis.

A Julio Cameto de OZOX, por brindar sus instalaciones y equipamiento para poder desarrollar los ensayos a escala piloto, y por sus aportes durante la realización de los mismos.

A Omar Gestal y Rafael Aguirre por facilitarme de forma rápida y confiable los datos disponibles de las ventas de anticonceptivos orales en Uruguay, fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

A Manuel Baruch y Julio Espínola, por instruirme sobre el desarrollo de los ensayos de ecotoxicidad, orientarme en la interpretación de los resultados y compartir conmigo su experiencia relacionada con dichos ensayos.

A Danilo Ríos, por ayudarme a recabar toda la información referente al tratamiento de efluentes en el interior del país.

A Gabriela Dupuy, por acercarme de forma rápida y confiable la información referente a consumo de agua en Montevideo.

A Karen Keel, por recibirme y compartir su experiencia, siendo su tesis de maestría el único antecedente publicado en el país.

Por último, y no por ello menos importante, quiero agradecer a mi familia, a mis amigos y por sobre todo a Fede, por su apoyo incondicional en todo momento, por alentarme siempre a seguir adelante y por su comprensión por el tiempo dedicado a este trabajo.

## RESUMEN

Desde la década de 1990 se comenzó a detectar la presencia de principios activos hormonales usados en la fabricación de anticonceptivos orales en los ambientes acuáticos, ya que no son completamente degradados en las plantas de tratamiento de aguas residuales. Estos contaminantes emergentes se encuentran dentro del grupo de los denominados disruptores endócrinos, que generan efectos adversos en los organismos acuáticos a muy bajas concentraciones, como ser afectación a la capacidad reproductiva, disminución de la fertilidad, disminución de la aptitud sexual y feminización de machos, y además presentan un potencial de bioacumulación significativo. Este trabajo tuvo por objetivo relevar la información referente a las principales fuentes de principios activos hormonales asociadas al uso de anticonceptivos orales en Uruguay, estimar las cantidades que se descargan al ambiente y las concentraciones probables esperadas tanto en efluentes como en el medio acuático, así como evaluar la eficiencia del tratamiento mediante los procesos de oxidación avanzada con ozono y con la combinación ozono/peróxido de hidrógeno para su remoción de efluentes. A partir del cálculo de las concentraciones ambientales previstas (PEC) para cada PAH, se obtuvo que la drospirenona, el levonorgestrel, el gestodeno y el etinilestradiol podrían estar presentes en aguas residuales de origen doméstico en concentraciones del orden de ng/L y se podrían encontrar concentraciones en los cursos de agua superficial de nuestro país que pudieran representar un riesgo para los organismos presentes; por lo que sería relevante profundizar este estudio a la brevedad, aportando datos cuantitativos de las concentraciones y efectos ecotoxicológicos que efectivamente se registran en efluentes y en los cursos de agua de Uruguay. En cuanto a los procesos de oxidación avanzada estudiados, ambos resultaron eficientes para la remoción de todos los principios activos hormonales considerados (etinilestradiol, acetato de ciproterona, gestodeno, levonorgestrel y drospirenona), y se constató también la reducción de la toxicidad del efluente tratado para el caso de oxidación sólo con ozono.

**Palabras clave:** contaminantes emergentes; disruptores endócrinos; principios activos hormonales; concentraciones ambientales previstas (PEC); procesos de oxidación avanzada; ozonización de efluentes.

## ABSTRACT

Since the 1990s, the presence of hormonally active compounds used in oral contraceptives started to be detected in aquatic environments, since they are not completely removed in wastewater treatment plants. These contaminants of emerging concern are endocrine disruptors that have adverse effects on aquatic organisms at very low concentrations, such as reproductive capacity alteration, decreased fertility, decreased sexual ability and feminization of males, and they also have a significant potential for bioaccumulation. The aim of this study is to collect information regarding the main sources of hormonally active compounds associated with oral contraceptives in Uruguay and to estimate concentrations likely to be found in wastewaters and aquatic environments. Additionally, the aim included the assessment of the removal efficiency by advanced oxidation process with ozone and ozone/hydrogen peroxide combination in wastewaters. Considering the predicted environmental concentrations (PEC) found of drospirenone, levonorgestrel, gestodene and ethinyl estradiol, they might be present in wastewaters at concentrations around ng/L. They also might be present in Uruguayan surface water at concentration that may be a risk to the aquatic organisms. Therefore, it is relevant to further study in the short time and provide quantitative data on concentrations and ecotoxicological effects actually existing in Uruguayan wastewaters and water bodies. Regarding the advanced oxidation processes studied, both were effective for removal of all hormonally active compounds considered (ethinyl estradiol, cyproterone acetate, gestodene, levonorgestrel and drospirenone) and a toxicity reduction was also found by ozonation.

**Key words:** contaminants of emerging concern; endocrine disruptors; hormonally active compounds; predicted environmental concentrations (PEC); advanced oxidation process; wastewater ozonation.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>I</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>II</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>III</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO.....</b>	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>VI</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....</b>	<b>IX</b>
<b>ABREVIATURAS DE LOS PAH.....</b>	<b>XII</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>4</b>
2.1    OBJETIVO GENERAL .....	4
2.2    OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	4
<b>3. ESTADO DEL ARTE .....</b>	<b>6</b>
3.1    ANTICONCEPTIVOS ORALES .....	6
3.1.1    Definición y desarrollo .....	6
3.1.2    Características y propiedades de los principios activos hormonales de los ACO .....	8
3.2    OCURRENCIA DE PRINCIPIOS ACTIVOS HORMONALES EN EL AMBIENTE .....	10
3.2.1    PAH y las rutas de exposición para el medio ambiente .....	10
3.2.2    Aguas residuales de origen doméstico .....	11
3.2.3    Aguas residuales de la industria farmacéutica .....	15
3.2.4    Cuerpos de agua .....	16
3.2.5    Aguas de abastecimiento.....	18
3.3    EFECTOS DERIVADOS DE LA PRESENCIA DE PRINCIPIOS ACTIVOS HORMONALES EN EL AMBIENTE .....	19
3.3.1    Toxicidad .....	19
3.3.2    Bioconcentración .....	22
3.3.3    Persistencia .....	23
3.3.4    Índice PBT .....	23
3.4    OZONIZACIÓN COMO TECNOLOGÍA PARA REMOCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS HORMONALES.....	24
3.4.1    Procesos de oxidación avanzada .....	24
3.4.2    Ozonización en medio alcalino .....	27
3.4.3    Ozonización con peróxido de hidrógeno .....	28
3.4.4    Generación y aplicación de ozono .....	29
3.4.5    Remoción de PAH mediante ozonización .....	31
3.4.6    Formación de subproductos .....	34
3.5    REGULACIÓN AMBIENTAL: ESTÁNDARES Y VALORES DE REFERENCIA .....	36
3.6    ANÁLISIS CRÍTICO E INCERTIDUMBRES .....	37
<b>4. EVALUACIÓN PRIMARIA PARA URUGUAY .....</b>	<b>40</b>
4.1    ANTECEDENTES.....	40
4.2    CONSUMO DE ANTICONCEPTIVOS ORALES EN URUGUAY .....	41
4.2.1    Uso de ACO en Uruguay.....	41
4.2.2    Consumo de ACO y PAH en Uruguay .....	42

4.3	INDUSTRIA FARMACÉUTICA EN URUGUAY .....	45
4.4	CÁLCULO DE PEC: CONCENTRACIONES AMBIENTALES PREVISTAS .....	46
4.4.1	Estimación del consumo de PAH .....	46
4.4.2	Estimación de la cantidad de PAH que se descarga al ambiente.....	47
4.4.3	Cálculo de PEC para Uruguay.....	51
4.5	DISCUSIÓN .....	55
<b>5.</b>	<b>CASO DE ESTUDIO: REMOCIÓN DE PAH DEL EFLUENTE DE UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA ..</b>	<b>58</b>
5.1	MATERIALES Y MÉTODOS .....	58
5.1.1	Efluente bajo estudio.....	58
5.1.2	Campaña de muestreo para caracterización del efluente.....	59
5.1.3	Ensayos de oxidación.....	59
5.1.4	Técnicas analíticas .....	63
5.2	RESULTADOS.....	65
5.2.1	Caracterización del efluente en estudio .....	65
5.2.2	Remoción de PAH y ecotoxicidad .....	67
5.3	CONCLUSIONES.....	80
5.4	LIMITACIONES Y SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS.....	81
<b>6.</b>	<b>SÍNTESIS FINAL.....</b>	<b>84</b>
6.1	PRINCIPALES CONCLUSIONES .....	84
6.2	LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN A FUTURO .....	85
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>86</b>	
<b>GLOSARIO .....</b>	<b>96</b>	
<b>ANEXOS .....</b>	<b>99</b>	
ANEXO 1: ESTRUCTURA DE LOS PAH .....	100	
ANEXO 2: CONCENTRACIONES DE PAH EN AGUAS RESIDUALES DE ORIGEN DOMÉSTICO Y EN AGUAS SUPERFICIALES REPORTADAS EN LA BIBLIOGRAFÍA .....	104	
ANEXO 3: BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS ENSAYOS DE ECOTOXICIDAD .....	110	
ANEXO 4: PROCEDIMIENTO PARA EL CÁLCULO DEL CAUDAL ANUAL DE AGUAS RESIDUALES DE ORIGEN DOMÉSTICO .....	112	

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3-1: Composición hormonal de algunos ACO .....	7
Tabla 3-2: Propiedades de los principales progestágenos empleados en la fabricación de ACO.....	8
Tabla 3-3: Propiedades de los principales estrógenos empleados en la fabricación de ACO.....	9
Tabla 3-4: Ocurrencia de PAH en aguas residuales de origen doméstico .....	12
Tabla 3-5: Ocurrencia de PAH en lodos de PTDAR .....	13
Tabla 3-6: Eficiencias de remoción (%) de algunos PAH en procesos de tratamiento de aguas residuales y de abastecimiento .....	15
Tabla 3-7: Ocurrencia de PAH en aguas superficiales y subterráneas.....	16
Tabla 3-8: Niveles de toxicidad crónica de algunos PAH en organismos acuáticos.....	22
Tabla 3-9: Índice PBT y riesgo ambiental de algunos PAH (Stockholm Country Council, 2012) .....	23
Tabla 3-10: Potenciales de oxidación .....	25
Tabla 3-11: Procesos avanzados de oxidación.....	26
Tabla 3-12: Constantes de velocidad del radical hidroxilo en comparación con el ozono para algunos compuestos orgánicos.....	28
Tabla 3-13: Remoción de estrógenos por ozonización .....	31
Tabla 3-14: Constantes de velocidad del radical hidroxilo en comparación con el ozono para algunos principios activos hormonales.....	34
Tabla 4-1: Consumo de ACO en Uruguay – Año 2012 .....	43
Tabla 4-2: Consumo de PAH en Uruguay - Año 2012 .....	47
Tabla 4-3: Estimación de la cantidad de PAH vertida a las aguas residuales de origen doméstico.....	48
Tabla 4-4: Tipo de tratamiento y población atendida en las PTDAR de Uruguay.....	49
Tabla 4-5: Eficiencia de remoción de PAH en las PTDAR .....	50
Tabla 4-6: Estimación de OAE para Uruguay .....	51
Tabla 4-7: Caudal anual de aguas residuales de origen doméstico en Uruguay .....	52
Tabla 4-8: Estimación de PEC en efluentes de Uruguay .....	53
Tabla 4-9: Estimación de PEC en cuerpos de agua superficial de Uruguay .....	53
Tabla 4-10: Estimación de la relación PEC/PNEC en cuerpos de agua superficial de Uruguay.....	54
Tabla 5-1: PAH en el efluente bajo estudio .....	59
Tabla 5-2: Muestreos para caracterización del efluente .....	59
Tabla 5-3: Determinación de PAH.....	63
Tabla 5-4: Determinación de parámetros fisicoquímicos .....	64
Tabla 5-5: Ensayos de toxicidad.....	64
Tabla 5-6: Caracterización del efluente - Concentración de PAH .....	65

Tabla 5-7: Caracterización del efluente - Parámetros fisicoquímicos.....	65
Tabla 5-8: Caracterización del efluente - Toxicidad (%). ....	66
Tabla 5-9: Categorías toxicológicas .....	66
Tabla 5-10: Ensayo 1 – Dosis de O <sub>3</sub> y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	67
Tabla 5-11: Resultados Ensayo 1 – Remoción de PAH con O <sub>3</sub> y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	67
Tabla 5-12: Resultados Ensayo 1 – Remoción de DQO con O <sub>3</sub> y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	68
Tabla 5-13: Ensayo 2 – Dosis de O <sub>3</sub> y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	70
Tabla 5-14: Resultados Ensayo 2 – Remoción de PAH con O <sub>3</sub> y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	71
Tabla 5-15: Resultados Ensayo 2 – Remoción de DQO y DBO <sub>5</sub> con O <sub>3</sub> y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	72
Tabla 5-16: Resultados Ensayo 2 – Remoción de detergentes con O <sub>3</sub> y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	74
Tabla 5-17: Ensayo 3 – Dosis de O <sub>3</sub> y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	75
Tabla 5-18: Resultados Ensayo 3 – Remoción de EE2 con y sin agregado de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	76
Tabla 5-19: Resultados Ensayo 3 – Remoción de DRO con y sin agregado de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	76
Tabla 5-20: Ensayo 3 – Resultados de Toxicidad con y sin agregado de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	79

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3-1: Principales vías de entrada de los PAH usados en ACO en el ambiente. Fuente: Adaptado de Halling-Sørensen <i>et al.</i> , 1998, en Tambosi (2008); Reis Filho <i>et al.</i> , 2006, en De Moura (2009).....	11
Figura 3-2: Esquema de los mecanismos de descomposición de ozono en agua. Fuente: Redibujado de AWWA (1991). .....	27
Figura 3-3: Esquema de los mecanismos de descomposición de ozono por iones hidroperóxido. Fuente: Redibujado de AWWA (1991).....	29
Figura 3-4: Generador básico de ozono. Fuente: Redibujado de EPA (1999).....	30
Figura 4-1: Venta total de ACO vía comercial (de 2007 a 2013). Fuente: Elaboración propia a partir de datos de distribución de ACO vía comercial para el periodo 2007 - 2013. ....	44
Figura 4-2: Venta de ACO vía comercial según PAH (de 2007 a 2013). Fuente: Elaboración propia a partir de datos de distribución de ACO vía comercial para el periodo 2007 - 2013.....	45
Figura 5-1: Esquema de la unidad experimental de tratamiento .....	60
Figura 5-2: Registros fotográficos de la unidad experimental de tratamiento.....	61
Figura 5-3: Ensayo 1 – Remoción de PAH con $O_3$ y $H_2O_2$ .....	68
Figura 5-4: Resultados Ensayo 1 - Remoción de DQO con $O_3$ y $H_2O_2$ .....	69
Figura 5-5: Resultados Ensayo 1 – Remoción de color .....	69
Figura 5-6: Resultados Ensayo 2 – Remoción de PAH con $O_3$ y $H_2O_2$ .....	72
Figura 5-7: Resultados Ensayo 2 – Remoción de DQO y $DBO_5$ (izq.) y relación $DBO_5/DQO$ (der.) con $O_3$ y $H_2O_2$ .73	73
Figura 5-8: Resultados Ensayo 2 – Remoción de detergentes con $O_3$ y $H_2O_2$ .....	75
Figura 5-9: Resultados Ensayo 3 – Remoción de drospirenona con y sin agregado de $H_2O_2$ .....	77
Figura 5-10: Resultados Ensayo 3 – Remoción de DQO y $DBO_5$ con y sin agregado de $H_2O_2$ .....	77
Figura 5-11: Resultados Ensayo 3 – Remoción de Detergentes con y sin agregado de $H_2O_2$ .....	78
Figura 5-12: Resultados Ensayo 3 - Reducción de Toxicidad con y sin agregado de $H_2O_2$ .....	79

## SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ACO	Anticonceptivos orales
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
CAS	Chemical Abstracts Service
CCL	Lista de Contaminantes Candidatos ( <i>Contaminant Candidate List</i> )
CELSAM	Centro Latinoamericano Salud y Mujer
COD	Carbono Orgánico Disuelto
COT	Carbono Orgánico Total
COTAMA	Comisión Técnica Asesora en Medio Ambiente
CT	Concentración x Tiempo de contacto
DBO <sub>5</sub>	Demanda Bioquímica de Oxígeno a 5 días
DINAMA	Dirección Nacional de Medio Ambiente
DQO	Demanda Química de Oxígeno
EAC	Estimación del consumo de PAH ( <i>Estimation of pharmaceutical active compound consumption</i> )
EC <sub>50</sub>	Concentración efectiva 50
EEQ	Equivalentes de Estradiol
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas ( <i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i> )
EMEA	European Medicines Agency
EPA	Environmental Protection Agency
EUA	Estados Unidos de América
FD	Factor de Dilución
GC-MS	Cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas
GESTA	Grupo de Estandarización
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrógeno
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia
IC <sub>50</sub>	Concentración de inhibición 50
IFC	International Finance Corporation
IM	Intendencia de Montevideo
INE	Instituto Nacional de Estadística
K <sub>d</sub>	Coeficiente de partición entre fases líquida y sólida de lodos activados

K <sub>oc</sub>	Coeficiente de adsorción al carbono orgánico
K <sub>ow</sub>	Coeficiente de partición octanol-agua
LATU	Laboratorio Tecnológico del Uruguay
LC <sub>50</sub>	Concentración letal 50
LC-MS	Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas
LOEC	Concentración con efecto mínimo observado ( <i>Lowest observed effective concentration</i> )
MBR	Reactor biológico de membrana
MEVIR	Movimiento pro-Erradicación de la Vivienda Rural Insalubre
MSP	Ministerio de Salud Pública
MYSU	Mujer y Salud en Uruguay
NOEC	Concentración sin efecto observado ( <i>No observed effective concentration</i> )
O <sub>3</sub>	Ozono molecular
OAE	Ocurrencia en el ambiente acuático ( <i>Occurrence in the Aquatic Environment</i> )
OD	Oxígeno Disuelto
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Oficina Panamericana de la Salud
OSE	Obras Sanitarias del Estado
PAs	Principios activos
PAH	Principios activos hormonales
PEC	Concentración ambiental prevista ( <i>Predicted Environmental Concentration</i> )
PEEP	Prueba de Efectos Ecotoxicológicos Potenciales
PEQ	Equivalentes de Progesterona
PNEC	Concentración prevista sin efecto ( <i>Predicted No Effect Concentration</i> )
PNUD	Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo
PPEU	Porcentaje de excreción del compuesto incambiado ( <i>Percentage excreted unchanged</i> )
PTA	Planta de tratamiento de agua potable
PTDAR	Planta de tratamiento de aguas residuales
SDT	Sólidos Disueltos Totales
SNIS	Sistema Nacional Integrado de Salud
SST	Sólidos Suspendidos Totales
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles
ST	Sólidos Totales
SUVA	Absorbancia ultravioleta específica
SVT	Sólidos Volátiles Totales

UASB	Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente ( <i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i> )
UBA	German Federal Environmental Agency
UdelaR	Universidad de la República
UNEP	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
UNFPA	Fondo de Población de las Naciones Unidas
UV	Radiación ultravioleta
YES	Yeast Estrogen Screen
WET	Toxicidad total o integrada del efluente ( <i>Whole Effluent Toxicity</i> )

## ABREVIATURAS DE LOS PAH

CPA	Acetato de ciproterona
DES	Desogestrel
DIE	Dienogest
DRO	Drospirenona
E2	17 $\beta$ -estradiol (o estradiol)
EE2	17 $\alpha$ -etinilestradiol (o etinilestradiol)
ETO	Etonogestrel
GES	Gestodeno
LVG	Levonorgestrel
LYN	Linestrenol
MeEE2	Mestranol
NET	Noretindrona
NOG	Norgestrel
NTE	Norgestimato
P4	Progesterona

# **CAPÍTULO 1**

# **INTRODUCCIÓN**

## 1. INTRODUCCIÓN

Los anticonceptivos orales (ACO) se introdujeron en el mercado en la década de 1960, y actualmente son un método popular de anticoncepción. Químicamente, la mayoría de ellos consisten en la combinación de dos principios activos hormonales (PAH): un *progestágeno* sintético con un *estrógeno* semi-sintético derivado del estradiol, compuestos que presentan actividad progestagénica, androgénica y/o estrogénica.

En la década de 1990 se comenzó a detectar la presencia de algunos de esos PAH en los ambientes acuáticos, y desde entonces se ha prestado mayor atención a este asunto. Los PAH forman parte de los denominados *contaminantes emergentes*, que no están regulados pero pueden ser candidatos a regulación futura dependiendo de investigaciones sobre sus efectos potenciales y datos de monitoreo con respecto a su incidencia en los distintos compartimentos ambientales.

El vertido de aguas residuales de origen doméstico y de efluentes de la industria farmacéutica constituyen las principales fuentes de contaminación ambiental por PAH. Las concentraciones de algunos PAH que han sido reportadas en las aguas residuales de origen doméstico de varias ciudades de diferentes países, se encuentran en el rango de menos de 1 ng/L a cientos de ng/L, tanto en los efluentes brutos como luego de los tratamientos (en caso de existir). Los PAH presentes en los efluentes ingresan en los sistemas acuáticos, incluso si existe un sistema de tratamiento antes del vertido dado que no son completamente degradados en las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTDAR) convencionales.

Las concentraciones de algunos PAH que han sido reportadas en el ambiente acuático también se encuentran en el rango de menos de 1 ng/L a cientos de ng/L, tanto para aguas superficiales, aguas subterráneas e inclusive en sedimentos. A pesar de que las concentraciones de PAH en el ambiente acuático sean muy bajas, su potencial ecotoxicológico los torna un asunto de preocupación. Estudios recientes muestran que algunos de los PAH generan efectos adversos en los organismos acuáticos a muy bajas concentraciones, como afectación a la capacidad reproductiva, disminución de la fertilidad, disminución de la aptitud sexual y feminización de machos, y tienen un potencial de bioacumulación significativo. Si bien la información disponible en cuanto a los efectos ambientales de los PAH es escasa, principalmente lo referente a los efectos ecotoxicológicos de los progestágenos, los resultados obtenidos hasta el momento alertan sobre la necesidad de reducir la entrada de estos contaminantes al ambiente.

La mayor parte de los trabajos realizados y la información disponible proviene de países desarrollados, ya que cuentan con los recursos necesarios para llevar a cabo las investigaciones que requieren de equipamientos e insumos costosos; sin embargo, la contaminación por PAH existe también en los países en vías de desarrollo, como es el caso de Uruguay. A nivel nacional no hay antecedentes de estudios específicos sobre la contaminación por PAH, ni se ha cuantificado la presencia de estos compuestos en aguas residuales ni en el ambiente. En Brasil, país vecino, recientemente han comenzado a desarrollarse estudios e investigaciones, y los resultados muestran que hay evidencia de contaminación por PAH en los cuerpos de agua. No es de esperar que en Uruguay la situación sea diferente.

La obtención de datos de la realidad nacional es fundamental para tener una primera aproximación al dimensionamiento de este posible problema ambiental en nuestro país, y definir si se requiere mayor investigación en caso de constatar un riesgo potencial. A partir de los datos de consumo de ACO en Uruguay, en este trabajo se desarrolló una metodología a modo de *screening* para determinar cuáles serían los PAH que se podrían encontrar en concentraciones apreciables en

efluentes y en cursos de agua de nuestro país, a los efectos de evaluar si ameritan que se aconseje profundizar este estudio a la brevedad aportando datos cuantitativos.

Por otro lado, la Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) está trabajando en la adecuación y mejora del desempeño ambiental de la industria farmacéutica en Uruguay, y se está comenzando a trabajar en la caracterización y en el control de los vertidos de efluentes que pudieran contener principios activos de alguno de los grupos definidos como prioritarios, entre los cuales se incluyen los PAH. Es así que surge la necesidad de desarrollar e implementar tecnologías eficientes de remoción de PAH de efluentes.

En el marco del desarrollo de un sistema de tratamiento para el efluente de una industria farmacéutica de producción de ACO, se estudió la remoción de PAH del efluente mediante procesos de oxidación avanzada (POA) con ozono y con la combinación  $O_3/H_2O_2$  en ensayos a escala piloto, buscando no sólo disminuir la concentración de dichos contaminantes sino también reducir la ecotoxicidad del efluente tratado. Los POA, y en particular la ozonización, han sido extensamente estudiados debido a su potencial como alternativas o complementos a los procesos convencionales de tratamiento de efluentes, dado que los radicales hidroxilo generados son altamente reactivos y poco selectivos, por lo que pueden actuar en la oxidación química de una amplia gama de sustancias. Varios grupos de investigadores reportaron la eficiencia de la ozonización en la descomposición de algunos PAH, principalmente estrógenos, pero persisten muchas dudas en cuanto a la formación de subproductos y al decaimiento de la actividad estrogénica luego de la ozonización.

Es en este contexto que se desarrolló esta tesis, que será presentada en 3 grandes capítulos: en el Capítulo 3 se presenta el estado del arte en cuanto a la caracterización de PAH, su ocurrencia y efectos en el ambiente, posibles tecnologías de remoción con énfasis en los POA con ozono y con la combinación  $O_3/H_2O_2$ , y aspectos referentes a la regulación ambiental; en el Capítulo 4 se presenta una evaluación preliminar a nivel nacional basada en los datos de consumo de ACO en Uruguay; y en el Capítulo 5 se presenta la aplicación con ozonización para la remoción de PAH del efluente de una industria farmacéutica.

## **CAPÍTULO 2**

## **OBJETIVOS**

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

El objetivo general de este trabajo es contribuir a la base de información disponible sobre la contaminación ambiental por PAH en Uruguay, y evaluar la presencia de estos compuestos en el ambiente y la eficiencia del tratamiento mediante ozonización para la remoción de estos compuestos de efluentes.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Los objetivos específicos comprenden:

- Relevar información referente a las principales fuentes de PAH asociadas al uso de ACO en Uruguay, tanto desde el punto de vista de producción de ACO como desde el punto de vista de consumo.
- Estimar las cantidades de cada PAH que se descargan al ambiente a partir de los datos de consumo de ACO y las concentraciones probables esperadas tanto en efluentes como en el medio acuático, a los efectos de evaluar el actual estado de situación en Uruguay.
- Evaluar la aplicación de los POA con ozono y con la combinación  $O_3/H_2O_2$  como tecnología adecuada para la remoción de PAH de efluentes de una industria farmacéutica que produce ACO, y evaluar la ecotoxicidad del efluente tratado como parámetro indicador del potencial tóxico de los subproductos formados.

# **CAPÍTULO 3**

# **ESTADO DEL ARTE**

### **3. ESTADO DEL ARTE**

Con el objetivo de contextualizar el problema abordado, en este capítulo se presenta una revisión bibliográfica de diversos aspectos vinculados con los ACO y los PAH, donde se incluye la caracterización de PAH, su ocurrencia y efectos en el ambiente, posibles tecnologías de remoción con énfasis en los procesos de oxidación avanzada, particularmente la ozonización, aspectos vinculados a la regulación ambiental de estos compuestos a nivel internacional y un análisis crítico de las incertidumbres asociadas a este tema.

#### **3.1 ANTICONCEPTIVOS ORALES**

##### **3.1.1 Definición y desarrollo**

Los ACO se introdujeron en el mercado en la década del '60, y actualmente constituyen un método popular de contracepción. La popularización del uso de ACO se debe a la practicidad y a la seguridad del método anticonceptivo, así como al fácil acceso a la información.

Los ACO son fármacos anovulatorios que pueden controlar eficazmente la natalidad humana. Químicamente están constituidos por la combinación, en una misma forma farmacéutica, de un progestágeno sintético con un estrógeno semisintético derivado del estradiol, que reemplazan las dos clases de hormonas naturales que desaparecen durante el climaterio: estrógenos y progestágenos. El progestágeno es el principal anovulatorio que impide la ovulación, y el estrógeno actúa de manera sinérgica permitiendo reducir la cantidad de progestágeno, además de mejorar el control del ciclo hormonal.

Existen ACO que sólo tienen un progestágeno, otros con los dos principios activos en combinación a dosis fijas y otros también en combinación pero con dosis variables de ambos principios activos durante la administración en el ciclo sexual. Por lo tanto, según su forma de administración, los ACO pueden clasificarse en (Amado, 1997):

- Forma combinada. Se asocian el estrógeno y el progestágeno en tres posibles combinaciones:
  - Monofásicos: mantienen una dosificación fija y constante del estrógeno y el progestágeno.
  - Bifásicos: son secuenciales; en los primeros 10-14 días se emplea un estrógeno solo o asociado a una dosis pequeña de progestágeno; en los días restantes se mantiene la misma dosis de estrógeno, pero se aumenta la de progestágeno.
  - Trifásicos: son secuenciales; las dosis de estrógeno y progestágeno se administran a dosis distintas en los períodos inicial, medio y final del ciclo.
- Forma unitaria. Contienen sólo progestágenos. Se pueden administrar de forma continuada, es decir, diaria por vía oral, o de forma plurimensual.
- Preparados poscoito (de emergencia): se han empleado progestágenos solos o altas dosis de estrógenos. En la actualidad se prefiere la combinación de 100 µg de etinilestradiol con 1 mg de norgestrel, administrada dentro de las 72 horas poscoito, repitiendo las mismas dosis 12 horas después.

En los ACO combinados, generalmente la dosis diaria de estrógeno se encuentra en el rango de 20 a 50 µg, mientras que la dosis diaria de progestágeno se encuentra en el rango de 0,05 a 2 mg. De los estrógenos orales, el que más se utiliza es el etinilestradiol y, en menor grado, el mestranol. Entre los progestágenos, son muchos los utilizados, como norgestrel, levonorgestrel, desogestrel, gestodeno, drospirenona, entre otros. En la Tabla 3-1 se presenta la composición hormonal típica de algunos ACO.

**Tabla 3-1: Composición hormonal de algunos ACO**

ACO	Estrógeno (µg)	Progestágeno (mg)
<i>Combinados monofásicos</i>	Etinilestradiol (50)	Levonorgestrel (0,25)
	Etinilestradiol (50)	Linestrenol (2,5)
	Etinilestradiol (50)	Norgestrel (0,5)
	Mestranol (75)	Linestrenol (2,5)
	Etinilestradiol (30)	Levonorgestrel (0,15)
	Etinilestradiol (30)	Desogestrel (0,15)
	Etinilestradiol (30)	Gestodeno (0,075)
	Etinilestradiol (30)	Drospirenona (3,0)
<i>Combinados bifásicos</i>	Etinilestradiol (35/35)	Noretindrona (0,5/1)
<i>Combinados trifásicos</i>	Etinilestradiol (30/40/30)	Levonorgestrel (0,05/0,075/0,125)
	Etinilestradiol (30/40/30)	Gestodeno (0,05/0,007/0,1)
<i>Unitarios</i>	--	Medroxiprogesterona (150)
<i>Poscoitales</i>	Etinilestradiol (100)	Norgestrel (1,0)
	--	Levonorgestrel (1,5)

Fuente: Adaptado de Amado (1997).

Otra forma de clasificación de los ACO, de interés a los efectos de este estudio, es según su composición (García *et al.*, 2009):

- ACO de primera generación: contienen 50 µg o más de etinilestradiol.
- ACO de segunda generación: contienen levonorgestrel u otro compuesto de la familia de la noretindrona, y entre 30 y 35 µg de etinilestradiol.
- ACO de tercera generación: contienen gestodeno, desogestrel u otro compuesto de la misma familia, y entre 20 y 30 µg de etinilestradiol.
- ACO de cuarta generación: contienen drospirenona.

Los ACO que contienen progestágenos de primera generación tienen mayor probabilidad de producir efectos adversos inaceptables en comparación con los que contienen progestágenos de segunda y tercera generación. Los ACO de segunda y tercera generación son similares en términos de efectividad y efectos secundarios, excepto que el costo de las primeras es mucho menor (Festin, 2006).

Actualmente, los laboratorios están sustituyendo los productos con altas dosis de PAH (estrógenos y progestágenos) por medicamentos más avanzados, con menores cantidades de estrógenos y menores efectos secundarios para la salud humana.

### **3.1.2 Características y propiedades de los principios activos hormonales de los ACO**

#### **3.1.2.1 Progestágenos**

Los progestágenos son un grupo de principios activos con acciones similares a la progesterona (hormona femenina que se produce en el ovario en la segunda mitad del ciclo sexual), algunos de una potencia progestacional muy superior a la de la hormona original.

En cuanto a sus propiedades, los progestágenos son compuestos orgánicos hidrofóbicos, moderadamente solubles en agua y que preferentemente se adsorben en sedimentos/partículas sólidas. Poseen baja presión de vapor, por lo cual su volatilidad es baja. El coeficiente de partición octanol-agua ( $K_{ow}$ ), que representa el carácter hidrófobo de una sustancia o su afinidad hacia los lípidos de una sustancia disuelta en agua, clasifica estas sustancias con un potencial de bioacumulación moderado (según la Convención de Estocolmo celebrada en 2001), compuestos con  $\text{Log } K_{ow}$  iguales o superiores a 5,00 poseen un elevado potencial bioacumulativo, en tanto que por debajo de 3,00 el potencial bioacumulativo es bajo). A su vez, el coeficiente de adsorción al carbono orgánico ( $K_{oc}$ ), que es una medida de la distribución de una sustancia entre el suelo y la fase líquida, indica que algunos progestágenos tienen tendencia a adsorberse en sedimentos en vez de permanecer en la fase acuosa.

En la Tabla 3-2 se presenta un resumen de las propiedades de algunos de los progestágenos que se han utilizado hasta la fecha en la fabricación de ACO.

**Tabla 3-2: Propiedades de los principales progestágenos empleados en la fabricación de ACO**

ACO	Progestágeno	Actividad biológica <sup>1</sup>	Solubilidad en agua a 25 °C (mg/L) <sup>2</sup>	Log $K_{ow}$ <sup>2</sup>	Log $K_{oc}$
Primera generación	Acetato de ciproterona (CPA)	P / AA	51,7	3,1	--
Segunda generación	Levonorgestrel (LVG)	P / A	2,05	3,48	--
	Linestrenol (LYN)	P / E / A	0,768	4,75	--
	Norgestrel (NOG)	P / A	1,73	3,48	--
	Norgestimato (NTE)	P / A	0,0362	4,98	--
	Noretindrona (NET)	P / E / A	7,04	2,97	--
Tercera generación	Gestodeno (GES)	P / A	8,12	3,26	--
	Desogestrel (DES)	P / A	0,27	5,65	--
	Etonogestrel (ETO)	P / A	--	3,16	--
	Dienogest (DIE)	P / E / A / AA	--	--	--
Cuarta generación	Drospirenona (DRO)	P / AA	1,81 <sup>3</sup>	4,02 <sup>3</sup>	3,28 <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Besse y Garric (2009). P = actividad progestagénica, E = actividad estrogénica, A = actividad androgénica, AA = actividad anti-androgénica.

<sup>2</sup> Liu Z. *et al.* (2011).

<sup>3</sup> Gilroy *et al.* (2014).

Todos los progestágenos son ampliamente metabolizados siguiendo la misma vía; principalmente son sometidos a reducción e hidroxilación en el hígado (Besse y Garric, 2009). La absorción oral de los progestágenos suele ser completa, y el tiempo de vida media oscila entre 5 y 25 horas: por ejemplo, de unas 7 horas para la noretindrona y de 12 horas para el gestodeno, mucho más prolongada que la vida media de la progesterona que es de alrededor de 5 minutos (Amado, 1997; García *et al.*, 2009).

### 3.1.2.2 Estrógenos

Los estrógenos se caracterizan por su anillo fenólico, que tiene un grupo hidroxilo responsable por la actividad estrogénica. El potencial estrogénico o actividad estrogénica se define como la capacidad de producción de respuestas biológicas cualitativamente similares a aquellas producidas por un principio activo hormonal patrón, usualmente el 17 $\beta$ -estradiol. La concentración equivalente de 17 $\beta$ -estradiol (EEQ) es aquella que produce la misma respuesta que el patrón.

Al igual que los progestágenos, los estrógenos son compuestos orgánicos hidrofóbicos, moderadamente solubles en agua y que preferentemente se adsorben en sedimentos/partículas sólidas. Poseen baja presión de vapor, por lo cual su volatilidad es baja. El coeficiente de partición octanol-agua ( $K_{ow}$ ) clasifica estas sustancias con un potencial de bioacumulación moderado. A su vez, el valor elevado del coeficiente de adsorción al carbono orgánico ( $K_{oc}$ ) indica que los estrógenos tienen tendencia a adsorberse en sedimentos en vez de permanecer en la fase acuosa.

En la Tabla 3-3 se presenta un resumen de las propiedades de los estrógenos que se han utilizado hasta la fecha en la fabricación de ACO.

Tabla 3-3: Propiedades de los principales estrógenos empleados en la fabricación de ACO

Estrógeno	Actividad estrogénica relativa	Solubilidad en agua a 20 °C (mg/L)	Log $K_{ow}$	$K_{oc}$ <sup>1</sup>	Log $K_d$ <sup>2</sup>
Estradiol (E2)	100	13	3,94	3.300	2,68 - 2,83 2,64 - 2,97
Etinilestradiol (EE2)	246	4,8	4,15	4.770	2,65 - 2,68 2,71 - 3,0
Mestranol (MeEE2)	11	0,3	4,67	16.542	--

Fuente: Adaptado de Combalbert (2010).

<sup>1</sup> Lai *et al.*, 2000, en Ying *et al.* (2002).

<sup>2</sup>  $K_d$  se define como el coeficiente de partición de los estrógenos entre las fases líquida y sólida de lodos activados.

Los estrógenos sintéticos se encuentran dentro de un grupo de compuestos denominados disruptores endócrinos, que de acuerdo a la OMS se definen como aquellas sustancias o mezcla de sustancias exógenas que alteran la función del sistema endócrino y, por lo tanto, causan efectos adversos en la salud de un organismo, o en su progenie, o en su población. El estradiol y el etinilestradiol son capaces de producir alteraciones en los sistemas endócrinos de organismos vivos en concentraciones por debajo de 1,0 ng/L (Alda y Barceló, 2001, en De Oliveira 2011).

El etinilestradiol se elimina con mayor lentitud que el estradiol debido al bajo metabolismo hepático; se metaboliza por conjugación y desaparece del plasma casi en su totalidad a las 24 horas. Su biodisponibilidad varía entre el 20 % y el 65 % de un individuo a otro, así como su tiempo de vida media de la fase de eliminación, que varía de 13 a 27 horas (García *et al.*, 2009). El mestranol es transformado en etinilestradiol (Amado, 1997).

### 3.2 OCURRENCIA DE PRINCIPIOS ACTIVOS HORMONALES EN EL AMBIENTE

#### 3.2.1 PAH y las rutas de exposición para el medio ambiente

Para entender los efectos ambientales de los PAH, primeramente se deben analizar las fuentes, las posibles rutas de transporte, y de qué forma y en qué cantidades pueden alcanzar los diferentes compartimientos ambientales.

De forma genérica, la incorporación de principios activos farmacéuticos en el ambiente depende de la cantidad producida, la frecuencia y cantidad de su dosificación, el tipo de patrón de excreción del compuesto original y de la naturaleza y peligrosidad de sus metabolitos, la afinidad del principio activo a ser absorbido por sólidos y la capacidad de transformación metabólica de los microorganismos del medio o bien de los utilizados en el tratamiento de aguas residuales.

De forma general, parte de la dosis administrada de un fármaco es excretada en su forma original. Los PAH administrados en los ACO son excretados en su forma original o como metabolitos de ésta. Si bien la mayor parte de la dosis administrada de PAH se excreta en la forma conjugada, que es menos activa biológicamente, hay evidencias de que esas formas conjugadas son convertidas en formas activas (desconjugación) luego del vertido y en el pasaje por las PTDAR (Maia, 2005). Para el estrógeno 17 $\alpha$ -etinilestradiol, la excreción diaria *per cápita* por mujeres que toman ACO que contienen este PAH fue estimada en 35  $\mu\text{g}/\text{día}$ <sup>1</sup> (Johnson *et al.* 2000).

La mayoría de los PAH introducidos en el ambiente van a parar a los sistemas acuáticos, mientras que el medio terrestre recibe sólo una entrada secundaria. Las descargas de aguas residuales de origen doméstico y de la Industria Farmacéutica son las principales fuentes de contaminación del ambiente por PAH (Quesada, 2009). Además, fuentes difusas como la ganadería, pueden contribuir a la presencia de PAH en el ambiente.

En cualquiera de los casos, una vez que llegan al medio ambiente pueden ser transportados y distribuidos en el agua, aire, suelo o sedimentos dependiendo de factores tales como las propiedades fisicoquímicas del compuesto y las características del medio receptor.

En la Figura 3-1 se presenta un esquema con las principales vías de ingreso al ambiente de los PAH usados en ACO.

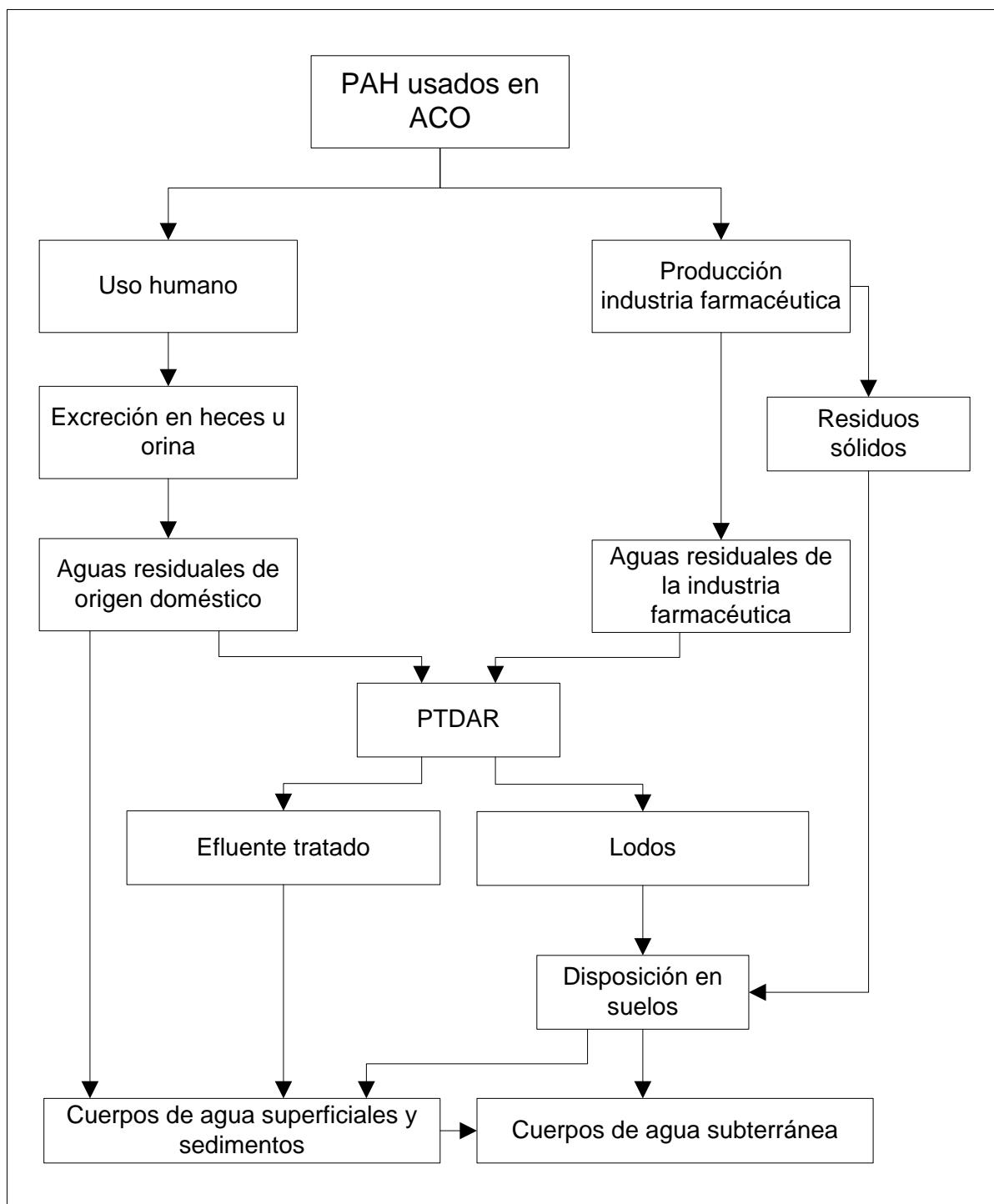
Varias investigaciones (como las reportadas en Combalbert *et al.*, 2010; Liu Z. *et al.*, 2011) muestran que usualmente los PAH no son completamente eliminados por los tratamientos convencionales de aguas residuales. La introducción continua de PAH en el ambiente los torna compuestos pseudo-persistentes, más allá de la biodegradación que puedan sufrir en el ambiente.

Desde el punto de vista de la población humana, estos compuestos conforman un ciclo constituido por: administración a usuarias de ACO, excreción del compuesto sin metabolizar o de metabolitos de éste, pasaje por plantas de tratamiento de aguas residuales (en caso de existir), descarga en aguas superficiales y/o recarga en aguas subterráneas, y exposición a toda la población a través del agua potable.

---

<sup>1</sup> Debido a la reducción de la carga hormonal de PAH en los ACO (de 50  $\mu\text{g}$  a 20-30  $\mu\text{g}$ ), la excreción diaria *per cápita* también debe haber disminuido respecto al valor de referencia que ha venido siendo citado en la bibliografía. Una publicación reciente indica excreción diaria *per cápita* de 0,41  $\mu\text{g}$  de etinilestradiol en mujeres que toman ACO (Anderson *et al.*, 2012, en Laurenson *et al.* 2014).

**Figura 3-1: Principales vías de entrada de los PAH usados en ACO en el ambiente. Fuente: Adaptado de Halling-Sørensen *et al.*, 1998, en Tambosi (2008); Reis Filho *et al.*, 2006, en De Moura (2009).**



### 3.2.2 Aguas residuales de origen doméstico

La descarga de las aguas residuales de origen doméstico constituye la principal fuente de entrada de PAH al ambiente. Los PAH contenidos en las aguas residuales de origen doméstico ingresan a los sistemas acuáticos, incluso si existe un sistema de tratamiento primario y/o secundario previo al vertido final del efluente ya que no son completamente degradados en las PTDAR convencionales.

### 3.2.2.1 Concentraciones de PAH reportadas

Las concentraciones de algunos PAH que han sido reportadas en las aguas residuales de origen doméstico de varias ciudades de diferentes países se encuentran en el rango de menos de 1 ng/L a cientos de ng/L, siendo mayores para los progestágenos que para los estrógenos (Miège *et al.*, 2008; Combalbet *et al.*, 2010; Liu Z. *et al.*, 2011; Falàs *et al.*, 2012).

Para los estrógenos, las concentraciones reportadas en la bibliografía en aguas residuales de origen doméstico usualmente son menores a 20 ng/L para el E2 y menores a 10 ng/L para el EE2 (Combalbet *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2012).

Para los progestágenos, hay menor cantidad de datos publicados y las concentraciones tienden a ser más variables, dependiendo de cada PAH analizado. Para los progestágenos acetato de ciproterona y gestodeno, no se han encontrado concentraciones ambientales por encima del límite de detección (Liu Z. *et al.*, 2011).

Está claro que las concentraciones están fuertemente relacionadas con el uso de ACO por parte de la población femenina de cada región o país, así como con la formulación y dosis de PAH en los ACO consumidos.

En la Tabla 3-4 se presentan algunos resultados de las concentraciones reportadas en la bibliografía de algunos PAH en PTDAR de origen doméstico. Mayor detalle se puede encontrar en las revisiones de Combalbet *et al.* (2010) y Xu *et al.* (2012) para los estrógenos, y de Liu Z. *et al.* (2011) para los progestágenos; un resumen de las concentraciones de los distintos PAH en aguas residuales de origen doméstico reportadas en dichas revisiones se adjunta en el Anexo 2.

Tabla 3-4: Ocurrencia de PAH en aguas residuales de origen doméstico

PAH	Concentración (ng/L)		Tipo de tratamiento (Lugar)	Referencia
	Afluente	Efluente		
E2	<5,0	<5,0 - 7,6	PTDAR c/ tto secundario (Barcelona, España)	Petrovic <i>et al.</i> , 2002
	NSD	<LD - 42,6 (LD=3,1)	PTDAR lodos activados (Lyon, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2007
	NSD	ND - 14,8 (LD=3,1)	PTDAR lodos activados de aireación extendida (Lyon, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2007
	0 - 11	2 - 11	PTDAR c/ lecho percolador (Canadá)	Fernandez <i>et al.</i> , 2007
	0,9 - 3,8	0,2 - 0,8	7 PTDAR c/ tto secundario (Beijing, China)	Chang <i>et al.</i> , 2011
	ND (LD=1,44)	NSD	PTDAR c/ tto secundario (Huiyang, China)	Liu S. <i>et al.</i> , 2011
EE2	ND (LD=1,44)	NSD	PTDAR c/ tto secundario (Meihu, China)	Liu S. <i>et al.</i> , 2011
	<5,0	<5,0	PTDAR c/ tto secundario (Barcelona, España)	Petrovic <i>et al.</i> , 2002
	0 - 2	0 - 131	PTDAR c/ lecho percolador (Canadá)	Fernandez <i>et al.</i> , 2007
	NSD	<LD - 5,6 (LD=2,8)	PTDAR lodos activados (Lyon, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2007
LVG	NSD	ND - <LD (LD=2,8)	PTDAR lodos activados de aireación extendida (Lyon, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2007
	<0,20	0,4 - 2,2	PTDAR c/ tto secundario (Barcelona, España)	Petrovic <i>et al.</i> , 2002

PAH	Concentración (ng/L)		Tipo de tratamiento (Lugar)	Referencia
	Afluente	Efluente		
LVG	NSD	0,9 - 17,2	PTDAR lodos activados (Lyon, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2007
	NSD	10,8 - 17,9	PTDAR lodos activados de aireación extendida (Lyon, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2007
	NSD	1	PTDAR lodos activados (Umea, Suecia)	Fick <i>et al.</i> , 2010
	NSD	<LD (LD=1)	PTDAR lodos activados de aireación extendida (Estocolmo, Suecia)	Fick <i>et al.</i> , 2010
NET	<0,20 - 1,5	<0,20 - 4,8	PTDAR c/ tto secundario (Barcelona, España)	Petrovic <i>et al.</i> , 2002
	NSD	5,2 - 23,1	PTDAR lodos activados (Lyon, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2007
	NSD	13,0 - 41,0	PTDAR lodos activados de aireación extendida (Lyon, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2007
	0 - 224	0 - 159	PTDAR c/ lecho percolador (Canadá)	Fernandez <i>et al.</i> , 2007
	4,6 - 12,0	ND (LD=0,1)	7 PTDAR c/ tto secundario (Beijing, China)	Chang <i>et al.</i> , 2011
NOG	0 - 48	0 - 126	PTDAR c/ lecho percolador (Canadá)	Fernandez <i>et al.</i> , 2007
	59,0	9,2	PTDAR lodos activados (Huiyang, China)	Liu S. <i>et al.</i> , 2011
	28,7	6,7	PTDAR lodos activados (Meihu, China)	Liu S. <i>et al.</i> , 2011

Fuente: Elaboración propia a partir de revisión bibliográfica.

ND: No detectado.

LD: Límite de detección.

NSD: No se determinó.

Además, la disposición final en el terreno de los lodos de las PTDAR constituye una fuente de contaminación del suelo. En la Tabla 3-5 se presentan las concentraciones de algunos PAH en lodos de PTDAR.

Tabla 3-5: Ocurrencia de PAH en lodos de PTDAR

Lugar	Concentración de PAH (ng/g)	Referencia
PTDAR lodos activados c/ desnitrificación (Alemania)	E2: 5 - 17 (lodo activado), 9 - 49 (lodo digerido) EE2: <LD - 4 (lodo activado), 2 - 17 (lodo digerido) (LD=0,4) MeEE2: <LD (lodo activado), <LD (lodo digerido) (LD=0,4)	Ternes <i>et al.</i> , 2002
PTDAR c/ tto secundario (China)	E2: 3,9 - 6,9 (lodo bruto), ND (LD=0,98) (lodo desaguado) P4: 7,3 - 61,1 (lodo bruto), 24,6 (lodo desaguado) NOG: ND (LD=0,90)	Liu S. <i>et al.</i> , 2011
PTDAR c/ tto secundario (China)	E2: 4,6 - 10,2 (lodo bruto), ND (LD=0,98) (lodo desaguado) P4: 6,2 - 11,8 (lodo bruto), 6,0 (lodo desaguado) NOG: ND (LD=0,90)	Liu S. <i>et al.</i> , 2011

ND: No detectado.

LD: Límite de detección.

Los estrógenos se adsorben en las partículas de lodos, y persisten durante el proceso de digestión (Ternes *et al.*, 2002).

### 3.2.2.2 Remoción de PAH en PTDAR

Los mecanismos de remoción de PAH en PTDAR están influenciados por numerosos factores, entre los que se encuentran el tipo de compuesto, el tipo de proceso de tratamiento y su operación.

En los procesos de tratamiento biológico de aguas residuales, son dos los mecanismos más importantes de eliminación de PAH: adsorción y biodegradación. El primer mecanismo se debe a la naturaleza no polar e hidrofóbica de estos compuestos, lo que favorece su adsorción a las partículas y su concentración en los lodos. El segundo mecanismo se refiere a la degradación y transformación en los procesos biológicos de tratamiento, estando las eficiencias de eliminación influenciadas por diversos factores como el tiempo de retención celular, la temperatura del efluente, la alternancia entre condiciones anaeróbicas, anóxicas y aerobias, etc. (Hernández *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2009). La eficiencia de remoción en el tratamiento primario de las PTDAR es relativamente baja (menor que 19,8 % para E2) (Xu *et al.*, 2012).

Para los estrógenos E2 y EE2, la adsorción en el proceso de lodos activados desempeña un papel importante para su remoción de efluentes. Sin embargo, la degradación en el lodo parece no ser importante ya que dichos compuestos aparecen en el lodo y en el agua procedente de los procesos de deshidratación del lodo en concentraciones significativas (Ternes *et al.*, 2002). Para los progestágenos, el mecanismo parece ser diferente: presentan mayor afinidad por la fase acuosa que por la fase sólida, ya que han sido reportadas concentraciones significativas en el efluente y no en el lodo (Liu Z. *et al.*, 2011).

Chang *et al.* (2011) analizaron la eficiencia de remoción de un grupo de estrógenos, andrógenos y progestágenos en 7 PTDAR de Beijing con tratamiento secundario. Las eficiencias de remoción para los progestágenos fueron de 91 a 100 %, en tanto que para los estrógenos fueron menores, de 67 a 80 %. Para los progestágenos, se comprobó que la biodegradación fue el principal mecanismo de remoción.

Según un estudio realizado a partir de la compilación de información de mediciones en las PTDAR de Suecia de la última década, la eficiencia media de remoción de  $17\alpha$ -etinilestradiol y noretindrona es del orden de 80 % en las PTDAR con procesos de lodos activados, siendo las concentraciones medias en el efluente tratado de 30 ng/L y 10 ng/L respectivamente, y no varían significativamente si el proceso es convencional o de aireación extendida. (Falås *et al.*, 2012). Sin embargo, hay indicios de que una mayor actividad de nitrificación puede llevar a una mayor eficiencia en la remoción de estrógenos, justificado en el hecho de una mayor diversidad de bacterias y en la presencia de algunos microorganismos de crecimiento lento que se desarrollan con altos tiempos de retención celular (Xu *et al.*, 2012).

Liu *et al.* (2013) analizaron la remoción de norgestrel y progesterona en condiciones aerobias en laboratorio utilizando lodos activados como inóculo. Observaron que la degradación aerobia sigue una cinética de primer orden, con un tiempo de vida media de 12,5 días para el NOG y de 4,3 horas para la P4. Para el caso del NOG, el elevado tiempo de retención registrado parece indicar que se requieren tiempos de retención hidráulica elevados para la remoción de este PAH en PTDAR con tratamiento secundario. Este valor resultó muy superior al único antecedente reportado en la bibliografía, donde se determinó un tiempo de vida media de 1,2 horas para el NOG, con eficiencias de remoción mayores a 99 % luego de 24 horas (Chang *et al.*, 2011). En este caso, el estudio fue realizado simulando el proceso de lodos activados en laboratorio, por lo cual podría estar representando mejor lo que sucede en los procesos a escala real.

En un estudio realizado por Allinson *et al.* (2010), en el cual se analizaron muestras de efluentes de 45 PTDAR en Australia, se constató que la mayoría de los efluentes presentaban actividad

estrogénica: hasta 73 ng/L de EEQ en invierno, y hasta 20 ng/L de EEQ en verano, con concentraciones de estrógenos (estradiol, estrona y etinilestradiol) por debajo de 10 ng/L.

Es posible constatar que las eficiencias de remoción de PAH en las PTDAR son variables, incluso para un mismo tipo de compuesto en diferentes PTDAR (Tambosi, 2008). Las eficiencias de remoción de estrógenos en PTDAR reportadas en bibliografía varían de 39,6 a 100 % para E2 y de 0 a >98 % para EE2, siendo la media de 89 % y 74 % respectivamente. Los tiempos de vida media para la degradación, estimados en base a una cinética de primer orden, varían de 0,5 a 13 horas para E2 y de 3,6 a <12,3 horas para EE2, siendo la media de 4,3 horas y 5,7 horas respectivamente (Xu *et al.*, 2012).

Por último cabe señalar que los tratamientos químicos convencionales como la coagulación y la floculación tienen bajos rendimientos y no son apropiados para eliminar PAH de efluentes debido a que la mayor parte son compuestos orgánicos de bajo peso molecular (Hernández *et al.*, 2006).

En la Tabla 3-6 se presentan las eficiencias de remoción de algunos PAH reportadas en la bibliografía para distintos procesos de tratamiento, tanto en aguas residuales como en aguas de abastecimiento.

**Tabla 3-6: Eficiencias de remoción (%) de algunos PAH en procesos de tratamiento de aguas residuales y de abastecimiento**

Proceso unitario	E2	EE2	P4
Lodos activados/MBR	0-100	>70	20-90
Carbón activado	0-100	20-90	70-90
Nanofiltración / Ósmosis inversa	>40	>40	>40
Coagulación/floculación/ablandamiento	<20	<20	<20
Cloración (Cl <sub>2</sub> , ClO <sub>2</sub> )	>70	>70	<70
Ozonización (O <sub>3</sub> )	>90	>90	>70
POA <sup>1</sup>	>70	>90	>90

Fuente: Roccato *et al.* (2013).

<sup>1</sup> Incluye ozonización para formación de radicales OH<sup>•</sup>.

A modo de resumen, se observa que los procesos biológicos como lodos activados y MBR presentan eficiencias de remoción muy variables, incluso para un mismo tipo de compuesto, al igual que los procesos de adsorción en carbón activado. Los tratamientos físico-químicos convencionales como la coagulación y la floculación utilizados en los tratamientos de las PTA no son eficientes para remover PAH. Los tratamientos de oxidación, como la ozonización y los POA, son los únicos que muestran altas eficiencias de remoción independientemente del compuesto y de las condiciones operativas.

### 3.2.3 Aguas residuales de la industria farmacéutica

Las aguas residuales provenientes de la fabricación de fármacos poseen características especiales debido a la naturaleza del proceso productivo; normalmente son intermitentes, fluctuantes y poseen una composición variable dependiendo del régimen de producción y de los productos fabricados (Quesada, 2009).

Son muy escasos los datos publicados en relación a la caracterización de aguas residuales de la industria farmacéutica, más aún de aquellas que específicamente producen ACO, y muestran una gran variabilidad. Cui *et al.* (2006) cuantificaron 4 estrógenos en el efluente de una industria farmacéutica dedicada principalmente a la producción de ACO, en China. Las concentraciones medias obtenidas en muestras colectadas previo al ingreso a la PTDAR de la industria fueron de 85 ±

9 ng/L y  $155 \pm 4,5$  ng/L de E2 y EE2 respectivamente. Nasuhoglu *et al.* (2012) determinaron concentraciones de EE2 y LVG en el efluente de una industria de producción de ACO en Canadá, obteniendo valores de  $55,1 \pm 7,5$  mg/L y  $567 \pm 25$  mg/L para uno y otro compuesto respectivamente, en muestras tomadas del primer lavado de los reactores de mezcla.

En cuanto a la relación  $\text{DBO}_5/\text{DQO}$ , que es un indicador de la biodegradabilidad de un efluente, se ha observado que, si bien los valores de DQO y  $\text{DBO}_5$  pueden variar de un reporte a otro, la relación  $\text{DBO}_5/\text{DQO}$  suele ser baja (inferior a 0,5 e incluso tan baja como 0,06), según se cita en Quesada (2009). En este caso, los tratamientos biológicos no son suficientes para reducir la carga contaminante por debajo de los límites aceptables.

### 3.2.4 Cuerpos de agua

Los PAH presentes en aguas residuales de origen doméstico y de la Industria Farmacéutica, pueden contaminar los cuerpos de agua.

Las concentraciones de algunos PAH en el ambiente acuático que han sido reportadas se encuentran en el rango de menos de 1 ng/L a cientos de ng/L (<1 a 375 ng/L según Orlando, 2014). Como caso excepcional se destacan los resultados obtenidos para aguas superficiales en Brasil, donde se determinaron concentraciones máximas de 3.500 ng/L y 4.300 ng/L de EE2; se presume que estas altas concentraciones se pueden deber a la influencia de vertidos de origen industrial, o incluso a errores en los procedimientos de cuantificación (Bianchetti, 2008).

En la Tabla 3-7 se presentan algunos resultados de las concentraciones de algunos PAH en aguas superficiales y en aguas subterráneas reportadas en la bibliografía. Mayor detalle se puede encontrar en las revisiones de Aris *et al.* (2014) para los estrógenos y de Liu Z. *et al.* (2011) para los progestágenos; un resumen de las concentraciones de los distintos PAH en aguas superficiales y en aguas subterráneas en dichas revisiones se adjunta en el Anexo 2. Cabe señalar que estas concentraciones no son resultado exclusivo del vertido de aguas residuales de origen doméstico y de la Industria Farmacéutica; pueden estar contribuyendo otras fuentes de PAH (que no están comprendidas dentro del alcance del presente estudio).

Tabla 3-7: Ocurrencia de PAH en aguas superficiales y subterráneas

PAH	Concentración (ng/L)	Lugar	Referencia
E2	ND (LD=0,01)	Arroyo urbano (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008
	ND (LD=0,01)	Lago (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008
	ND - 1,3 (LD=0,01)	Aguas subterráneas (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008
	ND (LD=1,11-4,01)	Río Delaware (New Jersey, USA)	MacGillivray, 2013
	3,23 - 23,12 (LD=18,09)	Afluentes de la Laguna de Aruarama (Río de Janeiro, Brasil)	Santos, 2013
	< 0,037	Ríos en regiones densamente pobladas (Río Manzanares y Río Jarama, España)	Esteban <i>et al.</i> , 2014
EE2	ND (LD=0,20)	Arroyo urbano (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008
	ND (LD=0,20)	Lago (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008

PAH	Concentración (ng/L)	Lugar	Referencia
EE2	<LD - 3,0 (LD=0,20)	Aguas subterráneas (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008
	ND - 4,01 (LD=2,66-5,01)	Río Delaware (New Jersey, USA)	MacGillivray, 2013
	1,92 - 27,18 (LD=23,87)	Afluentes de la Laguna de Aruarama (Río de Janeiro, Brasil)	Santos, 2013
	≤ 5	Aguas subterráneas (departamentos franceses de ultramar)	Vulliet <i>et al.</i> , 2014
	< 0,14	Ríos en regiones densamente pobladas (Río Manzanares y Río Jarama, España)	Esteban <i>et al.</i> , 2014
MeEE2	ND (LD=1,35-20)	Río Delaware (New Jersey, USA)	MacGillivray, 2013
LVG	5,3	Arroyo urbano (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008
	7,0	Lago (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008
	7,4 - 11,0	Aguas subterráneas (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008
	≤ 50	Aguas subterráneas (departamentos franceses de ultramar)	Vulliet <i>et al.</i> , 2014
NET	2,8	Arroyo urbano (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008
	2,7	Lago (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008
	4,2 - 5,6	Aguas subterráneas (región Ródano-Alpes, Francia)	Vulliet <i>et al.</i> , 2008
	ND - 4,24 (LD=2,24-4,01)	Río Delaware (New Jersey, USA)	MacGillivray, 2013
	≤ 35	Aguas subterráneas (departamentos franceses de ultramar)	Vulliet <i>et al.</i> , 2014
NOG	3,7 (AA PTDAR) 22,2 (aa PTDAR)	Río (Danshui, China)	Liu S. <i>et al.</i> , 2011
	ND (LD=4,01-13,2)	Río Delaware (New Jersey, USA)	MacGillivray, 2013
DES	ND - 242 (LD=4,56-120)	Río Delaware (New Jersey, USA)	MacGillivray, 2013
DRO	≤ 20	Aguas subterráneas (departamentos franceses de ultramar)	Vulliet <i>et al.</i> , 2014

Fuente: Elaboración propia a partir de revisión bibliográfica.

ND: No detectado.

LD: Límite de detección.

AA PTDAR: aguas arriba de una planta de tratamiento de aguas residuales.

aa PTDAR: aguas abajo de una planta de tratamiento de aguas residuales.

Las concentraciones son muy variables, dependiendo de la ubicación geográfica y de la época del año. Como se dijo, los patrones de consumo varían de un país a otro, así como la densidad de población. Además, las concentraciones varían acorde a los caudales de los cursos de agua; épocas secas o lluviosas pueden generar variaciones significativas.

Cabe señalar que, a pesar de que no han sido reportadas en la bibliografía concentraciones de drospirenona en aguas superficiales, es de esperar que los niveles sean similares a otros PAH (en el rango de pocos ng/L). Además, es esperable un incremento en los niveles de DRO debido al aumento en el consumo de los ACO de cuarta generación (Zucchi *et al.*, 2014).

Los PAH también han sido encontrados en los sedimentos de cursos de agua. En un estudio realizado por Petrovic *et al.* (2002), fueron reportadas concentraciones de 22,8 µg/kg de EE2 y pocos µg/kg de noretindrona y progesterona en sedimentos del Río Llobregat, España. Ternes *et al.* (2002) reportaron concentraciones de hasta 1,5 ng/g de E2 y de hasta 0,9 ng/g de EE2 en muestras de sedimentos de 8 ríos de Alemania, en tanto no fueron detectadas concentraciones de mestranol. Las concentraciones de estrógenos en sedimentos pueden ser hasta 1.000 veces mayores en volumen que en la columna de agua correspondiente, encontrándose en el rango de 0,05 a 29 ng/g en peso seco (Bradley *et. al.*, 2009).

Pocos estudios consideran la estabilidad de estrógenos y progestágenos en aguas superficiales. Labadie y Budzinski (2005) observaron pérdidas de esteroides naturales durante el almacenamiento de muestras de efluentes de PTDAR ubicadas en la cuenca del Río Sena (Francia), estimando una vida media en el rango de 8 horas para P4 y de 3,6 días para E2. Para el caso de los estrógenos y progestágenos sintéticos (EE2, mestranol, norgestrel y noretindrona) observaron estabilidad durante todo el periodo de almacenamiento de 1 semana. Por otro lado, Aboulfadl *et al.* (2010) encontraron pérdidas significativas de estrógenos y progestágenos (E2, EE2, progesterona, norgestrel, noretindrona) durante el almacenamiento de muestras de cursos de agua superficial, en el rango de 63 a 72 % luego de 21 días de almacenamiento. En el estudio de Vulliet *et al.* (2014) se analizó la estabilidad de algunos PAH durante 7 días de conservación de las muestras a 4 °C, encontrándose pérdidas apreciables para drospirenona, noretindrona, progesterona, E2 y levonorgestrel; las pérdidas mayores fueron para la progesterona, de 35 %. Estas pérdidas se pueden asociar a las propiedades fisicoquímicas de los compuestos y a características de la matriz (COT, turbiedad y OD) que favorecen la adsorción de estos compuestos en el material en suspensión, lo cual reduce las concentraciones en la fase acuosa.

Si bien las concentraciones de los distintos PAH en el medio acuático reportadas son a niveles traza (pocos ng/L) su potencial ecotóxico hace que sean un tema de preocupación (Fick *et al.*, 2010), según será analizado en la sección 3.3.

### **3.2.5 Aguas de abastecimiento**

Una vez presentes en el agua bruta para abastecimiento público, los PAH no son completamente removidos en los procesos de tratamiento de las PTA, según ya fue mostrado en la Tabla 3-6.

Se han reportado concentraciones de algunos PAH en aguas de abastecimiento de fuentes superficiales en el rango de ng/L. Los progestágenos parecen ser más resistentes a los tratamientos de las PTA que los estrógenos (Touraud *et al.*, 2011).

En Brasil se ha detectado la presencia de E2 tanto en el agua bruta como en el agua tratada de algunas PTA. En el agua tratada de las PTA de Campinas y de Sumaré fueron reportadas concentraciones de E2 de 0,93 y 1,30 ng/L, siendo la eficiencia de remoción de 80 %. En otro estudio fueron reportadas concentraciones de E2 de 6,8 ng/L en aguas de abastecimiento de Brasil (Gerolin 2008, Lopes 2007, en De Oliveira, 2011).

En un estudio realizado por Vulliet *et al.* (2011), se analizaron muestras de agua bruta (aguas superficiales) y agua tratada de 8 PTA de Francia con procesos de tratamiento convencionales que incluían coagulación, floculación, desinfección primaria con cloro u ozono, filtración (en arena y/o carbón activado), desinfección final (con cloro o dióxido de cloro), y ajuste de alcalinidad. En el agua bruta se encontraron de forma regular concentraciones de noretindrona y levonorgestrel en el rango de 0,2 a 8,5 ng/L, y en el agua tratada se reportaron concentraciones del mismo orden. Para el caso de la noretindrona, se detectó en el 66 % de las muestras de agua tratada analizadas, siendo de 2 ng/L el valor medio de la concentración y 6,8 ng/L el máximo. Esto indica que los procesos de tratamiento de las PTA no son eficientes en la remoción de estos compuestos.

También se han reportado concentraciones de PAH en agua embotellada. Plotan *et al.* (2013) analizaron 14 muestras de agua mineral embotellada de la región de Irlanda del Norte, y en el 78 % encontraron actividad hormonal, en un rango de 1 a 34 ng/L de EEQ para la actividad estrogénica y de 11 a 392 ng/L de PEQ para la actividad progestagénica. Los niveles de actividad estrogénica se encuentran dentro del rango reportado en estudios anteriores.

### **3.3 EFECTOS DERIVADOS DE LA PRESENCIA DE PRINCIPIOS ACTIVOS HORMONALES EN EL AMBIENTE**

Los PAH alteran la actividad hormonal de seres humanos, y afectan el sistema endocrino, simulando la acción de las hormonas naturales, inhibiéndolas o alternando las funciones normales de los sistemas inmunológico, nervioso y endocrino. Los PAH están diseñados para generar un efecto deseado o buscado en la salud de seres humanos, a través de una ruta y una acción específica, como por ejemplo, inhibir la ovulación para evitar el embarazo. Sin embargo, una vez que estos productos llegan al medio ambiente, también pueden generar efectos similares (no deseados), incluso en concentraciones en el rango de ng/L, como afectación a la capacidad reproductiva, disminución de la fertilidad, disminución de la aptitud sexual y feminización de machos, en especies de menor porte que poseen órganos, tejidos, células o biomoléculas blanco similares (Fent *et al.*, 2006).

Según la denominada hipótesis de extrapolación, de la cual se han encontrado evidencias, los PAH diseñados para actuar en organismos objetivo (como los humanos) tendrán un efecto en organismos no objetivo sólo si las moléculas blanco, como los receptores, se conservan. La interacción específica entre un PAH y una molécula blanco resultará en una respuesta farmacológica antes que en un efecto tóxico, y requerirá que las concentraciones en el plasma sean similares a las concentraciones terapéuticas humanas (Rand-Weaver *et al.*, 2013).

El efecto final va a depender de la peligrosidad intrínseca del compuesto, en lo que hace a su persistencia en el ambiente, su potencial de bioacumulación y su toxicidad. Por lo tanto, interesa caracterizar los compuestos en estudio según estos criterios de peligrosidad, lo que se expone a continuación.

#### **3.3.1 Toxicidad**

Los efectos tóxicos de los PAH son de carácter crónico por la exposición prolongada a bajas concentraciones; es poco probable que ocurran efectos tóxicos agudos en organismos acuáticos expuestos a bajas concentraciones de PAH.

Existen diversos estudios que evidencian los efectos adversos potenciales por exposición a 17 $\beta$ -estradiol y 17 $\alpha$ -etinilestradiol (Li *et al.*, 2009). Los vertebrados acuáticos, especialmente los peces, son las especies más sensibles a la regulación endocrina, la cual se puede manifestar como una reducción de la fertilidad. Los signos de la feminización en peces macho comprenden la producción

de la proteína femenina vitelogenina (que se produce únicamente como respuesta a la exposición a estrógenos) y la ocurrencia de una forma intersexual anormal de hermafroditismo (Christiansen *et al.*, 2002). Folmar *et al.* (2000) observaron que concentraciones a partir de 100 ng/L de EE2 inducían la síntesis de vitelogenina en peces machos de la especie *Cyprinodon variegatus*. Länge *et al.* (2001) observaron que una concentración de 4 ng/L de EE2 inhibió el desarrollo del tejido testicular de peces de la especie *Pimephales promelas* luego de 172 días de exposición, además de impedir el desarrollo de características sexuales secundarias normales. En otro estudio con la misma especie, Pawlowski *et al.* (2004) observaron que la exposición a EE2 provoca la síntesis de la proteína vitelogenina a concentraciones a partir de 1 ng/L, un incremento en el número de huevos engendrados por pareja a concentraciones entre 0,1 y 1,0 ng/L, y una disminución de la tasa de fecundidad a concentraciones entre 10 y 100 ng/L. Schäfers *et al.* (2007) observaron que la reproducción de peces de la especie *Danio rerio* es completamente inhibida a concentraciones de 9,3 ng/L de EE2 y el efecto es irreversible. Para esa misma especie, Colman *et al.* (2009) observaron que concentraciones a partir de 0,5 ng/L de EE2 reducen la agresividad masculina durante los encuentros diádicos macho-macho durante 48 horas de exposición, y concentraciones de 50 ng/L generan la renuncia al dominio paternal de los machos dominantes en el mismo periodo de exposición.

También se han reportado efectos adversos en invertebrados por exposición a 17 $\beta$ -estradiol y 17 $\alpha$ -etinilestradiol, particularmente en crustáceos e insectos, aunque los resultados parecen indicar que dichos efectos no están mediados vía sistema hormonal de los artrópodos (Hutchinson, 2002). En anfípodos de la especie *Gammarus pulex*, concentraciones de 7,5  $\mu$ g/L de EE2 durante 100 días de exposición causaron incrementos significativos en el tamaño de la población y en la proporción de hembras; en quironómidos de la especie *Chironomus riparius*, concentraciones de 1 ng/L de EE2 acortaron significativamente los tiempos en emergir en adultos de la primera y segunda generación expuesta (Watts *et al.* 2002, en Hutchinson, 2002). En copépodos, no se observaron efectos adversos (tales como características intersexuales anormales) a concentraciones de E2 y EE2 en el rango de 10 a 100 ng/L durante 21 días de exposición en la especie *Tisbe battagliai* (Hutchinson *et al.* 1999, en Hutchinson, 2002) ni en la especie *Nitocra spinipes* a concentraciones en el rango de 0,5 a 50  $\mu$ g/L durante 18 días de exposición (Brietholdz *et al.* 2001, en Hutchinson, 2002); en tanto en la especie *Acartia tonsa* se observó la inhibición del desarrollo naupliar de larvas a concentraciones de 46  $\mu$ g/L de EE2 a 5 días de exposición (Andersen *et al.* 2001, en Hutchinson, 2002). En decápodos de las especies *Balanus amphitrite* y *Elminius modestus*, la exposición a E2 causó disrupción en el tiempo del desarrollo de las larvas (Billingshurst *et al.* 1998, 2000, en Hutchinson, 2002).

En cuanto a los efectos de los progestágenos, son muy pocos los estudios realizados y la información disponible es escasa, pero los resultados parecen ser concluyentes. Los resultados de los estudios de exposición a progestágenos en peces y otras especies acuáticas muestran alteraciones en la reproducción, en el desarrollo y en el comportamiento (Orlando y Ellestad, 2014).

El progestágeno sintético más estudiado hasta la fecha es el levonorgestrel, que presente en el medio acuático en muy bajas concentraciones causa efectos adversos en peces y anfibios. Los efectos androgénicos del LVG producen signos de masculinización en peces hembra que comprenden la producción de una proteína masculina llamada *spiggin* (que se produce únicamente como respuesta a la exposición a andrógenos). Esta proteína es el único biomarcador conocido hasta la fecha para exposición a andrógenos, y es equivalente a la vitelogenina para la exposición a estrógenos (Svensson *et al.*, 2013). Zeilinger *et al.* (2009) observaron que concentraciones a partir de 0,8 ng/L de LVG causan inhibición de la reproducción en peces de la especie *Pimephales promelas*, y concentraciones mayores producen la masculinización de hembras con la síntesis de tubérculos nupciales. La exposición a LVG de las larvas de rana de la especie *Xenopus tropicalis* genera un desarrollo dependiente de la hormona tiroidea y afecta el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal durante el desarrollo sexual en concentraciones aproximadamente 100 veces mayores que las reportadas en el ambiente (Lorenz *et al.*, 2011). Svensson *et al.* (2013) observaron que la exposición de peces

hembra de la especie *Gasterosteus aculeatus* a concentraciones mayores o iguales a 40 ng/L de LVG durante 21 días genera efectos androgénicos y antiandrogénicos, incluyendo inducción de la producción de la proteína *spiggin*, hipertrofia renal y supresión hepática de la producción de vitelogenina.

Respecto a otros progestágenos, Paulos *et al.* (2010) observaron que la exposición de peces de las especies *Oryzias latipes* y *Pimephales promelas* a concentraciones de noretindrona en el rango de ng/L causa pérdidas de fecundidad. El mencionado estudio de Zeilinger *et al.* (2009) muestra que la drospirenona afecta la reproducción de peces de la especie *Pimephales promelas* a partir de concentraciones de 6,5 µg/L con una clara relación dosis-respuesta, siendo el NOEC de 0,66 µg/L.

Runnalls *et al.* (2013) realizaron experimentos *in vivo* e *in vitro* con peces de la especie *Pimephales promelas* expuestos a cuatro progestágenos: levonorgestrel, gestodeno, desogestrel y drospirenona. La exposición durante 21 días a concentraciones de 100 ng/L de LVG y GES causa inhibición casi total de la reproducción, mientras que las mismas concentraciones de DES y DRO no afectan la reproducción. Concentraciones de GES tan bajas como 1 ng/L generan efectos significativos en la reproducción de la misma especie, mientras que en el caso del DES son necesarias concentraciones superiores a 1 µg/L para reducir de forma significativa la producción de huevos. Además, los progestágenos estudiados producen la masculinización en peces hembra, lo cual se explica por las propiedades androgénicas de estos compuestos. Del estudio se concluye que todos los progestágenos podrían inhibir la reproducción de peces, si bien algunos son menos potentes que otros (100 órdenes de diferencia), y que los efectos dependen de la concentración de exposición.

En cuanto a la drospirenona, Zucchi *et al.* (2014) estudiaron los perfiles de expresión génica de ovarios y cerebro de peces hembra de la especie *Danio rerio* expuestos a concentraciones de este progestágeno (de 55, 553 y 5.442 ng/L) durante 14 días. Los hallazgos transcriptómicos estuvieron relacionados con cambios en la concentración en sangre de la proteína vitelogenina, morfología e histología de las gónadas. Los efectos de la DRO con P4 resultaron aditivos para la mayoría de los parámetros investigados y ocurren a concentraciones ambientales.

Ellestad *et al.* (2014) demostraron que los progestágenos pueden activar tanto los receptores de progesterona como los receptores de andrógenos en peces, según ensayos *in vitro* realizados con peces de la especie *Pimephales promelas*, por lo que confirman que la afectación al fenotipo que ha venido siendo detectada se da a través de esas vías. Para el caso de los progestágenos de primera, segunda y tercera generación, su actividad biológica está mediada únicamente a través de receptores de andrógenos; los valores de EC<sub>50</sub> vinculados a la actividad androgénica fueron de 0,12 nM para noretindrona, 0,050 nM para levonorgestrel, 0,048 nM para etonogestrel y 0,085 nM para gestodeno. Los progestágenos de cuarta generación presentan menor potencia androgénica, con valores de EC<sub>50</sub> vinculados a la actividad androgénica de 26,6 nM para la drospirenona, pero sí activan los receptores de progesterona, con valores de EC<sub>50</sub> vinculados a la actividad progestagénica de 466 nM para la DRO. Fernandes *et al.* (2014) también constataron la inhibición de la síntesis de andrógenos, mediante ensayos *in vitro* en peces de la especie *Cyprinus carpio*. En este estudio, los inhibidores más potentes resultaron ser la drospirenona y la noretindrona (con una IC<sub>50</sub> de 1,8 µM y de 0,4 µM respectivamente para CYP11β), seguido del acetato de ciproterona (IC<sub>50</sub> de 87 µM).

En un estudio reciente, Gilroy *et al.* (2014) estudiaron la toxicidad aguda (en 48 horas) en larvas de mejillones de la especie *Lampsilis siliquoidea* expuestos a concentraciones de 0 a 3 mg/L de drospirenona, y no observaron variaciones en la viabilidad de las larvas, por lo que no se pudieron determinar valores de EC<sub>50</sub>. Dado que, por sus propiedades físico-químicas, es esperable que la DRO se encuentre adsorbida en sedimentos y no en la fase acuosa, los investigadores concluyen que puede ser más tóxica que lo que muestran estos resultados debido a la exposición potencial a través de la alimentación de sedimentos.

En la Tabla 3-8 se presenta un resumen de los niveles de toxicidad crónica reportados en la bibliografía para algunos PAH en especies del medio acuático.

Tabla 3-8: Niveles de toxicidad crónica de algunos PAH en organismos acuáticos

PAH	Grupo taxonómico	Especie	Toxicidad	Valor	Referencia
EE2	Vertebrados	<i>Pimephales promelas</i>	NOEC (crónica)	1,0 ng/L	Länge <i>et al.</i> , 2001
	Vertebrados	<i>Pimephales promelas</i>	LOEC (crónica)	1,0 ng/L <sup>1</sup> 0,1 ng/L <sup>2</sup>	Pawlowski <i>et al.</i> , 2004
	Vertebrados	<i>Danio rerio</i>	NOEC (crónica)	0,5 ng/L	Schäfers <i>et al.</i> , 2007
DRO	Vertebrados	<i>Pimephales promelas</i>	NOEC (crónica)	0,66 µg/L	Zeilinger <i>et al.</i> , 2009
GES	Vertebrados	<i>Pimephales promelas</i>	NOEC (crónica)	< 1 ng/L	Runalls <i>et al.</i> , 2013
LVG	Vertebrados	<i>Pimephales promelas</i>	NOEC (crónica)	< 0,8 ng/L	Zeilinger <i>et al.</i> , 2009
NET	Vertebrados	<i>Oryzias latipes</i>	NOEC (crónica)	5 ng/L	Paulos <i>et al.</i> , 2010
			LOEC (crónica)	25 ng/L	Paulos <i>et al.</i> , 2010

Fuente: Elaboración propia a partir de revisión bibliográfica.

<sup>1</sup> LOEC determinado para biomarcadores (proteína vitelogenina, tubérculos nupciales, etc.).

<sup>2</sup> LOEC determinado para un incremento del número de huevos engendrado por pareja.

### 3.3.2 Bioconcentración

Además de sus efectos ecotoxicológicos, los progestágenos tienen un potencial de bioacumulación significativo (Liu Z. *et al.*, 2011). En el plasma sanguíneo de peces de la especie *Oncorhynchus mykiss*, se han registrado concentraciones de levonorgestrel 4 veces mayores que las concentraciones terapéuticas para humanos, cuando fueron expuestos a aguas residuales de origen doméstico tratadas, resultando un factor de bioconcentración (FBC) de 12.000 (Fick *et al.*, 2010). Las concentraciones terapéuticas de LVG en el plasma de humanos son de 2,4 ng/L; las concentraciones en el plasma de peces reportadas para el efluente de la PTDAR de Umea (1 ng/L en el efluente) y para el de la PTDAR de Estocolmo, fueron de 12 ng/L y 8,5 ng/L respectivamente.

Para el mejillón de la especie *Dreissena polymorpha*, Contardo-Jara *et al.* (2011) registraron concentraciones de LVG de 30 a 208 veces mayores que las concentraciones ambientales de 0,312 µg/L, 3,12 µg/L y 6,24 µg/L luego de 7 días de exposición, siendo mayor el FBC para menores concentraciones ambientales. Por ejemplo, para exposiciones a 0,312 µg/L de LVG, se registraron concentraciones 95 veces mayores en los tejidos luego de 4 días, y el FBC aumentó a 208 luego de una semana.

Para la drospirenona, el logaritmo del FBC (LogFBC) calculado según el método de Arnob y Gobas, 2006, es de 2,97 (Gilroy *et al.*, 2014).

### 3.3.3 Persistencia

La persistencia está dada por la resistencia a la degradación fotoquímica, química y biológica, que depende de la interacción del compuesto con los microorganismos presentes en el medio, y de las reacciones abioticas (hidrólisis y fotólisis). Los PAH usualmente son sintetizados para resistir la biodegradación, por lo cual pueden permanecer en el ambiente por largos periodos de tiempo (Stockholm Country Council, 2012). Para el 17 $\alpha$ -etinilestradiol, el tiempo de disipación en ambientes acuáticos de agua dulce es del orden de 20 a 40 días (de Matos, 2011).

### 3.3.4 Índice PBT

Según la clasificación ambiental de productos farmacéuticos del Stockholm Country Council (2012), la peligrosidad ambiental de esas sustancias se puede expresar en función de la persistencia (capacidad de resistir la degradación en el ambiente acuático), la bioconcentración (acumulación en el tejido adiposo de organismos acuáticos), y la toxicidad (potencial de intoxicar a los organismos acuáticos). A cada una de estas características se le asocia un valor numérico de 0 a 3, y el total representa el denominado Índice PBT; cuanto mayor es el valor del Índice PBT, mayor es la peligrosidad para el ambiente.

Además de la peligrosidad ambiental dada por el Índice PBT, dicha clasificación considera el riesgo ambiental. El riesgo ambiental está basado en la relación entre la concentración ambiental prevista (PEC) de la sustancia en los cursos de agua de Suecia, y la máxima concentración de la sustancia que no tiene un efecto perjudicial en el ambiente (PNEC). El riesgo se especifica de la siguiente manera:

- Insignificante, si  $PEC/PNEC < 0,1$ .
- Bajo, si  $0,1 < PEC/PNEC < 1$ .
- Moderado, si  $1 < PEC/PNEC < 10$ .
- Alto, si  $PEC/PNEC > 10$ .
- No puede desconsiderarse (*cannot be excl.*), si la documentación de base del fabricante de la sustancia sea insuficiente para la evaluación de riesgo.

En la Tabla 3-9 se presenta el Índice PBT y el riesgo ambiental para los PAH incluidos en el grupo G03 correspondiente a hormonas sexuales y moduladores del sistema genital.

**Tabla 3-9: Índice PBT y riesgo ambiental de algunos PAH (Stockholm Country Council, 2012)**

Sustancia	PBT	Persistencia	Bioconcentración	Toxicidad	Riesgo ambiental
<b>Estradiol</b>	<b>9</b>	3	3	3	Moderado
<b>Etinilestradiol</b>	<b>9</b>	3	3	3	Alto
<b>Acetato de ciproterona</b>	<b>9*</b>	3	3	3*	<i>cannot be excl</i>
<b>Desogestrel</b>	<b>8</b>	3	3	2	Insignificante
<b>Dienogest</b>	<b>4</b>	3	0	1	Insignificante
<b>Drospirenona</b>	<b>8*</b>	3	3*	2	(No informado)
<b>Etonogestrel</b>	<b>8*</b>	3	3	2*	Insignificante
<b>Levonorgestrel</b>	<b>9*</b>	3	3	3*	<i>cannot be excl</i>
<b>Noretindrona</b>	<b>9</b>	3	3	3	<i>cannot be excl</i>

NOTA: con \* se indica que la evaluación es incierta debido a la falta de datos.

Se observa que, con excepción del dienogest, todos los PAH que están reportados en la clasificación ambiental de productos farmacéuticos del Stockholm Country Council tienen un Índice PBT alto, entre 8 y 9. Todos esos PAH son persistentes, poseen un FBC elevado y son tóxicos en mayor o menor grado.

Por lo tanto, a pesar de ser muy escasa la información disponible sobre los efectos ambientales de los PAH, fundamentalmente en lo referente a los efectos ecotoxicológicos de los progestágenos, los resultados obtenidos hasta el momento alertan sobre la necesidad de reducir la entrada de estos contaminantes al ambiente. Dado que los sistemas de tratamiento convencionales no permiten removerlos de forma eficaz, se hace necesario el desarrollo y la implementación de tecnologías eficientes de remoción.

Básicamente, se distinguen cuatro abordajes diferentes para mejorar la eficiencia de remoción de contaminantes emergentes en efluentes:

- Optimización de la tecnología de tratamiento existente.
- Modernización de las PTDAR existentes con nueva tecnología de fin de tubería (“end-of-pipe”).
- Métodos de separación en la fuente.
- Medidas de control en la fuente.

La mejora de las PTDAR y la aplicación de medidas de control en la fuente son los métodos más tradicionales para mejorar la calidad de los vertidos de efluentes hacia los cuerpos receptores. La separación en la fuente es de abordaje reciente, y tiene una aceptación cada vez mayor en la comunidad de investigadores de tratamientos de efluentes (Larsen *et al.*, 2004, en Tambosi, 2008).

### **3.4 OZONIZACIÓN COMO TECNOLOGÍA PARA REMOCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS HORMONALES**

#### **3.4.1 Procesos de oxidación avanzada**

La ozonización es uno de los denominados procesos de oxidación avanzada (POA) que se han reportado en la bibliografía como un tratamiento eficiente para la remoción de sustancias orgánicas de difícil degradación, presentes en bajas concentraciones, como es el caso de los PAH en efluentes y aguas de abastecimiento.

Los POA presentan una serie de ventajas frente a otros tratamientos, entre los que se pueden citar (Tambosi, 2008):

1. Mineralizan el contaminante, y no solamente lo transfieren de fase.
2. Son muy usados para la degradación de compuestos refractarios, transformándolos en compuestos biodegradables.
3. Se pueden usar combinados con otros procesos (pre y pos tratamiento).
4. Tienen un fuerte poder oxidante, con una rápida cinética de reacción.
5. Son capaces de mineralizar los contaminantes y no formar subproductos, si se utilizan cantidades adecuadas de oxidantes.
6. Generalmente, mejoran las propiedades organolépticas del efluente tratado (remueven color y olor).

7. En muchos casos, consumen menos energía, disminuyendo los costos de tratamiento.
8. Posibilitan el tratamiento *in situ*.

Los puntos 1 y 5 serán discutidos en la sección 3.4.6, donde se profundizará sobre la formación de subproductos.

Los POA involucran la generación *in situ* de radicales hidroxilo ( $\text{OH}^\bullet$ ) en cantidad suficiente para interactuar con los compuestos orgánicos del medio. Se basan en el hecho de que las tasas de reacción entre los radicales  $\text{OH}^\bullet$  y los contaminantes orgánicos son altas. En la Tabla 3-10 se presentan los potenciales de oxidación de distintas especies; después del flúor, el  $\text{OH}^\bullet$  es el oxidante más fuerte ( $E_\text{o} = 2,80 \text{ V a } 25^\circ\text{C}$ ).

**Tabla 3-10: Potenciales de oxidación**

Especie	$E_\text{o} (\text{V, } 25^\circ\text{C})$
Flúor	3,03
Radical hidroxilo	2,80
Oxígeno atómico	2,42
Ozono en medio ácido	2,07
Peróxido de hidrógeno	1,78
Radical perhidroxilo	1,70
Permanganato	1,68
Dióxido de cloro	1,57
Ácido hipocloroso	1,49
Cloro	1,36
Ozono en medio alcalino	1,27
Bromo	1,09
Yodo	0,54

Una consecuencia de la elevada reactividad de los radicales  $\text{OH}^\bullet$  es que los POA se caracterizan también por su baja selectividad. Para ser eficientes, deben generar altas concentraciones de radicales  $\text{OH}^\bullet$  en estado estacionario. Otra característica común a todos los POA es su capacidad para tratar efluentes con concentraciones menores que 5 g/L de DQO. Para mayores concentraciones, el elevado consumo de agente oxidante y la mejora en el balance energético del proceso, hacen preferibles las técnicas de oxidación directa (Fernández-Alba *et al.*, 2006).

Los POA pueden ser sistemas homogéneos, catalizador y sustrato o simplemente sustrato formando una única fase, o heterogéneos, catalizador y sustrato forman dos o más fases. A su vez, los procesos homogéneos se diferencian entre sí en la forma en que generan los radicales  $\text{OH}^\bullet$ , que puede ser con aporte externo o sin aporte de energía, según se muestra en la Tabla 3-11. Estas diferentes formas de producir los radicales  $\text{OH}^\bullet$  le dan versatilidad a los POA, pudiendo escogerse cuál utilizar dependiendo de los requerimientos específicos de cada caso.

Los POA tienen un grado de desarrollo y comercialización variado, en constante cambio a medida que se avanza científica y tecnológicamente en el tema. Las técnicas  $\text{O}_3/\text{OH}^\bullet$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ,  $\text{O}_3/\text{UV}$ ,  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ,  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$  y  $\text{UV}/\text{TiO}_2$  están total o parcialmente comercializadas (EPA, 1998; EPA, 2001; Domènech *et al.*, 2001)<sup>2</sup>.

---

<sup>2</sup> En la bibliografía consultada, no fueron encontradas referencias más actuales respecto a la comercialización de técnicas de los distintos POA.

Tabla 3-11: Procesos avanzados de oxidación

Tipo		Proceso	Agentes	
Procesos homogéneos	Sin aporte externo de energía	Ozonización en medio alcalino	$O_3/\text{OH}^\bullet$	
		Ozonización con peróxido de hidrógeno	$O_3/\text{H}_2\text{O}_2$ y $O_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{OH}^\bullet$	
		Peróxido de hidrógeno y catalizador	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$	
	Energía procedente de radiación ultravioleta (UV)	Ozonización y radiación ultravioleta	$O_3/\text{UV}$	
		Peróxido de hidrógeno y radiación ultravioleta	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$	
		Ozono, peróxido de hidrógeno y radiación ultravioleta	$O_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$	
		Foto-Fenton	$\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$	
	Energía procedente de ultrasonido (US)	Ozonización y ultrasonido	$O_3/\text{US}$	
		Peróxido de hidrógeno y ultrasonido	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{US}$	
	Electroquímica	Oxidación electroquímica		
		Oxidación anódica		
		Electro-Fenton		
Procesos heterogéneos		Ozonización catalítica	$O_3/\text{Cat}$	
		Ozonización fotocatalítica	$O_3/\text{TiO}_2/\text{UV}$	
		Fotocatálisis heterogénea	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{TiO}_2/\text{UV}$	

Fuente: Fernández-Alba *et al.* (2006).

La principal ventaja de los POA es la alta velocidad de oxidación de los contaminantes, su flexibilidad frente a las fluctuaciones de carga y las pequeñas dimensiones de los equipos cuando se comparan con los tratamientos biológicos de oxidación. Sus principales desventajas son los altos costos de tratamiento y las medidas de seguridad que deben tenerse en cuenta debido al uso de sustancias químicas altamente reactivas, como el ozono y el peróxido de hidrógeno (Goi, 2005, en Quesada, 2009).

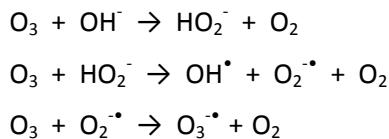
La ozonización es un proceso que presenta un gran potencial para el tratamiento de efluentes de la industria farmacéutica, debido a la capacidad del proceso de remover compuestos refractarios como los típicamente encontrados en estos efluentes. Sin embargo, la eficiencia de remoción de COT es baja.

El ozono puede actuar en la oxidación de contaminantes por mecanismo directo, cuando la molécula de ozono reacciona directamente, o por mecanismo indirecto, que involucra la producción de radicales  $\text{OH}^\bullet$  en medio alcalino o en combinación con peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) u otros catalizadores. A pH neutro, ambos mecanismos pueden estar actuando.

A continuación se presentan los procesos de oxidación por ozonización en medio alcalino y por la combinación  $O_3/\text{H}_2\text{O}_2$ , que han sido seleccionados para su aplicación en el caso de estudio presentado en el Capítulo 5.

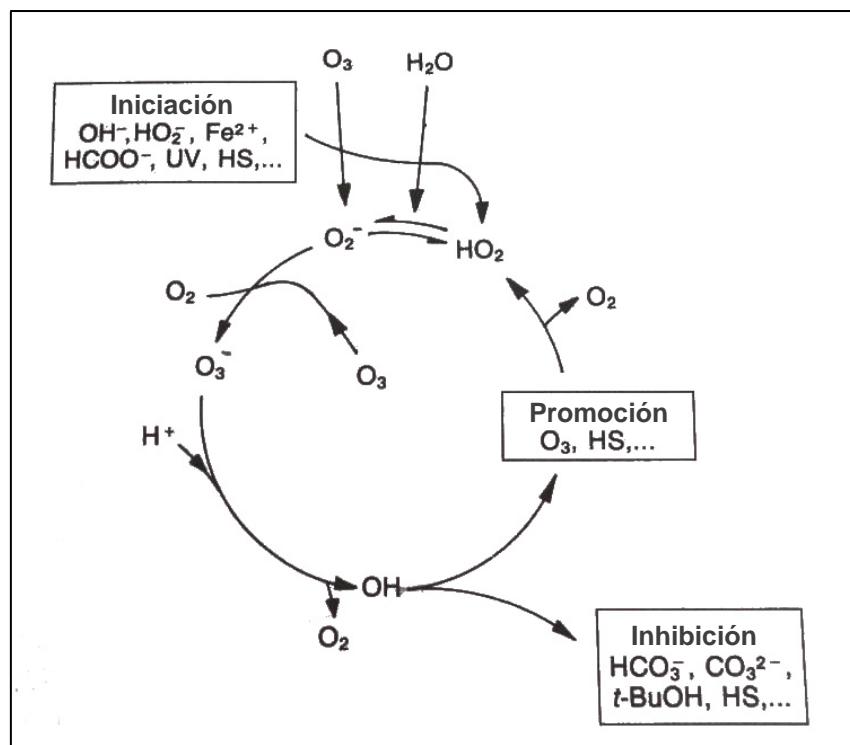
### 3.4.2 Ozonización en medio alcalino

El ozono en agua tiende a descomponerse en una secuencia de reacciones que generan radicales libres, entre los que se encuentra el radical OH<sup>•</sup>:



La Figura 3-2 muestra un esquema de las principales especies de la descomposición de ozono en agua pura iniciada por iones hidroxilo.

Figura 3-2: Esquema de los mecanismos de descomposición de ozono en agua. Fuente: Redibujado de AWWA (1991).



Una variedad de sustancias pueden iniciar la descomposición, incluyendo iones hidróxido ( $\text{HO}^-$ ), iones hidroperóxido ( $\text{HO}_2^-$ ), iones formiato ( $\text{HCOO}^-$ ), iones ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) y sustancias húmicas.

En agua pura, el radical  $\text{OH}^\bullet$  reacciona con el ozono y la cadena se propaga, y se pueden descomponer cientos de moléculas de ozono. El resultado es que el ozono tiene una vida media muy corta en agua a pH 7.

En presencia de contaminantes comunes del agua que inhiben el proceso, por ejemplo, carbonatos, bicarbonatos y los constituyentes orgánicos de las sustancias húmicas, el ciclo se puede romper por captura de los radicales  $\text{OH}^{\cdot}$ .

Si hay presencia de microcontaminantes orgánicos cuando el ozono se descompone, éstos también reaccionan con los radicales  $\text{OH}^\bullet$ , pero compitiendo con los otros captores presentes. Si la concentración de los microcontaminantes orgánicos se encuentra en el rango micromolar o inferior, se encontrarán en desventaja en comparación con la matriz de contaminantes tales como iones bicarbonato y sustancias húmicas presentes en concentraciones varios órdenes de magnitud mayores.

Además, puede haber contaminantes en el agua que actúen como promotores (AWWA, 1991).

El ozono puede reaccionar con los compuestos orgánicos en forma directa o a través de una reacción radicalaria favorecida en medio alcalino. La primera reacción es lenta y selectiva, y tiene importancia en medios ácidos y para solutos que reaccionan muy rápido con el  $O_3$ ; ejemplos de ello son los compuestos orgánicos no saturados con grupos cromofóricos, grupos amino, fenoles y compuestos alifáticos. La segunda reacción es rápida y no selectiva, ya que las especies formadas tienen una capacidad oxidante elevada.

La ozonización es sensiblemente más eficiente en medio alcalino ya que se beneficia de la elevada velocidad de reacción entre moléculas orgánicas y radicales  $OH^\bullet$ , típicamente, entre  $10^6$  y  $10^9$  veces mayor que la reacción directa con  $O_3$  según se presenta en la Tabla 3-12.

**Tabla 3-12: Constantes de velocidad del radical hidroxilo en comparación con el ozono para algunos compuestos orgánicos**

Compuesto	Velocidad ( $mol^{-1} \cdot s^{-1}$ )	
	$OH^\bullet$	$O_3$
Alquenos clorados	$10^9 - 10^{11}$	$10^1 - 10^3$
Fenoles	$10^9 - 10^{10}$	$10^3$
Aromáticos	$10^8 - 10^{10}$	$1 - 10^2$
Cetonas	$10^9 - 10^{10}$	1
Alcoholes	$10^8 - 10^9$	$10^{-2} - 1$
Alcanos	$10^6 - 10^9$	$10^{-2}$

Fuente: Domènech *et al.*, 2001.

En el proceso de ozonización en medio alcalino, los compuestos orgánicos reaccionarán por una combinación de ambas formas de acción, dependiendo principalmente de su naturaleza, de las características del agua o efluente a tratar, del pH y de la dosis de ozono, además de la concentración de compuestos inhibidores de la descomposición del ozono.

Elevar el pH no necesariamente aumenta la tasa de degradación de una sustancia vía radicales  $OH^\bullet$  debido al aumento del efecto de captura. A valores de pH superiores a 10,3, el ion carbonato es la especie prevalente, y la constante de reacción del radical  $OH^\bullet$  con el ion carbonato es 20 veces mayor que con el ion bicarbonato. Por otro lado, no es común que la ozonización se realice a pH mayor a 10,3, por lo que el rol del ion carbonato no es importante.

Se debe cuidar de no elevar excesivamente el pH. Una elevada alcalinidad del agua es un motivo para optar por técnicas menos sensibles a la neutralización de radicales.

### 3.4.3 Ozonización con peróxido de hidrógeno

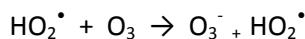
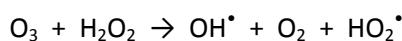
La investigación en lo referente a este tema muestra que la combinación de ozono con peróxido de hidrógeno ( $O_3/H_2O_2$ ), dos oxidantes fuertes, aumenta la eficiencia en remoción respecto a la oxidación sólo con ozono. Al igual que la ozonización en medio alcalino, la ozonización con  $H_2O_2$  se basa principalmente en la oxidación indirecta por vía radicalaria.

El  $H_2O_2$  es un ácido débil, un poderoso oxidante y un compuesto inestable que cuando es adicionado en agua se disocia parcialmente en ion hidroperóxido:



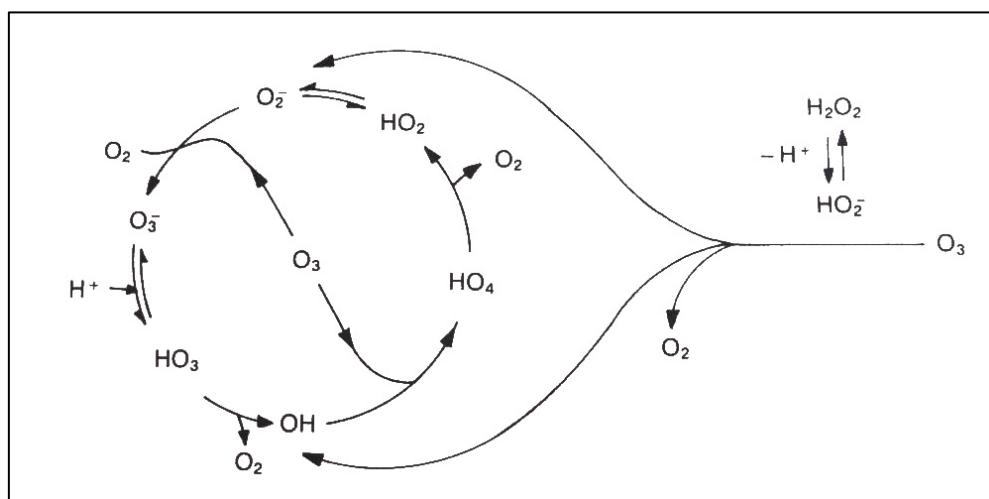
La molécula de  $\text{H}_2\text{O}_2$  reacciona muy lento con el  $\text{O}_3$ , mientras que el ion hidroperóxido es más reactivo. Como consecuencia, la tasa de descomposición de  $\text{O}_3$  se acelera en medio alcalino, lo que lleva a un aumento en la producción de radicales  $\text{OH}^\bullet$  (AWWA, 1991).

La adición de  $\text{H}_2\text{O}_2$  lleva al decaimiento del  $\text{O}_3$  por transferencia de electrones para formar radicales  $\text{OH}^\bullet$  que tienen mayor potencial oxidante, aumentando las tasas de oxidación:



En la Figura 3-3 se presenta un esquema de los mecanismos de la descomposición del ozono por los iones hidroperóxido formados por la adición de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Figura 3-3: Esquema de los mecanismos de descomposición de ozono por iones hidroperóxido. Fuente: Redibujado de AWWA (1991).



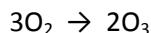
La oxidación no selectiva por los radicales OH<sup>•</sup> altamente reactivos aumentan las tasas de reacción de compuestos resistentes al ozono, lo cual reduce el tiempo de tratamiento necesario. Además, la adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aumenta la remoción de la absorbancia UV en 254 nm y la remoción de COD en efluentes (Hey *et al.*, 2014).

La relación molar  $O_3/H_2O_2$  óptima reportada en la literatura es de 2:1 a pH entre 7 y 8 (Domènech et al., 2001). Glaze et al. (1987) mostraron que la tasa de reacción de pseudo primer orden presenta una dependencia hiperbólica del peróxido con un máximo en una relación del orden de 1 mol de  $H_2O_2$  por mol de ozono. Esta es la función esperada si el  $H_2O_2$  actúa tanto como promotor como inhibidor; valores menores disminuyen la eficiencia en la degradación ya que el exceso en la aplicación del  $H_2O_2$  y altas concentraciones de radicales  $OH^\bullet$  originan reacciones competitivas cuando el  $H_2O_2$  que está en exceso captura los radicales  $OH^\bullet$ .

### 3.4.4 Generación y aplicación de ozono

El ozono es un gas incoloro a temperatura ambiente con un olor peculiar similar al del cloro, detectable a concentraciones muy bajas, en el rango de 0,02 a 0,05 ppmV. En altas concentraciones es un gas tóxico y corrosivo. Presenta baja solubilidad en agua, 570 mg/L a 20 °C; las concentraciones típicas usadas en tratamiento de agua con ozono son inferiores a 14 % en la fase gaseosa, por lo que las concentraciones típicas encontradas varían entre < 0,1 y 1 mg/L (EPA, 1999).

La molécula de  $O_3$  es considerablemente inestable en agua, y decae continuamente hasta que queda solamente oxígeno molecular ( $O_2$ ). Por lo tanto, el  $O_3$  se debe generar *in situ* y en el momento de ser consumido, a partir de oxígeno puro o de mezclas gaseosas que contengan oxígeno, como el aire:

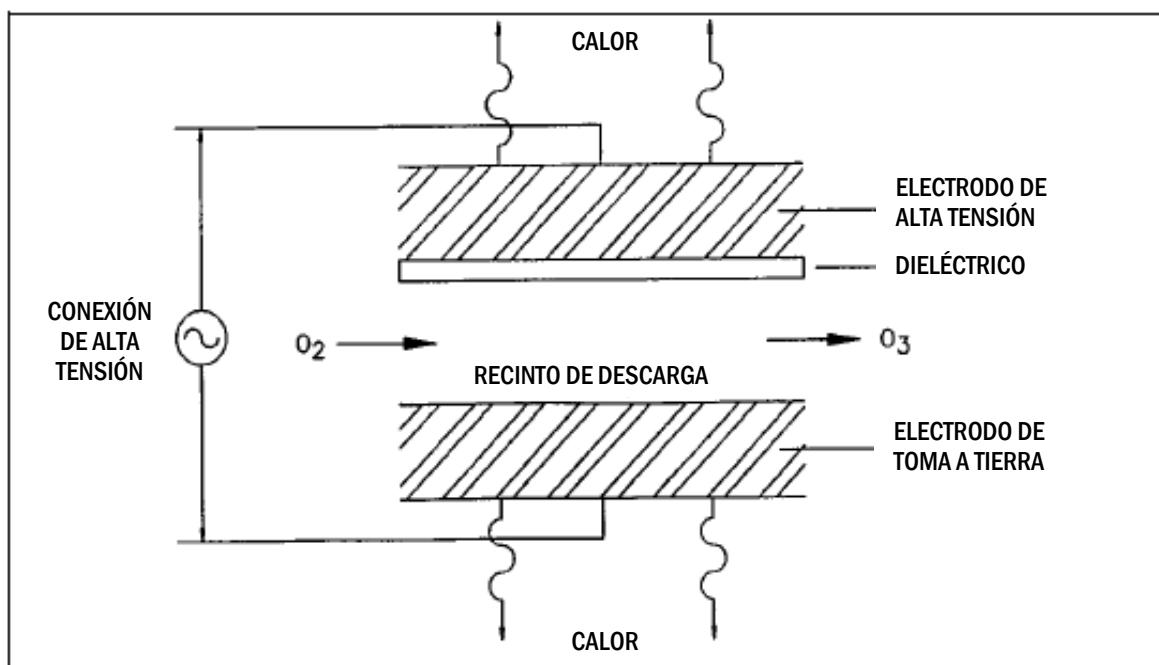


La reacción es exotérmica pero requiere de un aporte importante de energía (EPA, 1999).

El ozono se puede generar de diversas maneras, como los métodos de descarga eléctrica (también conocida como descarga de corona), electrólisis del ácido perclórico, reacción fotoquímica por exposición de  $O_2$  a luz UV u otras tecnologías emergentes. La descarga eléctrica en corriente de aire u oxígeno puro es la técnica más difundida por ser la única viable a gran escala, debido al hecho de que se obtiene una mayor tasa de conversión de  $O_2$  en  $O_3$ .

En este proceso, el  $O_3$  es generado por el pasaje de aire u oxígeno puro entre dos electrodos sometidos a una elevada diferencia de potencial (aproximadamente 10 kV), según se ilustra en el esquema de la Figura 3-4.

Figura 3-4: Generador básico de ozono. Fuente: Redibujado de EPA (1999)



El rendimiento de este proceso varía entre 1 y 4 % y entre 6 y 14 % para sistemas alimentados por aire y oxígeno puro respectivamente. La energía que se requiere para la síntesis de ozono a partir de aire oscila en 22-33 kWh/kg  $O_3$ , mientras que a partir de oxígeno se reduce a 12-18 kWh/kg  $O_3$  a lo que hay que sumarle el costo del oxígeno (Fernández-Alba *et al.*, 2006).

El sistema para la aplicación de ozono está integrado por cuatro componentes principales (EPA, 1999):

1. Sistema de alimentación de gas, que provee al generador de oxígeno seco y limpio a partir de oxígeno puro, aire o una mezcla de ambos.
2. Generador de ozono, que convierte el  $O_2$  en  $O_3$ .
3. Tanque de contacto, donde se da la transferencia de  $O_3$  al líquido a ser tratado y el tiempo de reacción adecuado. Existen tres formas principales de disolución: difusores de burbuja fina, inyectores Venturi y mezcladores de tipo turbina.

4. Sistema de destrucción de  $O_3$  en el off-gas, necesario debido a la toxicidad del  $O_3$  en las concentraciones de esa corriente (usualmente, superior a la concentración letal para el ser humano).

El proceso de ozonización involucra procesos de transferencia de la molécula gaseosa a la fase acuosa, existiendo entonces limitaciones de transferencia de masa. La eficiencia de transferencia de  $O_3$  puede ser de 85 a 95 % en los sistemas con difusores de burbuja fina y superior a 90 % en los mezcladores de tipo turbina.

### 3.4.5 Remoción de PAH mediante ozonización

La oxidación por ozonización (y la adsorción en carbón activado) parecen ser las soluciones técnicas preferidas, a pesar de que la ozonización sigue siendo vista con recelo debido al desconocimiento en la formación de subproductos (Koester *et al.*, 2012).

#### 3.4.5.1 Remoción de estrógenos

Varios grupos de investigadores han reportado la eficiencia de la ozonización en medio alcalino y de la combinación  $O_3/H_2O_2$  para la descomposición de  $17\beta$ -estradiol y  $17\alpha$ -estinilestradiol en diferentes matrices, tanto separados como juntos (Ikehata *et al.*, 2006; AWWA, 2007; Maniero, 2008). En la Tabla 3-13 se presentan los resultados de algunas investigaciones referentes a la remoción E2 y EE2 por ozonización.

Tabla 3-13: Remoción de estrógenos por ozonización

Estrógeno	Matriz	Proceso	Eficiencia	Dosis/Tiempo	Referencia
E2	Efluente	$O_3$	> 80 %	--	Nakada <i>et al.</i> , 2007, en Maniero (2008)
E2	Agua	$O_3$	> 99 %	1 mg/L	Bila, 2005, en Maniero (2008)
E2	Agua destilada	$O_3$	90 %	15 min	Liu <i>et al.</i> , 2005, en Maniero (2008)
E2	Agua	$O_3$	99 %	15 mg/L / 4 min	Kim <i>et al.</i> , 2004, en Maniero (2008)
E2	Agua de pozo	$O_3$	99 %	12 mg/L	De Oliveira (2011)
E2 EE2	Agua Mili-Q	$O_3$	95 %	$2 \times 10^{-3}$ mg.min/L	Desborde <i>et al.</i> , 2004, 2005, en Maniero (2008)
E2 EE2	Agua	$O_3$ $O_3/H_2O_2$	> 96 % > 96 %	1 mg/L $O_3:H_2O_2 = 2:1$	Maniero (2008)
EE2	Aguas naturales	$O_3$	> 97 %	0,2 a 0,5 mg/L	Huber <i>et al.</i> , 2003, en Maniero (2008)

Fuente: Adaptado de Maniero (2008).

Además de la remoción de los estrógenos, fue constatado el decaimiento de la actividad estrogénica luego de la ozonización, en algunos casos hasta niveles no detectables, y en otros fue observada actividad estrogénica remanente. El anillo fenólico es el componente estructural de los estrógenos responsable por su afinidad con el estrógeno receptor; la hidroxilación y apertura del anillo es lo que probablemente explica la disminución de la estrogenicidad de los compuestos producidos (Ikehata *et al.*, 2006).

Zhang *et al.* (2006) estudiaron la remoción de EE2 en solución acuosa por el proceso de ozonización a diferentes pH. Observaron que hay un aumento en la eficiencia de remoción con el aumento del valor de pH; luego de 20 min de ozonización, la eficiencia de remoción varió de 33,7 % a 95,4 % para valores de pH en el rango de 4,0 a 8,0. Por otra parte, cuanto mayor fue la concentración inicial de EE2, menor fue la eficiencia de remoción, y cuanto mayor fue la concentración de ozono, mayor fue la eficiencia de remoción. El grado de eficiencia en la mineralización de EE2 alcanzó el 53,9 % para una concentración de O<sub>3</sub> de 11,6 μmol/min luego de 20 min.

En estudios a escala de laboratorio realizados por la AWWA (2007) con muestras de agua superficial de tres orígenes diferentes, se aplicaron dosis variables de ozono y la combinación O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de forma tal de obtener una misma concentración de ozono residual de 0,2 a 0,3 mg/L luego de 3 min de tiempo de contacto, y de 0 luego de 10 min (en conformidad con las normas vigentes de la EPA). Como resultado, se obtuvieron remociones mayores a 99 % para E2 y EE2, tanto con ozono como con la combinación O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la relación 0,025 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/g O<sub>3</sub>; el tiempo de contacto en todos los casos fue de 5 min. El aumento en las dosis de ozono llevó a un aumento en el porcentaje de remoción de estos compuestos, mientras que el agregado de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> llevó a un aumento no tan significativo en el porcentaje de remoción comparado sólo con ozono.

Maniero (2008) estudió la remoción de E2 y EE2 de agua por el proceso de ozonización y por la combinación O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Constató un pequeño aumento en la remoción de los estrógenos con el aumento de la dosis de ozono, evidenciando la dificultad de remoción de esos contaminantes en concentraciones muy bajas, del orden de μg/L y ng/L. La adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la razón molar O<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 2:1 no resultó en una mayor remoción de los estrógenos y de la actividad estrogénica. En el mismo estudio, la estrogenicidad fue totalmente removida a pH 3, incluso con bajas dosis de ozono (1 mg/L), mientras que a pH 7 y 11 la actividad no fue completamente removida, incluso con altas dosis de ozono. La actividad estrogénica remanente a pH 7 y 11 se debe a los compuestos intermediarios formados por la oxidación vía radical OH<sup>•</sup>. El proceso con O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a pH 7 generó la formación de subproductos con mayor actividad estrogénica que el proceso de ozonización debido a la mayor formación y actuación de los radicales OH<sup>•</sup>. Por lo tanto, el ozono molecular es más efectivo que los radicales OH<sup>•</sup> en la remoción de la actividad estrogénica.

En el estudio de De Oliveira (2011), se obtuvo que para lograr una eficiencia de remoción de 99 % para E2 en muestras de agua de pozo, fueron necesarias dosis de ozono de 12 mg/L a pH próximo a la neutralidad, que son sensiblemente mayores a las usualmente aplicadas para la desinfección (1,1 mg/L), para concentraciones iniciales de 100 μg/L. También se observó que la disminución en la concentración inicial de E2, disminuye la velocidad de reacción.

### **3.4.5.2 Remoción de progestágenos**

La degradación de los progestágenos por ozonización y por procesos de remoción en general no ha sido muy estudiada aún, pero los resultados de las investigaciones realizadas hasta la fecha muestran que los procesos de ozonización son eficientes para removerlos.

En el citado estudio realizado por la AWWA (2007) con muestras de agua superficial de tres orígenes diferentes, se obtuvieron remociones de progesterona mayores a 98 %, mayores a 97 % y de 83 % para dosis de ozono de 2,5 mg/L, 3,5 mg/L y 3 mg/L respectivamente, las cuales aumentaron por encima de 99 %, 97 % y hasta 96 % con el agregado de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la relación 0,025 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/g O<sub>3</sub>; el tiempo de contacto en todos los casos fue de 5 min. Según se concluye en este estudio, la P4 se oxida de forma menos eficiente que los estrógenos debido al grupo funcional cetona, que disminuye la reactividad del ozono con los carbonos adyacentes. La oxidación de los estrógenos ocurre en el anillo fenólico, mientras que en los progestágenos el ozono ataca el doble enlace del grupo cetona.

Broséus *et al.* (2009) estudiaron la remoción de noretindrona y levonorgestrel en agua filtrada de dos PTA, mediante ozonización en medio alcalino (pH 8,10), obteniendo eficiencias de remoción superiores a 95 % y 88 % respectivamente para valores de CT de 1,03 mg.min/L.

Rockina *et al.* (2012) evaluaron la remoción de una mezcla de 7 estrógenos y 5 progestágenos en agua desionizada y en agua corriente mediante ozonización. La velocidad de degradación fue muy rápida para todos los PAH, con una vida media de 30 s para la solución en agua desionizada. Para remociones mayores o iguales a 99 % de todos los compuestos analizados en 1 min de reacción, el consumo de ozono fue de 5 mg/L en las dos matrices. Para los progestágenos progesterona y levonorgestrel, la remoción fue inferior a 50 % para una dosis de 1,5 mg/L de ozono. También se constató la desaparición de la actividad estrogénica determinada mediante el ensayo YES (Yeast Estrogen Screen).<sup>3</sup>

Hey *et al.* (2014) estudiaron la remoción de diferentes PAs de efluentes de PTDAR de origen doméstico, entre los que se encontraban el estrógeno 17 $\alpha$ -etinilestradiol y el progestágeno levonorgestrel, por el proceso de ozonización y por la combinación O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a diferentes valores de pH (6,0 y 8,0). Este es uno de los primeros estudios reportados en la bibliografía realizados con matrices de efluentes reales, donde además de analizarse las eficiencias de remoción específicas de los PAs estudiados, se analizó la influencia de dicha matriz.

Se observó que la concentración de ozono decrece rápidamente luego del primer minuto desde el agregado de ozono, por lo que la tasa de descomposición de ozono aumenta rápidamente hasta estabilizarse. Este rápido consumo de ozono se podría deber al consumo de oxidante por la matriz de componentes en el efluente. La variación entre una u otra muestra podría ser explicada por las diferencias en la absorbancia ultravioleta específica (SUVA) del efluente; cuanto mayor es la SUVA, mayor es el contenido de compuestos aromáticos que tienen una mayor reactividad con el ozono. Además, como era de esperar, las tasas de descomposición de ozono resultaron menores a pH 6,0 que a pH 8,0.

En el efluente con menor contenido orgánico (SUVA de 1,78 L/mg.m), la ozonización a pH 8,0 generó una mayor remoción de PAs. Para dosis de ozono de 1,5 mg/L, se obtuvieron eficiencias de remoción mayores a 90 % para el caso del EE2, pero menores a 50 % para el caso del LVG; a medida que se aumentaron las dosis de ozono aplicadas, aumentaron las eficiencias de remoción de LVG, alcanzando 100 % para dosis de 5,5 mg/L. En cambio, en el efluente con mayor contenido orgánico (SUVA de 2,76 L/mg.m), la remoción de PAs fue menor, incluso con el aumento de las dosis de ozono. Para dosis de ozono de hasta 10,7 mg/L, se obtuvieron eficiencias de remoción menores a 40 % para el caso del LVG. Esto advierte de la necesidad de conocer bien el efluente, ya que la cantidad de ozono requerida para una remoción eficiente depende, además de la composición química del efluente y del contaminante objetivo, del contenido de materia orgánica y del contenido de compuestos aromáticos (aromaticidad).

La adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no generó un efecto significativo en la remoción de PAs; para el caso del LVG, el agregado de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la relación H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> en el rango de 0,07-0,08 m/m, para una dosis de 10 mg/L de ozono, generó un aumento del orden del 7 % en la eficiencia de remoción, en tanto que el agregado de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la relación H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> en el rango de 0,13-0,17 m/m, para una dosis de 10 mg/L de ozono, generó un aumento del orden del 10 %.

---

<sup>3</sup> El ensayo YES es un ensayo *in vitro* basado en una secuencia de ADN del receptor estrogénico humano que fue insertada en el genoma de levaduras para proporcionar respuestas estrogénicas por medio de ensayos cromogénicos; responde al protocolo de Routledge y Sumpter (1996). Este ensayo evalúa la interacción con los receptores hormonales (De Oliveira, 2011).

### 3.4.5.3 Velocidades de reacción

En general, los microcontaminantes orgánicos exhiben un amplio rango de reactividad frente al ozono molecular, principalmente debido a la diferencia en su constante de velocidad de reacción de segundo orden con el ozono ( $k_{O_3}$ ). La mayoría de las constantes de velocidad de reacción de segundo orden con los radicales OH<sup>•</sup> ( $k_{OH^-}$ ) se encuentran próximo al límite de difusión controlada y en el orden de  $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ . Sin embargo, bajo las condiciones encontradas en los sistemas de tratamiento de agua ( $[\text{OH}^{\bullet}]/[\text{O}_3] \approx 10^{-8}$ ), la reacción vía ozono molecular es dominante y por lo tanto sólo aquellos compuestos con  $k_{O_3}$  mayores a  $50 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  aproximadamente serán transformados de forma apreciable (con una eficiencia mayor a 50 %) a través de reacciones directas con ozono (AWWA, 2007).

En la Tabla 3-14 se presentan las constantes de velocidad del radical hidroxilo en comparación con el ozono determinados para algunos PAH.

**Tabla 3-14: Constantes de velocidad del radical hidroxilo en comparación con el ozono para algunos principios activos hormonales**

Compuesto	$k_{O_3} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$k_{OH^-} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	T (°C)
<b>17<math>\beta</math>-estradiol</b>	$10^6$	$1,41 \times 10^{10}$	20
	$2,21 \times 10^5 \pm 3,69 \times 10^9$	--	$20 \pm 2$
<b>17<math>\alpha</math>-etinilestradiol</b>	$3 \times 10^6$	$9,8 (\pm 1,2) \times 10^9$	20
	$1,83 \times 10^5 \pm 3,65 \times 10^9$	$1,08 (\pm 0,23) \times 10^{10}$	$20 \pm 2$
<b>Levonorgestrel</b>	$1,427 \pm 62$	--	$20 \pm 1$
<b>Noretindrona</b>	$2,215 \pm 76$	--	$20 \pm 1$
<b>Progesterona</b>	$480 \pm 30$	--	$18 \pm 1$
	$601 \pm 9$	--	$20 \pm 1$

Fuente: Broséus *et al.* (2009).

Las velocidades de reacción de los estrógenos son significativamente mayores que las velocidades de los progestágenos, tanto para la reacción directa con O<sub>3</sub> como para la reacción indirecta vía radical OH<sup>•</sup>.

Los progestágenos que poseen grupos etinil, como la noretindrona y el levonorgestrel, presentan mayor reactividad con el ozono que, por ejemplo, la progesterona. A su vez, esos compuestos no presentan carácter ácido o básico, por lo que no se prevé que la velocidad de reacción dependa fuertemente del pH cuando la formación de radicales OH<sup>•</sup> es inhibida (Broséus *et al.*, 2009).

La adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aumenta la tasa de descomposición de ozono, o sea, aumenta la velocidad de reacción. En el estudio de Hey *et al.* (2014), la adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la relación H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> en el rango de 2 a 0,25 generó el consumo casi completo del ozono en el primer minuto. Además, la mayor tasa de descomposición se obtuvo a pH 8,0 (menor a 1 min). En la práctica, esto reduce el tiempo de contacto necesario, y consecuentemente, reduce el volumen del reactor.

### 3.4.6 Formación de subproductos

La degradación de principios activos por POA involucra diferentes etapas y varias reacciones que resultan en la formación de diferentes subproductos, que pueden presentar mayor o menor toxicidad que el compuesto original. Esos subproductos pueden mantener o no la actividad funcional del compuesto original, o incluso ser biológicamente más activos. Además, en los casos donde los POA se combinan con tratamientos biológicos, los subproductos formados pueden ser más biorresistentes y/o inducir efectos adversos en la actividad de la población de microorganismos

presentes. Por ello, no es suficiente constatar la remoción del compuesto original, siendo necesario evaluar la toxicidad y ecotoxicidad de los subproductos formados para la protección integral del medio ambiente. Otro aspecto importante es poder identificar la ruta de degradación (Santos *et al.*, 2009; Fatta-Kassinios *et al.*, 2011).

Para la identificación de los subproductos de degradación, así como para la identificación del compuesto original, algunos trabajos reportan el uso de las técnicas de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas con analizador de masa/carga TOF (LC-MS-TOF); esta última técnica permite determinar con gran exactitud la masa molar de los subproductos formados, facilitando su identificación (Santos *et al.*, 2009).

En el caso de los estrógenos  $1\beta$ -estradiol y  $17\alpha$ -etinilestradiol, el ozono reacciona principalmente con el anillo fenólico de su estructura molecular; la degradación inicia con la hidroxilación de anillos aromáticos muy reactivos, y continúa con la ruptura del anillo y posterior degradación. Los subproductos de la degradación por ozonización de estos compuestos son producidos por la ruptura del anillo fenólico como consecuencia del ataque de la molécula de ozono (Ikehata *et al.*, 2006).

En el estudio citado de Zhang *et al.* (2006), la degradación de EE2 por ozonización generó semiquinonas como primeros intermediarios de la oxidación, que fueron posteriormente degradados a compuestos de menor peso molecular tales como ácido oxálico, malonato, glutarato, etc. Además, estos ácidos orgánicos son fácilmente oxidados a  $\text{CO}_2$ .

En un estudio realizado por De Oliveira (2011), se observó la formación de cinco subproductos de degradación de E2 con ozono, dos de los cuales ya habían sido identificados por otros investigadores. La concentración de estos subproductos disminuye con el aumento de la dosis de ozono, pero no desaparece.

Sin embargo, no se han realizado progresos significativos en lo referente a la formación de subproductos de oxidación para otros PAH, y los pocos estudios realizados se desarrollaron a nivel de investigación científica, con compuestos específicos.

Las dificultades están, además de en la implementación de las técnicas de cuantificación, en que muchos de esos subproductos no son comercializados, dificultando la comprobación de su formación. Por otra parte, se da la formación de diferentes subproductos para diferentes valores de pH debido a los diferentes mecanismos de reacción entre los compuestos y los oxidantes actuantes,  $\text{O}_3$  o radicales  $\text{OH}^\bullet$  (Maniero, 2008). Ante estas dificultades, los ensayos de ecotoxicidad y los estudios basados en bioindicadores complementan los análisis químicos, ya que proveen una respuesta global de la muestra, identificando posibles efectos sinérgicos y biodisponibilidad de los compuestos.

Altmann *et al.* (2012) montaron una planta piloto de ozonización para tratar el efluente terciario de una PTDAR de origen doméstico con nitrificación/desnitrificación en Austria, con el objetivo de analizar la ecotoxicidad y la actividad estrogénica del efluente antes y luego de la ozonización. Se aplicaron dosis específicas en el rango de 0,6 a 1,1  $\text{gO}_3/\text{gCOD}$ , con tiempos de contacto del orden de 17 min y pH próximo al neutro (6,8 – 6,9). Para las dosis aplicadas se alcanzaron eficiencias superiores a 95 % (y superiores a 99 % para dosis específicas mayores a 1,0  $\text{gO}_3/\text{gCOD}$ ) en remoción de sustancias inmunorreactivas con el receptor estrógeno. Los resultados muestran que no hay efectos tóxicos agudos ni antes ni luego de la ozonización para los bioensayos considerados (con *Selenastrum capricornutum*, *Daphnia Magna* y huevos de pez de la especie *Danio renio*), ni tampoco efectos crónicos estrogénicos en peces de la especie *Oryzias latipes* luego de 21 días de exposición. El estudio concluye que la ozonización reduce las concentraciones de PAH en el efluente de forma eficiente sin incrementar su ecotoxicidad.

### 3.5 REGULACIÓN AMBIENTAL: ESTÁNDARES Y VALORES DE REFERENCIA

En cuanto a la regulación ambiental de la contaminación por PAH, la falta de información dificulta la toma de decisiones a nivel legislativo frente a la elaboración de leyes para la protección del medio ambiente y de la población expuesta.

Hasta la fecha, Europa no ha incluido ningún PAH en su lista de contaminantes prioritarios ni tampoco en su lista de contaminantes candidatos. Sin embargo, recientemente se incluyeron los estrógenos E2 y EE2 (junto con el principio activo diclofenac) en una primera lista de vigilancia de contaminantes de la Water Framework Directive de la Unión Europea. Dicha inclusión tiene por objetivo recopilar datos e información a fin de facilitar la determinación de las medidas adecuadas para hacer frente a los riesgos que esas sustancias presentan (European Parliament, 2013).

En lo que refiere a aguas de abastecimiento para consumo humano, las regulaciones se han diseñado históricamente para prevenir la contaminación por patógenos y por compuestos químicos de uso industrial, pero no por fármacos. En la última edición de las Guías para la calidad del agua potable de la OMS, publicada en el año 2011, no se han incluido este tipo de sustancias. La OMS (2011) considera que es poco probable que se incluyan valores guía para fármacos en las Guías para la calidad del agua potable y que se incorporen procesos de tratamiento específicos dado el bajo riesgo para la salud humana por exposición a los niveles actuales en agua potable. Sin embargo, en un informe reciente titulado *Estado de la ciencia de los disruptores endócrinos*, realizado junto con el UNEP, la OMS alerta sobre la necesidad de realizar más investigaciones para entender completamente la asociación entre disruptores endócrinos, sus impactos sobre la salud y el ambiente (OMS, 2013).

Por su parte, la EPA ha incluido 8 estrógenos y un progestágeno en la Tercera Lista de Contaminantes Candidatos para el agua potable (CCL3) del año 2009: 17 $\alpha$ -estradiol, 17 $\beta$ -estradiol, equilenin, equilin, estriol, estrona, 17 $\alpha$ -etinilestradiol, mestranol y el progestágeno noretindrona. La CCL es la principal fuente de contaminantes prioritarios a partir de la cual la EPA conduce sus investigaciones para decidir cuándo son necesarias regulaciones. Los contaminantes que están en la lista se encuentran o se prevé que se encuentren en los sistemas públicos de abastecimiento de agua, pero no están regulados por las normas de agua potable. La EPA revisa la CCL cada 5 años, y actualmente está en elaboración la Cuarta Lista de Contaminantes Candidatos (CCL4), que a la fecha de entrega de este documento no ha sido publicada (EPA, 2014). Recientemente, en una revisión de las normas sobre monitoreo de contaminantes no regulados para sistemas públicos de abastecimiento de agua, se incluyó el monitoreo de: 17 $\beta$ -estradiol, 17 $\alpha$ -etinilestradiol, estrona, equilin, estriol, testosterona y 4-androstene-3,17-dione, bajo la modalidad de *Screening Survey* (EPA, 2012). En lo que respecta a efluentes, los PAH no están incluidos en la lista de contaminantes prioritarios y no hay valores guía fijados por la EPA; tampoco están regulados en los vertidos de efluentes de la fabricación de productos farmacéuticos (Code of Federal Regulations, Title 40, Part 439).

Por su parte, la UBA (Alemania) ha establecido un concepto precautorio en el cual recomienda un “valor guía de salud” (esto es, la máxima concentración permitida) de 0,1  $\mu$ g/L para aquellas sustancias cuyo conocimiento sobre el máximo riesgo permisible toxicológico en humanos para agua de bebida es incompleto o insuficiente (Koester, 2012).

Los únicos valores de referencia para estas sustancias en efluentes se encuentran en las Guías sobre medio ambiente, salud y seguridad para la fabricación de productos farmacéuticos y biotecnología de la Corporación Financiera Internacional del Grupo del Banco Mundial, que establecen una concentración máxima de principio activo (cada uno) en el efluente de 50 ppb previo al vertido.

Estas guías son documentos de referencia técnica que contienen ejemplos generales y específicos de la práctica internacional recomendada para la industria en cuestión (abarcán la producción de ingredientes farmacéuticos y el procesamiento secundario, incluidas sustancias intermedias, la formulación, el mezclado y el envasado, así como las actividades relacionadas de investigación, incluidas la investigación y producción de biotecnología), y se aplican con arreglo a los requisitos de las políticas y normas propias del país miembro (IFC, 2007).

En cuanto al monitoreo de productos farmacéuticos, la tendencia actual es establecer prioridades de forma tal que pueda restringirse esta tarea a un número limitado de moléculas, pero es escasa la información en la literatura que indique cómo hacer esta selección.

La mayor parte de los investigadores priorizan las moléculas según su tonelaje de producción, pero también se incluyen algunas moléculas que, aunque están en fármacos que se venden en pequeñas cantidades, tienen una alta toxicidad y actividad biológica, como es el caso de los PAH.

Según lo ya explicitado, no resulta práctico identificar, cuantificar e interpretar la presencia de todas las sustancias que puedan estar presentes; la valoración requiere un nivel de profundización que no permiten los parámetros físico-químicos convencionales regulados por las normas actuales. Desde hace algunos años se están utilizando ciertos sistemas biológicos basados en ensayos de ecotoxicidad, que expresan, con la ayuda de determinados organismos, los efectos potenciales de las muestras que se ensayan.

Países como EUA han sido pioneros en la investigación y posterior aplicación de un sistema de control y autorización de vertidos en los que se incorporan criterios físico-químicos y biológicos (WET o *Whole Effluent Toxicity*). Mediante la aplicación de diferentes ensayos con organismos acuáticos vivos (plantas, vertebrados e invertebrados), definidos en el Code of Federal Regulations, Title 40, Part 136, del año 2002, se evalúa la toxicidad global del efluente desde el punto de vista de su supervivencia, crecimiento y reproducción.

Por otra parte, se ha mostrado que aunque no se detecte toxicidad aguda en los efluentes debido a la presencia de PAH, sí se podrían detectar efectos estrogénicos (Carballo *et. al.*, 2002). Para la valoración de ese potencial estrogénico se han ido desarrollando y posteriormente aplicando ensayos “*in vitro*”, a modo de detectores biológicos de actividad estrogénica. De todas formas, estas técnicas se están utilizando a nivel de investigación e indagación científica, y no como técnicas para control de vertidos.

### **3.6 ANÁLISIS CRÍTICO E INCERTIDUMBRES**

A pesar de que se han desarrollado diversos estudios e investigaciones sobre la ocurrencia y los efectos en el medio ambiente de los PAH utilizados en la fabricación de ACO y las posibles tecnologías para su eliminación, todavía quedan muchas cuestiones por resolver y se requiere más investigación.

La producción y el consumo de ACO son elevadas, sobre todo en los países de Europa y América, y la entrada de estos compuestos en el medio ambiente es un hecho.

Algunos PAH se han cuantificado en aguas residuales de origen doméstico, incluso después del pasaje por las PTDAR, lo que indica que estos compuestos no son completamente removidos por los tratamientos convencionales. En este sentido, es claro que esta es la principal fuente de contaminación por PAH utilizados en la fabricación de ACO, y que el ambiente afectado directamente es el acuático.

Sin embargo, todavía no está cuantificada la influencia de los vertidos de aguas residuales de la industria farmacéutica de producción de ACO. El volumen es menor en comparación con las aguas

residuales de origen doméstico, pero los escasos datos disponibles indican que las cargas de PAH en las aguas residuales son muy elevadas, y si no hay un tratamiento eficiente el efecto en el ambiente puede ser más significativo.

Tampoco está claro cómo se debe valorar la presencia de PAH en el medio ambiente acuático y cómo se deben evaluar sus efectos. Por un lado, no existe un bioensayo y una técnica analítica universalmente aceptada para la cuantificación de los PAH. Los análisis químicos son muy complejos y requieren equipos específicos (y costosos), dado que los límites de detección se deben reducir al mínimo posible (por debajo de 1 ng/L); además de que cada metodología se debe desarrollar para cada sustancia objetivo. Los ensayos *in vitro* o *in vivo* también son muy complejos y llevan mucho tiempo. Por otro lado, queda la incertidumbre de cuáles son los efectos de la presencia de dos o más PAH actuando de forma simultánea sobre el mismo microorganismo, y cuál es la naturaleza de los mismos, es decir, si los efectos resultan ser aditivos, sinérgicos o antagónicos. Las diferencias entre las matrices utilizadas en los ensayos, y entre las matrices de los ensayos y las matrices ambientales dificulta la comparación de resultados.

En este contexto todavía no hay consenso sobre cuáles son las concentraciones relevantes y la forma en que se deben determinar los estándares o valores guía de vertido y de calidad de aguas. La diversidad de compuestos y las dificultades en su determinación analítica hacen que establecer límites para cada PAH no sea una alternativa aplicable en la práctica. La tendencia es establecer el uso de bioensayos para evaluar los efectos ecotóxicos, endócrinos y genotóxicos de las muestras.

Para atender la necesidad de controlar el ingreso de estos compuestos al medio ambiente, se está evaluando la eliminación de PAH de aguas residuales por algunas tecnologías de tratamiento, principalmente las eficiencias de remoción en PTDAR de origen doméstico en diversos países del mundo, así como el estudio de tecnologías avanzadas para obtener mayores eficiencias de remoción. Los POA se presentan como tecnologías promisorias para eliminar tales contaminantes, pero los resultados obtenidos hasta el momento no son concluyentes.

Las investigaciones realizadas hasta la fecha coinciden en que el proceso de ozonización, ya sea por vía directa o por vía indirecta, degrada eficientemente el compuesto original. Pero pocos PAH han sido evaluados, y la mayoría de los ensayos publicados se realizaron en proceso batch con soluciones de uno o dos compuestos en agua. Son pocas las aplicaciones en escala real o en escala piloto con matrices más complejas, por lo que los datos deben ser tomados con cautela.

Además de las dificultades de la ampliación de escala, está el hecho, no menos importante, del desconocimiento de la naturaleza de los subproductos de oxidación. Estos subproductos pueden presentar mayor actividad que el compuesto original, por lo que el proceso debe garantizar la eliminación completa de su actividad. Como mínimo, las investigaciones deben evaluar, además de la eliminación del compuesto original, el decaimiento de la actividad estrogénica o androgénica según sea el caso, para garantizar la eficacia real del proceso, a pesar de que los subproductos formados no sean determinados de forma analítica.

Para finalizar, queda pendiente la cuestión sobre la movilidad de estos contaminantes en el ambiente. La atención hasta la fecha está dirigida al medio acuático, y la presencia de estos contaminantes en otros compartimentos ambientales no ha sido explorada.

**CAPÍTULO 4**

**EVALUACIÓN PRIMARIA**

**PARA URUGUAY**

## 4. EVALUACIÓN PRIMARIA PARA URUGUAY

### 4.1 ANTECEDENTES

En Uruguay no hay antecedentes publicados acerca de la determinación de la presencia de PAH en aguas residuales de origen doméstico, ni tampoco en aguas superficiales, aguas subterráneas u otros compartimentos ambientales. Tampoco se conocen antecedentes de la determinación de la presencia de PAH en aguas residuales de origen industrial, a menos del que se desarrolla en el Capítulo 5 como caso de estudio.

El único antecedente publicado refiere a la determinación de actividad estrogénica en dos muestras de efluentes, realizado en el marco de optimización del ensayo YES con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* recombinante, llevado a cabo en el Departamento de Aguas y Productos Químicos del LATU. Las muestras ensayadas fueron provenientes del arroyo Fray Bentos, en la zona de mezcla del vertido de las aguas residuales de origen doméstico de la ciudad, y un efluente industrial de producción de pulpa de celulosa con tratamiento secundario (pasibles de contener sustancias estrogénicas). Para ambos casos, la actividad estrogénica fue no detectable, siendo el límite de detección del método de 55 ng/L, y de 55 pg/L para las muestras ensayadas (que previamente fueron concentradas 1.000 veces) (Keel *et al.*, 2010). El trabajo citado fue desarrollado como parte de la tesis de Keel (2012), que tuvo por objetivo evaluar los efectos de los disruptores endócrinos en peces de la especie *Pimephales promelas* expuestos a las dos muestras citadas anteriormente. Los efectos estudiados fueron aquellos similares al estradiol en cuanto a la puesta de huevos y a la expresión de ARN mensajero (ARNm) de 4 genes. La muestra proveniente del arroyo Fray Bentos no presentó un perfil claro sobre los efectos disruptores provocados; se observaron efectos similares a los causados por compuestos estrogénicos, como aumento en la puesta de huevos y disminución en hembras de la expresión de ARNm en dos genes (Proteína de la Zona Radiata 3 y Receptor de Estrógenos Tipo 1), y efectos opuestos, como disminución de la proteína vitelogenina en hembras y el incremento del Factor de Crecimiento Tipo 1 en machos. Se concluye que posiblemente estos efectos sean causa de la mezcla compleja de compuestos presentes en la muestra. Cabe señalar que el ensayo YES no se realiza de rutina, y no se realizaron otras determinaciones más que las citadas anteriormente.

En cuanto a la fijación de estándares o valores de referencia a nivel nacional, los PAH no están contemplados en ninguna normativa. El Decreto 253/979 y Modificativos, que reglamenta las normas para prevenir la contaminación ambiental mediante el control de las aguas, no incluye ningún PAH en los estándares de calidad de aguas superficiales, ni en los estándares de calidad de vertido de efluentes; tampoco están incorporados en la Propuesta de Modificación del Decreto 253/979 y modificativos, en su versión consolidada al 19 de diciembre de 2007, elaborada por GESTA Agua en el marco de la COTAMA<sup>4</sup>. En cuanto a la calidad de aguas de abastecimiento y agua potable, la Norma Interna de Calidad de Agua Potable de OSE, aprobada por R/D Nº 1.628/012, no contempla este tipo de contaminantes, ni tampoco el Reglamento Bromatológico Nacional (Decreto 315/994 y Modificativos) al que la citada Norma hace referencia.

Si bien los PAH como compuestos específicos no están siendo considerados en los estándares nacionales, sí se está comenzando a incluir la evaluación de la ecotoxicidad como parámetro de control para vertidos de efluentes. La Propuesta de Modificación del Decreto 253/979 y

---

<sup>4</sup> Dicha propuesta incluye PAHs, que hace referencia a *Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos*; no se debe confundir con Principios Activos Hormonales.

modificativos, en su versión consolidada al 19 de diciembre de 2007, incorpora la evaluación de la ecotoxicidad para el vertido de efluentes. Establece que para la determinación de la toxicidad crónica y aguda se emplearán al menos dos bioensayos de toxicidad con diferentes organismos de la cadena trófica. Fija estándares de toxicidad aguda para vertido de efluentes, ya sea vertido directo a cuerpo de agua, a red de saneamiento, planta de tratamiento centralizada, o al terreno ( $LC_{50}$  o  $IC_{50} > 75\%$ ), y estándares de toxicidad crónica en el borde de la zona de mezcla para el caso de vertido directo a curso de agua ( $IC_{25} > 100\%$ ). Actualmente esta Propuesta no está reglamentada, pero la Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) ya está aplicando estos criterios o variantes de los mismos para casos específicos, en particular, para vertidos de efluentes de la industria farmacéutica.

Otro aspecto es la falta de equipamiento y de desarrollo de las técnicas analíticas necesarias para la determinación de PAH en muestras de agua y de efluentes, con límites de detección lo suficientemente bajos (en el orden de 1 ng/L) como para detectar estos compuestos en las concentraciones que suelen encontrarse en aguas residuales de origen doméstico y en cuerpos de agua. La única institución que brinda el servicio para análisis de PAH es el Instituto Polo Tecnológico de Pando, una Unidad Académica de la Facultad de Química de la Universidad de la República. Actualmente, las técnicas analíticas para la determinación de PAH en el Polo Tecnológico de Pando son ELISA (Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas) y GC-MS (cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas); los límites de detección son en ppb para muestras en efluentes (en el orden de  $\mu\text{g/L}$ ) y en ppt para muestras en agua (en el orden de ng/L). En algunos meses se incorporará el equipamiento que permitirá realizar la determinación por la técnica LC-MS (cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas), ampliando el espectro de los límites de detección de PAH.

En este contexto, donde los antecedentes son muy escasos y hay dificultades a nivel nacional para la determinación analítica de PAH, interesa tener una primera aproximación a las posibles concentraciones de estos compuestos en aguas residuales y en cuerpos de agua, a partir de los datos de consumo de ACO en Uruguay.

## 4.2 CONSUMO DE ANTICONCEPTIVOS ORALES EN URUGUAY

### 4.2.1 Uso de ACO en Uruguay

Tanto la producción de ACO así como el consumo de estos compuestos generalmente no se publica en la literatura, y hay pocos datos disponibles para consulta.

Comenzando por un análisis a escala global, se tiene que las tasas de uso de ACO en Europa y en América son muy elevadas: hasta 58 % en algunos países europeos, 45 % en países de América Latina y 33 % en Estados Unidos; en cambio, las tasas de uso de ACO en Asia son muy bajas: menores a 6 % en China y en India (Liu Z. *et al.*, 2011; Santoyo *et al.*, 2007), y menores a 4 % en Japón (Fernandes, 2007). La tendencia global es el mantenimiento del número de usuarias de ACO, con la expectativa de la ampliación del mercado en países asiáticos como Japón, donde el uso de este método anticonceptivo fue permitido hace pocos años (Fernandes, 2007).

Según el estudio del Centro Latinoamericano Salud y Mujer (CELSAM) publicado en el 2007, que fue realizado en base a encuestas a mujeres en edad reproductiva (entre 15 y 45 años) de 14 países de América Latina, el método anticonceptivo usado con más frecuencia en América Latina son los ACO, con el 44,8 % (Santoyo *et al.*, 2007). En Brasil, país vecino, los ACO pasaron a dominar el mercado nacional de ventas a partir de 2002; en la lista de los 40 productos farmacéuticos más vendidos en el país, seis son ACO, y la tasa de crecimiento anual es de 10 % (Fernandes, 2007).

En Uruguay se cuenta con cierta información del uso de ACO, generada por distintas instituciones del país tanto gubernamentales como no gubernamentales, entre las que se encuentran el Ministerio de Salud Pública (MSP), el Instituto Nacional de Estadística (INE), la Universidad de la República (UdelaR), Mujer y Salud en Uruguay (MYSU) y el Observatorio Nacional en Género y Salud Sexual y Reproductiva, en colaboración con instituciones internacionales como el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), el Fondo de Población de las Naciones Unidas (UNFPA), y la Oficina Panamericana de la Salud (OPS/OMS), entre otros.

Según la encuesta realizada en el marco del Proyecto Género y Generaciones (Benia *et al.*, 2005) llevado a cabo por el MSP, el INE, la IM, la UdelaR, MYSU, el PNUD y el UNFPA, el uso de métodos anticonceptivos en las relaciones sexuales de la población uruguaya mostró una frecuencia de 65 % en varones y 62 % en mujeres. Con relación a los ACO, el mismo estudio mostró que el 96 % de las mujeres tiene conocimiento de este método, el 92 % manifestó saber dónde conseguirlo y el 63 % ha usado (los antecedentes de uso ascienden al 75 % en 1986). Dentro de los métodos más utilizados por la población en pareja, los ACO ocupan el segundo lugar (luego del preservativo) con el 30,5 %. Esta encuesta fue realizada a nivel nacional, a hombres y mujeres entre 15 y 59 años en localidades de 5.000 y más habitantes, en el periodo comprendido entre octubre y diciembre de 2004.

Desde la realización del estudio en el marco del Proyecto género y generaciones hasta la fecha, ha cambiado la normativa nacional en cuanto a la accesibilidad a este método de anticoncepción. El Decreto 009/011 del 14 de enero de 2011, que reglamenta a la Ley Nº 18.426 del 10 de diciembre de 2008 de Defensa del Derecho a la Salud Sexual y Reproductiva, incorpora los servicios de salud sexual y reproductiva como prestaciones obligatorias para las instituciones públicas y privadas que lo integran, y declara, entre otros puntos, que los prestadores integrales públicos o privados del Sistema Nacional Integrado de Salud (SNIS) deben brindar a su población usuaria determinados métodos anticonceptivos de forma gratuita. Establece que como mínimo se deberán brindar los siguientes ACO:

- ACO combinado monofásico.
- ACO combinado trifásico.
- ACO para uso durante la lactancia.
- ACO de emergencia.

Datos más recientes tomados del estudio cuantitativo representativo a nivel nacional sobre “Demandas y necesidades en salud sexual y reproductiva en mujeres uruguayas” del Observatorio Nacional en Género y Salud Sexual y Reproductiva (MYSU, 2012), realizado luego de la entrada en vigencia del Decreto 009/011, muestran que el 87 % de las mujeres con vida sexual activa declararon haber usado algún método anticonceptivo en su última relación sexual. Los ACO se encuentran en el segundo lugar (luego del preservativo), con el 30,3, 32,6 y 33,8 % para el tercio inferior, medio y superior del nivel socioeconómico respectivamente. Esta investigación está basado en una encuesta de hogares que realizó la Consultora Factum en noviembre y diciembre de 2011, donde fueron encuestadas un total de 1.128 mujeres en edad reproductiva (de 15 a 49 años de edad) de localidades urbanas de 5.000 y más habitantes, a las que se sumó una muestra adicional de 203 adolescentes de entre 15 y 18 años.

#### **4.2.2 Consumo de ACO y PAH en Uruguay**

A los efectos de obtener una mejor aproximación al consumo de ACO en Uruguay, y al consumo de los distintos PAH asociados, se recabaron datos de las ventas de ACO a nivel nacional.

Actualmente, la distribución de ACO en Uruguay se realiza a través de dos vías:

- Vía institucional. La distribución se realiza a través de los prestadores públicos de salud, que comprenden: la Administración de los Servicios de Salud del Estado (ASSE), el Banco de Previsión Social (BPS), el Hospital Policial, el Hospital Militar, la Facultad de Medicina (a través del Hospital de Clínicas) y la Intendencia de Montevideo.
- Vía comercial. La distribución se realiza a través de los prestadores privados de salud (las mutualistas y los centros privados de salud) y de los puntos de venta como farmacias, etc.

Por lo tanto, los datos correspondientes a los prestadores públicos de salud corresponden al Ministerio de Salud Pública (MSP), en función de las necesidades reportadas por cada una de las instituciones. Los datos correspondientes a los prestadores privados de salud y a las farmacias fueron tomados de la auditoría del mercado de medicamentos que realiza el Instituto IMS Health en Uruguay, donde se registran todas las ventas de ACO. El único dato al que no se tuvo acceso y no pudo ser relevado, y quedó excluido del presente estudio, es la distribución de ACO combinado trifásico a cargo de los prestadores públicos de salud.

Dada la variabilidad en las presentaciones y formas comerciales de los distintos ACO, a los efectos de este análisis se organizó la información en función de las distintas composiciones según los PAH, y no en función de los nombres comerciales o del laboratorio que los fabrica. Se tomaron los datos correspondientes al año 2012, por ser más representativo de la realidad nacional al contemplar la entrada en vigencia del Decreto 009/011.

En la Tabla 4-1 se presenta el consumo anual de ACO a nivel nacional, para el año 2012, estimado en base a los datos de distribución de ACO. Los datos se presentan por tipo y en orden decreciente.

**Tabla 4-1: Consumo de ACO en Uruguay – Año 2012**

ACO	Composición	Nº de Ciclos
Combinados <sup>1</sup>	Drospirenona + Etinilestradiol	1.033.420
	Levonorgestrel + Etinilestradiol	936.407
	Gestodeno + Etinilestradiol	273.977
	Acetato de ciproterona + Etinilestradiol	61.730
	Dienogest + Etinilestradiol	45.433
	Norgestimato + Etinilestradiol	29.261
	Desogestrel + Etinilestradiol	10.607
Lactancia	Linestrenol	92.394
Poscoitales	Levonorgestrel	371.210
Otros	Otras formas	31.278
<b>TOTAL CICLOS<sup>2</sup></b>		<b>2.483.229</b>

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos de distribución de ACO para el año 2012.

<sup>1</sup> No incluye la distribución de ACO combinado trifásico a cargo de los prestadores públicos de salud.

<sup>2</sup> No incluye poscoitales ni otras formas de ACO.

En función de los datos, se tiene que la venta anual de ACO combinados y de lactancia en Uruguay es del orden de 2,5 millones de ciclos (se excluyen poscoitales y otras formas). Considerando un consumo estable por parte de las usuarias, y que se administran 13 ciclos por año (de 28 días), el consumo anual de ACO equivaldría a aproximadamente 191.000 usuarias del método. Esto representa el **23,7 % de las mujeres en edad reproductiva** (de 15 a 49 años de edad) del Uruguay, considerando los datos de población del censo 2011 que reportan 806.005 mujeres en esa categoría (INE, 2011).

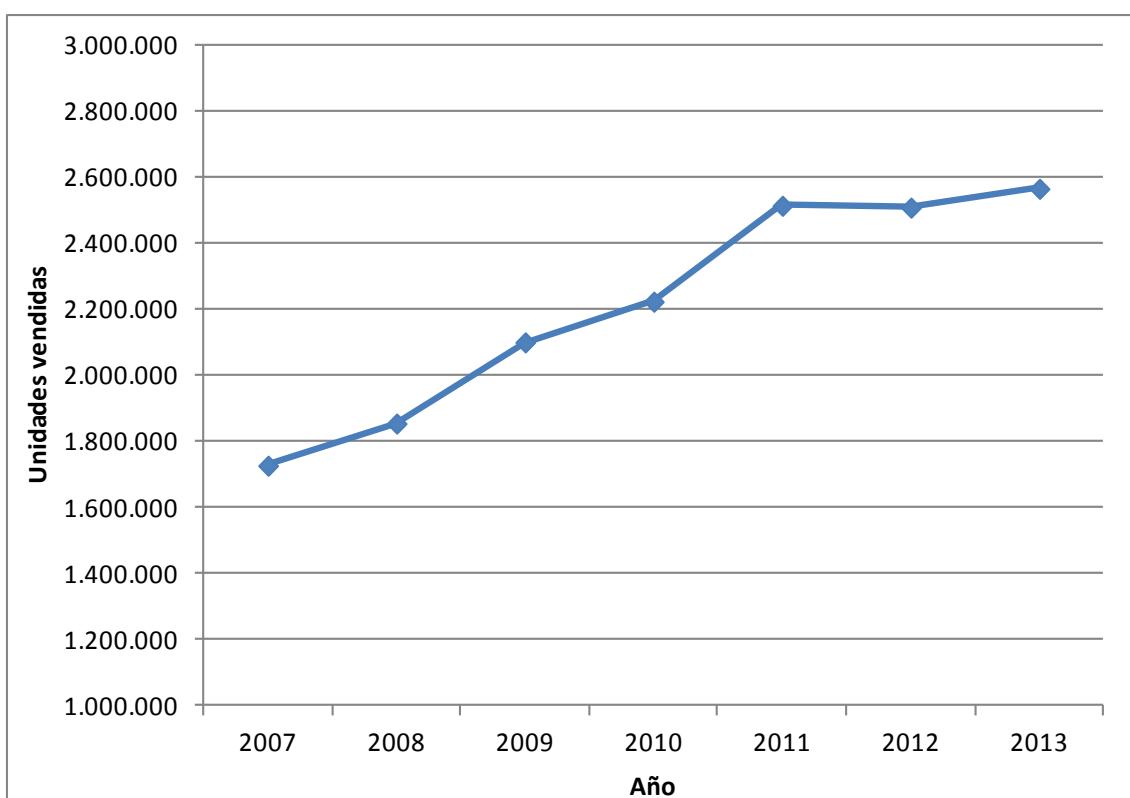
Si bien la tasa de uso de ACO estimada en base a los datos de ventas de ACO del año 2012 no se puede comparar con la tasa de uso de ACO resultante de la encuesta del Observatorio Nacional en Género y Salud Sexual y Reproductiva del año 2011 citada anteriormente, dado que los porcentajes están expresados respecto a poblaciones distintas -la tasa de uso de ACO a partir de las ventas anuales se refieren a toda la población de mujeres en edad reproductiva, mientras que las tasas de uso de ACO del Observatorio se refieren a la población de mujeres en edad reproductiva con vida sexual activa-, la primera (23,7 %) es menor que la segunda (de 30,3 a 33,8 %).

Para analizar la tendencia de crecimiento en las tasas de uso de ACO en Uruguay, se cuenta con los datos de ventas de ACO vía comercial (en mutualistas, centros privados de salud, farmacias, etc.) desde el año 2007 hasta el año 2013 inclusive (quedan excluidos los ACO suministrados por los prestadores públicos de salud). En la Figura 4-1 se presenta la evolución de las ventas totales de ACO para el periodo 2007-2013 y en la Figura 4-2 se presenta la evolución de las ventas de ACO según los PAH de las formulaciones para el mismo periodo.

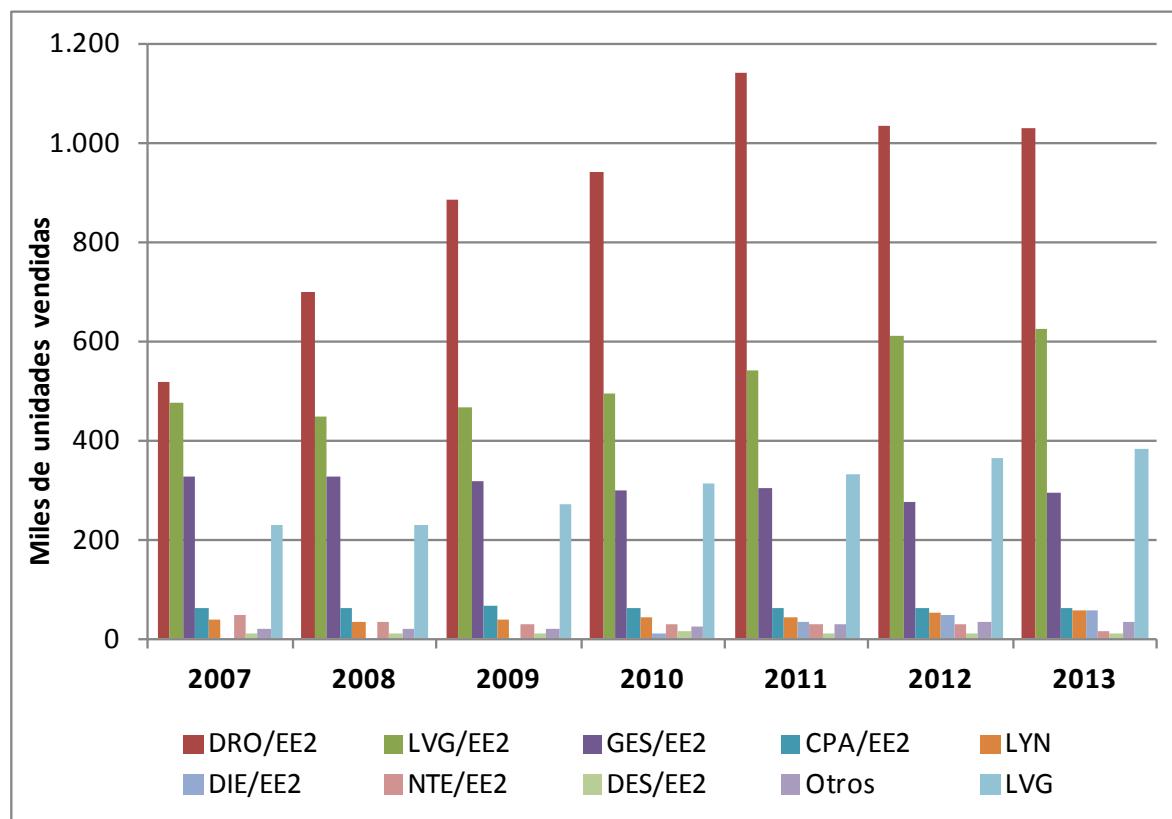
Se observa que hay una tendencia creciente al uso de ACO en Uruguay, que se mantiene para casi todas las composiciones. Para el periodo comprendido entre los años 2007 a 2011, la tasa de crecimiento anual de uso de ACO distribuido vía comercial fue de 10 % en promedio. Luego del año 2011, cuando entró en vigencia el Decreto 009/011 y los prestadores públicos o privados del SNIS comenzaron a brindar determinados ACO de forma gratuita, la tasa de crecimiento anual de uso de ACO distribuido vía comercial disminuyó a un 2 % en promedio.

Analizando cada PAH en particular, se observa que las ventas de las formulaciones que contienen drospirenona han presentado un crecimiento más marcado respecto a otros ACO como el levonorgestrel por ejemplo, en tanto las ventas de ACO que contienen PAH como gestodeno y norgestimato tienen a disminuir. Eso refleja la incorporación de los ACO de cuarta generación en el mercado nacional, que van sustituyendo las formulaciones anteriores.

**Figura 4-1: Venta total de ACO vía comercial (de 2007 a 2013).** Fuente: Elaboración propia a partir de datos de distribución de ACO vía comercial para el periodo 2007 - 2013.



**Figura 4-2: Venta de ACO vía comercial según PAH (de 2007 a 2013). Fuente: Elaboración propia a partir de datos de distribución de ACO vía comercial para el periodo 2007 - 2013.**



### 4.3 INDUSTRIA FARMACÉUTICA EN URUGUAY

La información referente a la industria farmacéutica en Uruguay, en especial la de producción de ACO, fue tomada de la presentación realizada por DINAMA en diciembre de 2008, que fue relevada en el marco del Proyecto de mejora del desempeño ambiental del sector farmacéutico asociado a productos de uso humano y animal, donde se analizaron 73 empresas del sector farmacéutico de un total de 140 instaladas en el país (Aguinaga, 2008). Si bien la información no es completa, el tamaño de la muestra permitiría realizar las proyecciones correspondientes para las emisiones del sector.

De las empresas analizadas, el 47 % son plantas industriales, el resto son empresas que importan y/o tercerizan, o depósitos. Hay 28 empresas que manejan PAH en forma genérica, 4 que fabrican productos con PAH de uso humano y 4 que fabrican productos con PAH de uso animal. Los productos con PAH en su formulación representan el 30 % de las unidades totales comercializadas.

En cuanto al manejo de las emisiones, la información no está discriminada por tipo de producción, por lo cual se presentará la información de forma genérica respecto a las 73 empresas analizadas:

- Sólo 5 de las 73 empresas posee Sistema de Gestión Ambiental.
- En cuanto a la generación de efluentes, sólo 12 empresas informaron los caudales generados, de las cuales 5 no superan los 5 m<sup>3</sup>/día.
- Sólo 3 empresas tienen un sistema de tratamiento de efluentes previo al vertido.

En este contexto, DINAMA está trabajando en la adecuación y mejora del desempeño ambiental de la industria farmacéutica en Uruguay, con el desarrollo de Guías de Buenas Prácticas Ambientales, Directrices para el tratamiento de residuos, Formularios de autocontrol y la definición de

parámetros de monitoreo. Los borradores de las Guías no han sido publicados, y están en actualización desde el año 2010.

En lo que respecta al manejo de efluentes, DINAMA está solicitando iniciar los trámites de Solicitud de Autorización de Desagüe Industrial (SADI) en caso de corresponder, y avanzar en la caracterización de los efluentes industriales, incluyendo la evaluación de la ecotoxicidad a través de bioensayos y la determinación de las concentraciones de PAs prioritarios. Dentro de los PAs prioritarios se incluye el grupo de los PAH, además de antibióticos y citostáticos.

Según información consultada en P. R.® VADEMECUM (2014), del total de empresas que fabrican productos con PAH de uso humano, sólo dos producen ACO en Uruguay (una de ellas sólo produce un ACO de lactancia). El resto de los ACO que se venden en el mercado nacional son importados.

En este contexto, las plantas industriales de producción de formulaciones con PAH en Uruguay, y en particular, de producción de ACO, son relativamente muy pocas y están identificadas, y por lo tanto, mediante un control adecuado de sus efluentes y otras emisiones se puede limitar el ingreso de PAH al ambiente desde esta fuente.

#### **4.4 CÁLCULO DE PEC: CONCENTRACIONES AMBIENTALES PREVISTAS**

En este punto se presenta un análisis que tiene por objetivo dar una primera aproximación a modo de *screening* de cuáles serían los PAH que se podrían encontrar en concentraciones apreciables en efluentes y en cursos de agua de nuestro país, así como predecir las concentraciones probables esperadas a los efectos de evaluar si ameritan que se aconseje profundizar este estudio a la brevedad aportando datos cuantitativos.

El análisis se desarrolló en los siguientes pasos, según se describe a continuación:

1. Estimación del consumo de PAH mediante el uso de ACO.
2. Estimación de la cantidad de PAH que se descargan al ambiente en las aguas residuales de origen doméstico, en base a la farmacocinética en el cuerpo humano y las eficiencias de remoción en las PTDAR.
3. Cálculo de las concentraciones de PAH previstas en efluentes y en cuerpos de agua.

##### **4.4.1 Estimación del consumo de PAH**

A partir de las ventas anuales de ACO, es posible estimar el consumo de PAH a través del denominado “método del número de cajas (o ciclos) vendidos”, utilizado por Ortiz de García *et al.* (2013) en España.

Para ello es necesario conocer:

- Número de cajas (o ciclos) vendido de cada tipo de ACO en un periodo determinado (NP).
- Número de pastillas por caja (NPP). En este caso, se consideró el número de pastillas con principio activo; no se consideraron las pastillas con placebo.
- Masa de principio activo por dosis (MAD), generalmente expresada en mg/pastilla.

Con esta información, la estimación del consumo de PAH (EAC) mediante la cantidad estimada de cada PAH prescripto, expresada en kg/año, se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$EAC \text{ (kg/año)} = NP \text{ (nº ciclos/año)} \times NPP \text{ (nº pastillas/ciclo)} \times MAD \text{ (mg/pastilla)} \times 10^{-6} \text{ (kg/mg)}$$

Para el caso de Uruguay, se determinaron los EAC para cada PAH a partir de los valores de consumo de ACO para el año 2012, presentados en la Tabla 4-1. Cabe señalar que en el caso de aquellos PAH que tienen más de una presentación, se consideró un rango de valores en función del número de pastillas por ciclo y de la masa de PAH por dosis. En la Tabla 4-2 se presentan los resultados obtenidos.

Tabla 4-2: Consumo de PAH en Uruguay - Año 2012

PAH	NP (ciclos/año)	NPP (pastillas/ciclo)	MAD (mg/pastilla)	EAC (kg/año)
Drospirenona	1.033.420	21 - 24	3	65,1 - 74,4
Levonorgestrel (combinado)	936.407	21 - 24	0,10 - 0,15	2,52 - 3,93
Levonorgestrel (poscoitales)	371.210	1 - 2	0,75 - 1,5	
Gestodeno	273.977	21 - 24	0,06 - 0,75	0,39 - 0,43
Acetato de Ciproterona	61.730	21	2	2,59
Dienogest	45.433	21	2	1,91
Norgestimato	29.261	21	0,215 - 0,25	0,13 - 0,15
Desogestrel	10.607	21	0,15	0,03
Etinilestradiol <sup>1</sup>	2.390.835	21 - 24	0,02 - 0,075	1,08 - 1,52
Linestrenol	92.394	35	0,5	1,62

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos de distribución de ACO para el año 2012.

<sup>1</sup> Incluye todas las presentaciones de ACO combinado.

Comparando con el consumo de PAH de otros países, para el EE2 el consumo en EUA fue inferior a 100 kg/año para el periodo comprendido entre los años 2006 a 2008, siendo la población usuaria de ACO de 17 % (10,7 millones de mujeres entre 15 y 44 años) (Laurenson *et al.*, 2014).

En Francia, el consumo de ACP, DRO, LVG, DES, GES y DIE fue de 821, 149, 94, 29, 22 y 6 kg en el año 2004 (Besse y Garric, 2009), donde la población femenina era del orden de 32,3 millones de mujeres en ese año. Para la DRO (el PAH de mayor consumo en Uruguay), el consumo fue de 100 kg en Suiza en el año 2010 (siendo la población femenina del orden de 4,0 millones de mujeres en ese año) de 153 kg en el Reino Unido en 2006 (siendo la población femenina del orden de 31,2 millones de mujeres en ese año).

#### 4.4.2 Estimación de la cantidad de PAH que se descarga al ambiente

Para estimar la cantidad de cada PAH que se descarga al ambiente en efluentes domésticos, en kg/año, se debe conocer la siguiente información:

- Cantidad estimada de cada PAH prescripto (EAC), determinada en la sección anterior.
- La farmacocinética de cada PAH.
- La remoción de cada PAH en función del tipo de tratamiento de la PTDAR, en caso de corresponder.

##### 4.4.2.1 Farmacocinética

La cantidad de PAH y de sus metabolitos que son descargados al ambiente dependen de la farmacocinética en el cuerpo humano. El compuesto original puede ser excretado directamente o puede ser metabolizado luego de su absorción. Usualmente ocurren ambos procesos. Por lo tanto, a

los efectos del cálculo es necesario conocer los porcentajes de absorción y excreción del compuesto original y el porcentaje de formación de cada metabolito para cada uno de los PAH.

La información del metabolismo y la farmacocinética es compleja, y no está disponible para todos los PAH. Por lo tanto, para simplificar, se consideraron únicamente aquellas moléculas que contribuyen a la cantidad global del compuesto original en efluentes, esto es, la fracción que se excreta de forma incambiada y los conjugados hidrolizables, a través de los porcentajes de excreción del compuesto incambiado (PPEU). Cabe señalar que, a pesar de no ser posible determinar las tasas de excreción de los metabolitos, hay evidencia en la literatura de que pueden ser excretados en mayores concentraciones y presentar la misma actividad que el compuesto original (Besse y Garric, 2009), por lo cual considerar sólo los porcentajes de excreción del compuesto incambiado puede llevar a una subestimación de las cantidades efectivamente descargadas al ambiente.

Para el estrógeno EE2, se consideró un valor de 40 % para el PPEU (Ortiz de García *et al.*, 2013). Para los progestágenos, no es posible determinar un porcentaje de excreción confiable, pero hay alguna evidencia de que los progestágenos derivados de la testosterona, como noretindrona, etonogestrel y gestodeno, tienen valores de PPEU en el rango de 5 a 10 % (Besse y Garric, 2009). Por lo tanto, se adoptó un valor mínimo de 5 % y un valor máximo de 10 % para los progestágenos, con excepción del levonorgestrel y desogestrel que se adoptaron los valores de PPEU utilizados en el estudio de Ortiz de García *et al.* (2013), de 20 % y 2 % respectivamente.

En la Tabla 4-3 se presenta la estimación de la cantidad total de PAH vertida en las aguas residuales de origen doméstico en nuestro país, expresada en kg/año, calculada a partir de los valores de EAC y de PPEU.

**Tabla 4-3: Estimación de la cantidad de PAH vertida a las aguas residuales de origen doméstico**

PAH	EAC (kg/año)	PPEU (%)	Vertido (kg/año)
Drospirenona	65,1 - 74,4	5 - 10	3,26 - 7,44
Levonorgestrel	2,52 - 3,93	20	0,50 - 0,79
Gestodeno	0,39 - 0,43	5 - 10	0,02 - 0,04
Acetato de Ciproterona	2,59	5 - 10	0,13 - 0,29
Dienogest	1,91	5 - 10	0,10 - 0,19
Norgestimato	0,13 - 0,15	5 - 10	0,01 - 0,02
Desogestrel	0,03	2	0,001
Etinilestradiol	1,08 - 1,52	40	0,43 - 0,61
Linestrenol	1,62	5 - 10	0,08 - 0,16

*Fuente:* Elaboración propia a partir de los datos de distribución de ACO para el año 2012.

#### 4.4.2.2 Remoción en las PTDAR

La cantidad de cada PAH que finalmente se descarga en el ambiente acuático va a depender de si hay tratamiento o no previo a la descarga, y del tipo de tratamiento. Dicha cantidad se puede estimar en función de la siguiente información:

- Porcentaje del total de aguas residuales que son tratadas previo al vertido.
- Tipos de tratamiento en las PTDAR.
- Número total de PTDAR de cada tipo en funcionamiento en el periodo de tiempo considerado.

La información referente a las PTDAR de origen doméstico en Uruguay fue suministrada por OSE para el interior del país y por la Intendencia de Montevideo para la capital.

Para Montevideo, el porcentaje de cobertura por redes de saneamiento de viviendas en la zona urbana es de 91 % (IM, 2014). Sin embargo, existe sólo un pre-tratamiento previo al vertido mediante un emisario en el Río de la Plata, por lo cual, a los efectos de la remoción de PAH, se asumió que no hay tratamiento.

En el interior del país, el porcentaje de cobertura por redes de saneamiento de viviendas en la zona urbana asciende a 47,5 %, y existen 44 PTDAR que dan tratamiento (ya sea primario, secundario y/o terciario) al 73 % de los efluentes captados (OSE, 2014). Además, se cuenta con PTDAR con sistema de lagunas en casi todos los complejos MEVIR del país (López *et al.*, 2013).

En la Tabla 4-4 se resumen los datos referentes a la tecnología de tratamiento y a la población atendida para cada tipo de tratamiento en cada una de las PTDAR de Uruguay, incluyendo los complejos MEVIR.

**Tabla 4-4: Tipo de tratamiento y población atendida en las PTDAR de Uruguay**

Tipo	Población atendida <sup>(1)</sup>	Cantidad	Tecnología
<b>Tratamiento primario</b>	47.435	1	Tratamiento físico-químico
<b>Tratamiento secundario</b>	35.735	3	Lodos activados de aireación convencional
	100.682	5	Lodos activados de aireación extendida
	34.159	2	Lecho percolador
	33.427	5	Zanja de oxidación
	10.578	1	Reactor UASB
	110.608 <sup>(2)</sup>	23	Lagunas de estabilización (localidades)
	44.118 <sup>(4)</sup>	297 <sup>(3)</sup>	Lagunas de estabilización (MEVIR)
<b>Tratamiento terciario</b>	82.544	4	Lodos activados de aireación extendida con remoción de nitrógeno
<b>TOTAL</b>	<b>487.095</b>	<b>44</b>	Localidades
		<b>297</b>	MEVIR

*Fuente:* Elaborado en base a datos suministrados por OSE (2014).

<sup>(1)</sup> La población atendida fue calculada en base a la población total y al porcentaje de cobertura de la red de saneamiento para cada una de las localidades. Dicho porcentaje de cobertura responde a la relación entre el número de conexiones de saneamiento y el número de conexiones de agua potable para cada localidad (Total de conexiones de saneamiento / Total de conexiones agua potable).

<sup>(2)</sup> La población atendida para las localidades que cuentan con PTDAR con lagunas de estabilización (salvo para las ciudades de Rivera y Rocha en que se cuenta con el dato específico) fue calculada en base a la población total de cada localidad y al porcentaje promedio de cobertura de la red de saneamiento para el Interior del país en las localidades que cuentan con ambos servicios. Dicho porcentaje es de 46 % para el año 2012 (OSE, 2014).

<sup>(3)</sup> La cantidad de PTDAR de los complejos MEVIR fue determinada a partir de la cantidad de complejos construidos al año 2011 que cuentan con sistema de tratamiento de efluentes mediante lagunas (usualmente, una laguna facultativa y dos lagunas de maduración en serie). Los datos de base fueron tomados del Informe Final sobre Sistemas de Saneamiento Adecuado en el marco del Convenio OSE-UdelaR (López *et al.*, 2013).

<sup>(4)</sup> La población atendida para los complejos MEVIR se estimó en base a la cantidad de viviendas de cada complejo y a la cantidad de habitantes por vivienda; para este último valor, se consideró el valor promedio de personas en hogares particulares para cada departamento, según datos del Censo 2011 (INE, 2011).

En función de los datos, considerando la población atendida, se tiene que en Uruguay, el 15 % de las aguas residuales de origen doméstico reciben algún tipo de tratamiento, en tanto el 85 % restante se descarga directamente a los cursos de agua sin tratamiento. Cabe señalar que en dichos porcentajes no están incluidos los efluentes que son retirados por barométrica y se descargan a las PTDAR, que también estarían recibiendo tratamiento.

Los porcentajes de remoción en función del tipo de tratamiento fueron tomados de las eficiencias reportadas en la bibliografía para PTDAR con tecnologías de tratamiento similares, en el caso de encontrarse el dato para el PAH de interés, ya que como fue mostrado anteriormente, los datos son escasos y además presentan gran variabilidad. Para aquellos PAH donde no hay eficiencias reportadas, se adoptaron los valores para los PAH de composición similar.

Para simplificar, y dadas las incertidumbres debido a la poca cantidad de datos reportados o incluso, a la falta de datos, se consideraron sólo 2 escenarios:

- Sin remoción de PAH: comprende el vertido de los efluentes sin tratamiento, o el vertido con pre-tratamiento o tratamiento primario únicamente. En Uruguay, representa el 86 % de los efluentes de origen doméstico.
- Con remoción de PAH: comprende el vertido de los efluentes con tratamiento secundario y tratamiento terciario. En Uruguay, representa sólo el 14 % de los efluentes de origen doméstico.

El rango para las eficiencias de remoción de PAH adoptado para el caso del vertido de efluentes con remoción de PAH, se presenta en la Tabla 4-5 para cada uno de los PAH bajo estudio.

**Tabla 4-5: Eficiencia de remoción de PAH en las PTDAR**

PAH	Remoción (%)
Drospirenona	50 - 90
Levonorgestrel	50 - 90
Gestodeno	50 - 90
Acetato de Ciproterona	50 - 90
Dienogest	50 - 90
Norgestimato	50 - 90
Desogestrel	50 - 90
Etinilestradiol	60 - 80
Linestrenol	50 - 90

#### 4.4.2.3 Estimación de OAE

La ocurrencia de cada PAH en el ambiente acuático (OAE), expresada en kg/año, se estimó a partir del EAC, la farmacocinética y la remoción en función del tipo de tratamiento (en caso de existir), mediante la siguiente ecuación:

$$\text{OAE (kg/año)} = \text{EAC (kg/año)} \times \text{PPEU (\%)} \times [\text{P}_{\text{directo}} + \text{P}_{\text{tto}} \times (1 - \text{P}_{\text{PTDAR}})]$$

Donde:

Vertido es la cantidad de PAH vertida a las aguas residuales de origen doméstico.

$\text{P}_{\text{directo}}$  es el porcentaje de los efluentes de origen doméstico sin remoción de PAH.

$P_{tto}$  es el porcentaje de los efluentes de origen doméstico con remoción de PAH.

$P_{PTDAR}$  son los porcentajes de remoción de PAH en función del tipo de tratamiento en las PTDAR.

O bien, considerando los distintos escenarios posibles para cada PAH:

$$OAE \text{ (kg/año)} = \sum_{PPEU} \left[ \sum_{NPP} \left( \sum_{MAD} NP \right) \right] \times \sum_{PTDAR} [P_{directo} + P_{tto} \times (1 - P_{PTDAR})]$$

Los valores utilizados para el cálculo y los resultados obtenidos para cada PAH se presentan en la Tabla 4-6.

**Tabla 4-6: Estimación de OAE para Uruguay**

PAH	Vertido (kg/año)	$P_{PTDAR}$ (%)	OAE (kg/año)
Drospirenona	3,26 - 7,44	50 - 90	2,85 - 6,92
Levonorgestrel	0,50 - 0,79	50 - 90	0,44 - 0,73
Gestodeno	0,02 - 0,04	50 - 90	0,02 - 0,04
Acetato de Ciproterona	0,13 - 0,29	50 - 90	0,11 - 0,24
Dienogest	0,10 - 0,19	50 - 90	0,08 - 0,18
Norgestimato	0,01 - 0,02	50 - 90	0,006 - 0,014
Desogestrel	0,001	50 - 90	< 0,001
Etinilestradiol	0,43 - 0,61	60 - 80	0,38 - 0,56
Linestrenol	0,08 - 0,16	50 - 90	0,07 - 0,15

Fuente: Elaboración propia.

Como se desprende de los datos, en Uruguay la incidencia de la remoción de PAH en las PTDAR de origen doméstico es poco significativa, debido a la baja cobertura de tratamiento previo al vertido.

#### 4.4.3 Cálculo de PEC para Uruguay

El PEC o concentración ambiental prevista (*Predicted Environmental Concentration*), es la concentración de una sustancia que posiblemente se encontrará en el medio ambiente. Se debe determinar para cada compartimento ambiental.

Para cuerpos de agua superficial, el PEC se puede calcular en base a la metodología propuesta en la Guía para la evaluación de riesgo ambiental de productos medicinales de uso humano, elaborado por la Agencia Europea de Medicina (EMEA, 2006). Esta metodología fue utilizada por varios investigadores con distintos grupos o tipos de PAs farmacéuticos. Besse y Garric (2008) la adaptaron para calcular el PEC de 120 PAs farmacéuticos y 30 metabolitos en el marco de la implementación de una metodología de priorización de compuestos farmacéuticos en cuerpos de aguas superficiales de Francia; luego, la utilizaron para calcular el PEC de 18 progestágenos de uso humano en cuerpos de aguas superficiales de Francia (Besse y Garric, 2009). En España, fue adaptada por Ortiz de García *et al.* (2013) para calcular el PEC de 60 PAs farmacéuticos y 20 metabolitos en los cuerpos de aguas superficiales de ese país.

En base a las metodologías propuestas y a la información disponible, se consideraron dos procedimientos para el cálculo del PEC en cuerpos de agua superficial.

El primero de ellos, adaptado de la Guía para la evaluación de riesgo ambiental de productos medicinales de uso humano (EMEA, 2006), devuelve un valor máximo y conservador de PEC en función del consumo de cada PAH; no considera la farmacocinética en el cuerpo humano (se asume que el 100 % del compuesto se excreta en su forma original), ni la remoción en las PTdar. Bajo estas hipótesis, el PEC se puede calcular dividiendo el EAC por la estimación del caudal anual de aguas residuales (Q) por un factor de dilución (FD) de los efluentes en los cuerpos de agua, según se expresa en la siguiente ecuación:

$$PEC_{\text{máx}} (\text{ng/L}) = \frac{EAC (\text{kg/año}) \times 10^{12} (\text{ng/kg})}{Q (\text{L/año}) \times FD}$$

El segundo procedimiento devuelve un valor más representativo del PEC teniendo en cuenta la farmacocinética en el cuerpo humano y la remoción en las PTdar. El PEC se calcula entonces dividiendo el OAE (calculado en la sección 4.4.2.3) por la estimación del caudal anual de aguas residuales (Q) por un factor de dilución (FD) de los efluentes en los cuerpos de agua, según se expresa en la siguiente ecuación:

$$PEC (\text{ng/L}) = \frac{OAE (\text{kg/año}) \times 10^{12} (\text{ng/kg})}{Q (\text{L/año}) \times FD}$$

En cualquiera de los dos procedimientos, se considera que la totalidad de las aguas residuales conteniendo los PAH se descarga en un único punto de un curso de agua con una capacidad de dilución dada y constante, lo que es pertinente a los efectos de evaluar el riesgo ambiental y jerarquizar la necesidad de profundización en los estudios de los diferentes PAH.

El caudal anual de aguas residuales de origen doméstico se estima en base a una dotación (volumen de efluente generado por persona por día) y a la cantidad de habitantes. Si bien la metodología de la Guía de la EMEA (2006) propone adoptar un valor por defecto de 200 L/hab/día, se consideró una dotación adaptada a la realidad de Uruguay, diferenciada entre los habitantes de Montevideo y los habitantes del interior del país. Dichos valores de dotación fueron calculados a partir de los datos de consumo de agua y coeficientes de retorno determinados en el marco del cálculo de caudales de tiempo seco para el Diagnóstico del Plan Director de Saneamiento y Drenaje de Montevideo (IM, 2007). En el Anexo 4 se presenta el procedimiento empleado para el cálculo de las dotaciones para Montevideo y el interior del país al año 2012. En la Tabla 4-7 se presentan los valores de dotación considerados y el caudal anual de aguas residuales de origen doméstico resultante.

**Tabla 4-7: Caudal anual de aguas residuales de origen doméstico en Uruguay**

Lugar	Población <sup>1</sup> (hab)	Dotación <sup>2</sup> (L/hab/día)	Caudal anual (L/año)
Montevideo	1.319.108	140	$6,74 \times 10^{10}$
Interior	1.967.206	115	$8,26 \times 10^{10}$
<b>TOTAL</b>	<b>3.286.314</b>	--	<b><math>1,50 \times 10^{11}</math></b>

<sup>1</sup> Datos tomados del Censo 2011 (INE, 2011).

<sup>2</sup> Valores calculados a partir de los datos de consumo de agua y coeficientes de retorno determinados en el marco del cálculo de caudales de tiempo seco para el Diagnóstico del Plan Director de Saneamiento y Drenaje de Montevideo (IM, 2007). Ver Anexo 4.

#### 4.4.3.1 PEC en efluentes

En la Tabla 4-8 se presentan los valores de PEC calculados para efluentes en Uruguay; esto sin, sin considerar el factor de dilución propuesto por la Guía de la EMEA (2006) para cursos de agua. Esto

permite tener un orden de las concentraciones de los distintos PAH que se podrían encontrar en los efluentes de nuestro país (sin considerar otros aportes de caudal).

**Tabla 4-8: Estimación de PEC en efluentes de Uruguay**

PAH	PEC <sub>efluentes</sub> (ng/L)
Drospirenona	19,2 - 46,4
Levonorgestrel	3,0 - 4,9
Gestodeno	0,13 - 0,25
Acetato de Ciproterona	0,8 - 1,6
Dienogest	0,6 - 1,2
Norgestimato	0,04 - 0,10
Desogestrel	< 0,01
Etinilestradiol	2,6 - 3,7
Linestrenol	0,5 - 1,0

Fuente: Elaboración propia.

Según las estimaciones realizadas, los PAH que se podrían detectar en efluentes en concentraciones en el orden de ng/L son: drospirenona, levonorgestrel y etinilestradiol.

Comparando con datos reportados en la bibliografía para otros países, se tiene que los valores de PEC para el EE2 en afluentes a las PTDAR de origen doméstico son de 4 ng/L en Reino Unido donde se asumió que el 17 % de la población total de mujeres consumen ACO (Johnson *et al.*, 2008, en Xu *et al.*, 2012), de 3 ng/L en EUA donde se asumió que el 8,1 % de la población total de mujeres consumen ACO (Hannah *et al.*, 2009; en Xu *et al.*, 2012) y de 0,1 ng/L en China donde el 0,38 % de la población total de mujeres consumen ACO (Xu *et al.*, 2012). En Uruguay, con una tasa de uso de ACO comprendida entre la de Estados Unidos y la de Reino Unido (del orden de 11 % de la población total de mujeres para el año 2012), se obtuvieron valores de PEC para el EE2 en efluentes entre 2,6 y 3,7 ng/L, del mismo orden.

#### 4.4.3.2 PEC en cuerpos de agua superficial

En la Tabla 4-9 se presentan los valores de PEC en cuerpos de agua superficial calculados para cada uno de los PAH que se consumen en Uruguay. Para el factor de dilución de los efluentes en los cuerpos de agua, se adoptó el valor de 10 propuesto por defecto en las Guía para la evaluación de riesgo ambiental de productos medicinales de uso humano (EMEA, 2006), también utilizado en las investigaciones citadas.

**Tabla 4-9: Estimación de PEC en cuerpos de agua superficial de Uruguay**

PAH	PEC <sub>máx</sub> (ng/L)	PEC (ng/L)
Drospirenona	49,6	1,9 - 4,6
Levonorgestrel	2,6	0,3 - 0,5
Gestodeno	0,3	0,01 - 0,02
Acetato de Ciproterona	1,7	0,1 - 0,2
Dienogest	1,3	0,06 - 0,12
Norgestimato	0,1	0,004 - 0,010
Desogestrel	0,02	< 0,001
Etinilestradiol	1,0	0,3 - 0,4
Linestrenol	1,1	0,05 - 0,10

Si bien la Guía de la EMEA (2006) estipula que se debe asumir que es poco probable que el PAH represente un riesgo si su valor de PEC está por debajo de 10 ng/L, se optó por continuar el análisis y considerar el valor de PEC/PNEC dado que los valores de NOEL y LOEL para algunos PAH son significativamente inferiores a 10 ng/L, según lo presentado en la sección 3.3.

Para el cálculo del PNEC, la Guía de la EMEA (2006) sugiere adoptar el menor valor del NOEL corregido por un factor de seguridad fijado por defecto en 10. Si la relación entre el valor de PEC en cuerpos de agua superficial y el valor de PNEC es menor a 1, entonces se infiere que es poco probable que el contaminante por sí solo cause efectos adversos en el ambiente; en cambio, si la relación es mayor a 1, se infiere que el contaminante puede causar efectos adversos y se requieren estudios adicionales para obtener un análisis de riesgo más ajustado a la realidad.

Para algunos de los PAH que se consumen en Uruguay, no hay valores publicados de PNEC y tampoco de NOEL como para calcular el valor del PNEC a partir de éste. Para el EE2, los valores de PNEC oscilan entre 0,035 y 0,5 ng/L. Sin embargo, en el estudio reciente de análisis de riesgo de Laurenson *et al.* (2014), fue adoptado el valor de 0,035 ng/L propuesto por la Comisión Europea, menor al anterior aceptado internacionalmente de 0,1 ng/L. Para los progestágenos DRO, LVG y GES, se consideró el mínimo valor del NOEL y se aplicó el factor de seguridad de 10.

En la Tabla 4-10 se presenta la valoración de la relación PEC/PNEC en cuerpos de agua superficial calculados para cada uno de los PAH que se consumen en Uruguay.

**Tabla 4-10: Estimación de la relación PEC/PNEC en cuerpos de agua superficial de Uruguay**

PAH	PNEC (ng/L)	PEC/PNEC
<b>Drospirenona</b>	<b>6,6</b>	<b>&lt; 1 (&gt; 1 para PEC máx)</b>
<b>Levonorgestrel</b>	<b>0,08</b>	<b>&gt; 1</b>
<b>Gestodeno</b>	<b>0,01</b>	<b>&gt; 1</b>
Acetato de Ciproterona	SD	SD
Dienogest	SD	SD
Norgestimato	SD	SD
Desogestrel	SD	SD
<b>Etinilestradiol</b>	<b>0,035</b>	<b>&gt; 1</b>
Linestrenol	SD	SD

Fuente: Elaboración propia.

SD: Sin datos.

Por lo tanto, según las estimaciones realizadas, los PAH que merecen mayor atención (resultando un valor de PEC/PNEC>1) son: levonorgestrel, gestodeno y etinilestradiol.

El progestágeno drospirenona también debería ser incluido en esta lista, dado que es el PAH de mayor consumo y sus efectos ambientales aún no están bien determinados.

Por último, cabe señalar que los valores de PEC para efluentes resultan más aproximados que los valores de PEC para cuerpos de aguas superficiales dado el error que introduce la consideración de un factor de dilución fijo.

## 4.5 DISCUSIÓN

En este capítulo se presentó un análisis a modo de evaluación primaria o *screening*, donde se determinaron cuáles serían los PAH que se podrían encontrar en concentraciones apreciables en efluentes y en cursos de agua de nuestro país, así como las concentraciones probables esperadas.

Surge que los PAH asociados a los ACO de mayor consumo en Uruguay, como la drospirenona, el levonorgestrel, el gestodeno y el etinilestradiol podrían estar presentes en aguas residuales de origen doméstico en concentraciones del orden de ng/L, y consecuentemente se podrían encontrar concentraciones en los cursos de agua superficial que pudieran representar un riesgo para los organismos presentes. La mayor afectación se podría dar en el entorno de los centros urbanos más importantes, donde el estrés generado en el ambiente puede ser mayor.

La metodología aplicada presenta algunas limitaciones que es importante presentar de forma explícita, de modo de que puedan ser tenidas en cuenta para investigaciones futuras y en la comparación de datos:

- La estimación del consumo de ACO se realizó en base a los datos de ventas de estos fármacos o datos de reposición en el caso de los prestadores públicos de salud, que no necesariamente reflejan el consumo real por parte de la población.
- En las concentraciones de PAH que son vertidas al ambiente, no se incluyeron los metabolitos del compuesto original (salvo los conjugados hidrolizables), que también pueden presentar la misma actividad que éste y generar efectos en el ambiente.
- Los valores de las tasas de excreción para algunos PAH fueron tomados de otros estudios en el caso de existir el dato, y en otros casos debieron ser asumidos, por lo que puede haber cierta incertidumbre en estos datos.
- Se asumió que el consumo de PAH es estable o constante durante el año. Si bien es razonable dado que se trata de ACO, podría existir una variación interanual del consumo que modifique las concentraciones de PAH estimadas en distintas épocas del año.
- Las eficiencias de remoción de los PAH en las PTDAR fueron estimados en base a otras plantas de similares características en el caso de existir el dato reportado; para algunos PAH para los cuales no se tenían valores publicados, se adoptaron eficiencias similares. Por lo tanto, si bien se consideró un rango de eficiencias, puede que no se esté contemplando la realidad de las PTDAR de Uruguay. Además, tampoco se consideraron posibles variaciones estacionales en la eficiencia.
- La metodología propuesta por la EMEA, también aplicada en otros estudios, adopta un factor de dilución genérico de efluentes en cuerpos de agua, de 10, que a priori parece no ser representativo de todas las condiciones de vertido a nivel nacional. Si bien el objetivo de dicha metodología es poder priorizar cuáles serían los compuestos que merecen especial atención o que ameritan ser estudiados más en profundidad, como fue el caso, hay que considerar que el valor de PEC así obtenido no necesariamente refleja la concentración “real” que se puede encontrar en cada curso de agua del país. Para ello habría que considerar un factor de dilución adaptado a cada curso, para cada condición de vertido. Por ejemplo, para el vertido de los efluentes de la ciudad de Montevideo, que se realiza al Río de la Plata, habría que considerar un factor de dilución muy superior a 10; en tanto que para el vertido de los efluentes de la ciudad de Las Piedras, que se realiza a una cañada afluente del arroyo Las Piedras, el factor de dilución podría ser inferior a 10.
- Los valores de PEC obtenidos no consideran la degradación de los PAH en el ambiente, ni tampoco los cambios de fase que podrían ocurrir en el curso de agua, como por ejemplo, sorción en sedimentos que parece ser un mecanismo importante para los PAH. Sin

detrimiento de esto, algunos investigadores sostienen que las concentraciones calculadas tenderían a estar en equilibrio, ya que hay un ingreso continuo de PAH al ambiente desde las fuentes, lo que se denomina con el término de compuestos “pseudo-persistentes” (Laurenson *et al.*, 2014).

- No están considerados posibles efectos sinérgicos o antagónicos con otros contaminantes presentes, que pueden subestimar o sobreestimar los efectos de cada PAH en el ambiente.

Además de estas limitaciones, se presentan otros aspectos en el cálculo de los PEC en efluentes y en cuerpos de agua superficial:

- No todos los efluentes de origen doméstico se vierten en cursos de agua superficial como fue considerado en los cálculos; en algunos casos se da infiltración al terreno desde pozos permeables, fosas sépticas, etc. Esto podría ser una fuente de PAH significativa hacia las aguas subterráneas, por ejemplo, en la Ciudad de la Costa donde se tiene una alta densidad de población sin saneamiento, con uso intensivo de pozos permeables o robadores. Este aspecto podría generar una sobreestimación de las concentraciones de PAH en los cursos de agua superficial de nuestro país.
- No fueron incluidas otras fuentes de PAH, como los efluentes de la industria farmacéutica, los PAH de uso veterinario, la disposición de residuos sólidos con PAH, etc., que podrían aumentar las concentraciones estimadas. Según lo analizado anteriormente, el vertido efluentes de la industria farmacéutica está muy localizado ya que sólo dos industrias fabrican ACO en Uruguay, pero si no se aplica un tratamiento adecuado las cantidades de vertidas de PAH pueden llegar a ser tan significativas como la de los efluentes de origen doméstico. El aporte de PAH de uso veterinario -fuera del alcance de este estudio- sí podría llegar a ser significativo, incluso de mayor orden que el aporte de PAH usados en ACO<sup>5</sup>. Todos estos posibles aportes no considerados podrían generar una subestimación de las concentraciones de PAH en los cursos de agua superficial de nuestro país.

Más allá de estas limitaciones, los resultados indican que podría ser relevante profundizar este estudio a la brevedad, aportando datos cuantitativos de cuáles son las concentraciones que efectivamente se registran en efluentes y en los cursos de agua de nuestro país. El único antecedente reportado también sugiere que más estudios deben ser realizados.

Actualmente, en nuestro país la atención y los esfuerzos están enfocados en el control de la contaminación debido a materia orgánica y más recientemente en el control de la contaminación debido a nutrientes, con excepción de lo mencionado específicamente para el sector farmacéutico.

La normativa nacional no incluye estándares para este tipo de contaminantes, y los procesos de tratamiento que se están incorporando con las nuevas PTDAR de origen doméstico, o en la actualización de PTDAR existentes, sí contemplan tratamiento terciario para remoción de nitrógeno y fósforo pero no contemplan este tipo de contaminantes.

Los mayores valores se pueden dar en zonas de vertido de efluentes donde no hay tratamiento, o donde el caudal de efluentes domina sobre el caudal del curso de agua. Habría que identificar de forma específica estas situaciones, y comenzar una evaluación preliminar para estos casos.

---

<sup>5</sup> Para el Reino Unido, se estimó que el aporte de estrógenos debido a la excreción humana es del orden del 20 % de la excreción de los animales de granja (Johnson *et al.*, 2006, en Laurenson *et al.*, 2014), y para EUA es del orden del 3 % (Laurenson *et al.*, 2014).

**CAPÍTULO 5**

**CASO DE ESTUDIO:**

**REMOCIÓN DE PAH DEL EFLUENTE DE**

**UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA**

## 5. CASO DE ESTUDIO: REMOCIÓN DE PAH DEL EFLUENTE DE UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

En el marco del desarrollo de un sistema de tratamiento para los efluentes de una industria farmacéutica que produce ACO, se realizaron ensayos a escala piloto para evaluar la remoción de PAH mediante procesos de oxidación avanzada con ozono y con la combinación O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, buscando no sólo disminuir la concentración de dichos contaminantes sino también reducir la ecotoxicidad del efluente tratado. Cuestiones particulares de la industria hacían necesario el desarrollo de un sistema de tratamiento compacto, que permitiera remover PAH a una concentración  $\leq 50 \mu\text{g/L}$  de cada uno, con valores de LC<sub>50</sub> y/o IC<sub>50</sub>  $\geq 50 \%$ .

El trabajo se fue desarrollando en etapas en función de los resultados obtenidos en la etapa anterior, mediante las siguientes actividades:

- Caracterización del efluente industrial, tanto del punto de vista físico-químico como de ecotoxicidad.
- Ensayo de oxidación con la combinación O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para indagar la eficacia del tratamiento y ajustar parámetros del ensayo.
- Ensayo de oxidación con la combinación O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para determinar la dosis máxima de ozono, con un efluente sintético generado en base a una matriz del efluente industrial con la adición de una solución de PAH (en base etanol) preparada para tener las concentraciones máximas esperadas.
- Ensayo de oxidación con la combinación O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y sólo con O<sub>3</sub> para evaluar la ecotoxicidad del efluente tratado, y posibles efectos e interferencias del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la ecotoxicidad del efluente tratado.

A continuación se describen los materiales y métodos, se presentan y analizan los resultados obtenidos, y por último se comentan las limitaciones del estudio y sugerencias para trabajos futuros.

### 5.1 MATERIALES Y MÉTODOS

#### 5.1.1 Efluente bajo estudio

El efluente bajo estudio es el generado en la planta industrial de una industria farmacéutica de producción de ACO y otras formulaciones farmacéuticas. Está compuesto fundamentalmente por soluciones de agua de lavado de los diferentes sectores de proceso, las cuales contienen los siguientes compuestos:

- *Principios activos*, en tipo y porcentaje variable según la formulación y el avance en la campaña de producción respectiva. En la planta industrial se manejan del orden de 50 PAAs, entre lo que se encuentran PAH para la fabricación de ACO.
- *Excipientes*, en porcentaje variable según la formulación y el avance en la campaña de producción respectiva. Están compuestos fundamentalmente por celulosa.
- *Detergentes*, en porcentaje variable según el avance en la campaña de producción. Se utilizan en el lavado de salas y equipos, y son especiales para la limpieza de laboratorios. El

detergente utilizado en el momento en que se realizó este estudio era alcalino (pH 11,6) y fácilmente biodegradable según la información presentada en la Ficha de Datos de Seguridad correspondiente.

Los PAH estudiados en este efluente se identifican con su correspondiente Nº CAS en la Tabla 5-1.

**Tabla 5-1: PAH en el efluente bajo estudio**

Tipo	PAH	Nº CAS
Progestágeno	Acetato de Ciproterona	427-51-0
	Levonorgestrel	797-63-7
	Gestodeno	60282-87-3
	Drospirenona	67392-87-4
Estrógeno	17 $\alpha$ -Ethinilestradiol	57-63-6

### **5.1.2 Campaña de muestreo para caracterización del efluente**

Se realizó una campaña de muestreo de la línea de efluente industrial, mediante la toma de muestras compuestas a la salida del tanque de homogeneización, que fue construido a los efectos de ecualizar los picos de carga y caudal.

La campaña de muestreo fue programada en función de la producción del sector de hormonas, procurando muestrear:

- Fin de campaña de producción, que es cuando se registra la mayor concentración de los PAH utilizados.
- Mitad de campaña de producción, para determinar la variación en la concentración de PAH respecto a fin de campaña.

Se realizaron 5 muestreos; el detalle de los PAs utilizados en el sector de hormonas y en el sector de producción de otros PAs se presenta en la Tabla 5-2 para cada uno de ellos.

**Tabla 5-2: Muestreos para caracterización del efluente**

Muestreo	PAH	Otros PAH
Nº 1	CPA – EE2 (Fin de campaña de producción)	Azitromicina (antibiótico) Ibuprofeno (analgésico/antinflamatorio) Sulfametoxazol + trimetoprima (antibiótico) Diclofenac (antinflamatorio)
Nº 2	GES – EE2 (Mitad de campaña de producción)	Ibuprofeno (analgésico/antinflamatorio) Paracetamol (analgésico/antipirético) Ácido acetilsalicílico (cardiología)
Nº 3	DRO – EE2 (Mitad de campaña de producción)	Sildenafil (vasodilatador) Ácido acetilsalicílico (cardiología)
Nº 4	DRO – EE2 (Mitad de campaña de producción)	Ácido acetilsalicílico (cardiología) Ketorolac (antinflamatorio)
Nº 5	DRO – EE2 (Fin de campaña de producción)	

### **5.1.3 Ensayos de oxidación**

Se desarrollaron tres ensayos de oxidación en forma consecutiva:

1. Ensayo para indagar la eficiencia del tratamiento: Oxidación con  $O_3/H_2O_2$  del efluente industrial (fin de campaña de LVG + EE2).
2. Ensayo para determinar la dosis máxima de ozono: Oxidación con  $O_3/H_2O_2$  de un efluente generado en base a una matriz del efluente industrial con la adición de una solución de PAH (en base etanol) preparada para tener las concentraciones máximas esperadas.
3. Ensayo para evaluar la ecotoxicidad del efluente tratado: Oxidación del efluente industrial con  $O_3/H_2O_2$  y sólo con  $O_3$  (para evaluar posibles efectos e interferencias del  $H_2O_2$  en la ecotoxicidad del efluente tratado).

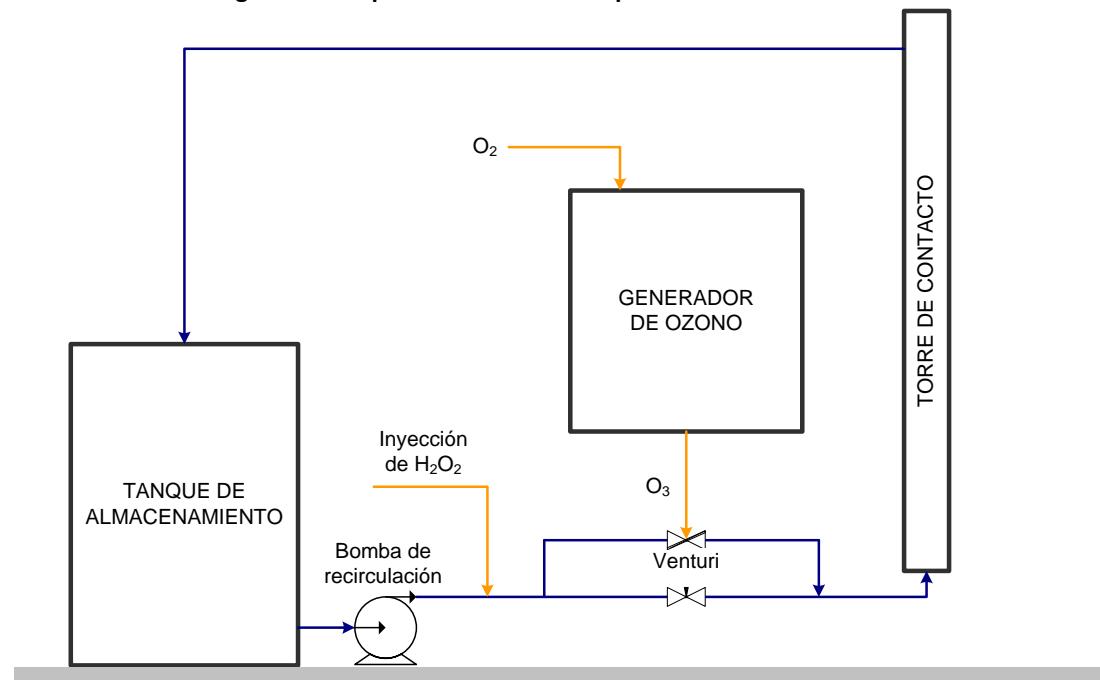
#### 5.1.3.1 Equipamiento

Los ensayos de oxidación se realizaron en una unidad experimental a escala piloto, montada en las instalaciones de OZOX<sup>6</sup> en Montevideo, Uruguay. El equipamiento de la unidad experimental estaba compuesto por:

- Generador de ozono de descarga de corona marca PACIFIC OZONE, alimentado con oxígeno puro (> 90 % pureza). El caudal de alimentación de gas (mezcla de oxígeno y ozono) se fijó en 10 ft<sup>3</sup>/h, siendo la producción de ozono de 10 g/h.
- Tanque de almacenamiento de 100 L de capacidad.
- Torre de contacto de 150 mm de diámetro y 2 m de altura.
- Bomba centrífuga de 1.500 L/h (caudal nominal) para recircular el efluente.
- Venturi para la inyección de ozono en la corriente líquida.
- Bomba peristáltica de 1,5 L/h (caudal máximo) para la dosificación de  $H_2O_2$ .

El esquema de la instalación de la unidad experimental se ilustra en la Figura 5-1, en tanto en la Figura 5-2 se presentan registros fotográficos de la misma.

Figura 5-1: Esquema de la unidad experimental de tratamiento



<sup>6</sup> OZOX S.R.L Ingeniería en Ozono, empresa que ofrece equipamiento y servicios de Ingeniería, especialmente en las áreas de ozono, oxígeno y ultravioleta en Uruguay. Referente técnico: I.Q. Julio Cameto.

Figura 5-2: Registros fotográficos de la unidad experimental de tratamiento



### 5.1.3.2 Procedimiento

#### Ensayo 1, para indagar la eficiencia del tratamiento

Como primera aproximación se realizó un ensayo de oxidación con la combinación  $O_3/H_2O_2$ , con una muestra puntual del efluente industrial, coincidente con el fin de campaña de producción donde se usaba EE2 y LVG.

El procedimiento aplicado fue el siguiente:

1. Toma y preparación de la muestra a ensayar.
2. Dosificación continua y constante de  $O_3$  y  $H_2O_2$ , recirculando la muestra en circuito cerrado.
3. Toma de muestras al inicio y al final del ensayo, y cada intervalos de tiempo predeterminados de 30 min.
4. Determinación analítica de los parámetros de interés.
5. Análisis de resultados.

#### Ensayo 2, para dimensionar el equipo generador de ozono

Se realizó un segundo ensayo de oxidación con la combinación  $O_3/H_2O_2$  de un efluente sintético generado en base a una matriz del efluente industrial con la adición de una solución con PAH.

Debido a la baja solubilidad de los PAH en agua, se preparó 1 L de solución de PAH en base etanol en concentraciones tales de forma de obtener en la dilución con el efluente las concentraciones máximas esperadas según los resultados de las campañas de muestreo. En este caso, los PAH empleados fueron: EE2, LVG, DRO, GES y CPA. La solución fue preparada por el Laboratorio de la industria farmacéutica.

El procedimiento aplicado fue el siguiente:

1. Toma y preparación de la muestra a ensayar.
2. Medición y ajuste de pH con hidróxido de sodio a un valor superior a 7.
3. Dosificación continua y constante de  $O_3$  y  $H_2O_2$ , recirculando la muestra en circuito cerrado.
4. Toma de muestras al inicio y al final del ensayo, y cada intervalos de tiempo predeterminados de 15 min.
5. Determinación analítica de los parámetros de interés.
6. Análisis de resultados.

#### Ensayo 3, para evaluar la ecotoxicidad del efluente tratado

Se realizó un tercer ensayo de oxidación para evaluar posibles efectos e interferencias del  $H_2O_2$  en la ecotoxicidad del efluente tratado. Por lo tanto, se utilizó una misma muestra para realizar dos pruebas: oxidación con la combinación  $O_3/H_2O_2$  y oxidación sólo con  $O_3$ , lo cual también permitió comparar eficiencias de uno u otro proceso. Se empleó una muestra puntual del efluente industrial, coincidente con una campaña de producción donde se usaba EE2 y DRO.

El procedimiento aplicado en cada caso fue el siguiente:

1. Toma y preparación de la muestra a ensayar.
2. Medición de pH (no fue necesario el ajuste con hidróxido de sodio).

3. Dosificación continua y constante de O<sub>3</sub>, o de O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, recirculando la muestra en circuito cerrado.
4. Toma de muestras al inicio y al final del ensayo, y cada intervalos de tiempo predeterminados de 15 min.
5. Determinación analítica de los parámetros de interés.
6. Análisis de resultados.

#### 5.1.4 Técnicas analíticas

##### 5.1.4.1 Determinación de PAH

La cuantificación de los PAH en el efluente se realizó mediante la metodología de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con las muestras previamente filtradas a través de una membrana de 45 µm para remover los sólidos suspendidos presentes en éstas. Los análisis fueron realizados por el personal y con el equipamiento del Laboratorio de la industria farmacéutica.

Se empleó un HPLC de Shimadzu, con la siguiente configuración:

- Columnas de C<sub>18</sub>, de 250 mm x 4,6 mm, con relleno esférico de 5 µm de tamaño de partícula (LiChrosphere RP-18 – N° 139).
- Bomba.
- Detector UV-visible con arreglos de diodos.
- Detector de fluorescencia.

Las condiciones de trabajo para los análisis cuantitativos fueron las siguientes:

- Composición de la fase móvil: mezcla binaria de acetonitrilo y agua (1:1).
- Volumen de inyección: 400 µL.
- Caudal: 1 mL/min.
- Temperatura: 35 °C.

Los tiempos de retención, los picos de absorción y el límite de detección para cada uno de los PAH analizados se resumen en la Tabla 5-3.

Tabla 5-3: Determinación de PAH

PAH	Detección	Tiempo de retención (min)	Límite de detección
DRO	UV 265 nm	11	6 ppb
ACP	UV 280 nm	22	8 ppb
LVG	UV 247 nm	13	6 ppb
GES	UV 240 nm	10	6 ppb
EE2	Excitación: 285 nm Emisión: 310 nm	9	1 ppb

La cantidad de PAH que permanecieron en la muestra se determinó mediante la comparación de las áreas de los picos de los cromatogramas de las muestras objetivo con la de las muestras padrón.

### 5.1.4.2 Parámetros fisicoquímicos

La determinación de los parámetros fisicoquímicos fue realizada en un laboratorio externo acreditado (CRISTAR ZERBI<sup>7</sup>). Los parámetros fisicoquímicos analizados y las técnicas analíticas correspondientes se resumen en la Tabla 5-4.

**Tabla 5-4: Determinación de parámetros fisicoquímicos**

Parámetro	Técnica analítica <sup>1</sup>
pH	4500-H <sup>+</sup>
DBO <sub>5</sub>	5210 B
DQO	5220 B
ST	2540 B
SVT	2540 E
SST	2540 D
SSV	2540 E
SDT	2540 C
Residuo seco (a 180 °C)	2540 C

<sup>1</sup> Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22<sup>a</sup> edición.

### 5.1.4.3 Ecotoxicidad

Se realizó un diagnóstico ecotoxicológico mediante una batería de bioensayos representando cuatro niveles tróficos, según se resume en la Tabla 5-5. Los ensayos de toxicidad fueron realizados en un laboratorio externo (Dr. Baruch<sup>8</sup>).

**Tabla 5-5: Ensayos de toxicidad**

Nivel trófico	Especie	Ensayo	Norma
Fitoplancton (alga)	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Ensayo estático crónico (72 h) de inhibición del crecimiento	EPS/RM/25. Second Edition-March 2007, Environment Canadá.
Zooplancton	<i>Daphnia magna</i>	Ensayo estático agudo (48 h)	Protocolo de Environment Canadá (Report EPS 1/RM/11, julio 1990).
Zoobentos	<i>Hydra attenuata</i>	Ensayo estático agudo (48 h)	Johnson <i>et al.</i> (1990) y Trottier <i>et al.</i> (1997)
Planta vascular	<i>Lactuca sativa</i> var <i>Buttercrunch</i> (semilla de lechuga)	Ensayo estático agudo (5 días)	Rodney Mc Innis, National Water Research Institute, Ontario, Canadá.

<sup>7</sup> Laboratorio Cristar Zerbi, Laboratorio de análisis de aguas, líquidos residuales, y elementos vinculados a la problemática ambiental y a los alimentos, ubicado en Montevideo, Uruguay. Referente técnico: Rosana Cristar Zerbi.

<sup>8</sup> Laboratorio del Dr. Baruch, Laboratorio de diagnóstico ecotoxicológico, ubicado en Montevideo, Uruguay. Referente técnico: Dr. Manuel Baruch.

## 5.2 RESULTADOS

### 5.2.1 Caracterización del efluente en estudio

#### 5.2.1.1 Concentración de PAH

Los resultados de las concentraciones de PAH para cada muestreo se presentan en la Tabla 5-6.

Tabla 5-6: Caracterización del efluente - Concentración de PAH

PAH / Muestreo	Nº 1 Fin de campaña CPA – EE2	Nº 2 Mitad de campaña GES – EE2	Nº 3 Mitad de campaña DRO – EE2	Nº 4 Mitad de campaña DRO – EE2	Nº 5 Fin de campaña DRO – EE2
<b>CPA (ppb)</b>	1.449	280	27	ND	ND
<b>GES (ppb)</b>	ND	88	42	ND	ND
<b>DRO (ppb)</b>	ND	ND	ND	466	2.624
<b>EE2 (ppb)</b>	40	5	6	5	ND

ND: No detectado.

Se observa que hay un incremento significativo de la concentración de PAH en el fin de campaña de producción (cuando se realiza el lavado) respecto a la concentración a mitad de campaña.

Por otra parte, se observa que se siguen detectando concentraciones de PAH luego del fin de campaña respectivo, la cual disminuye a lo largo del tiempo (se produce un efecto de “lavado”).

#### 5.2.1.2 Parámetros fisicoquímicos

Los resultados de los parámetros fisicoquímicos, para cada uno de los muestreos, se resumen en la Tabla 5-7.

Tabla 5-7: Caracterización del efluente - Parámetros fisicoquímicos

Parámetro	Nº 1 Fin de campaña CPA – EE2	Nº 2 Mitad de campaña GES – EE2	Nº 3 Mitad de campaña DRO – EE2	Nº 4 Mitad de campaña DRO – EE2	Nº 5 Fin de campaña DRO – EE2
<b>pH</b>	7,1	7,2	6,9	6,8	6,1
<b>DBO<sub>5</sub> (mg/L)</b>	400	350	760	660	700
<b>DQO (mg/L)</b>	720	540	1.200	1.150	1.200
<b>Relación DBO<sub>5</sub>/DQO</b>	0,56	0,65	0,63	0,57	0,58
<b>ST (mg/L)</b>	1.500	2.090	1.470	2.200	760
<b>SVT (mg/L)</b>	260	180	160	340	220
<b>SST (mg/L)</b>	60	< 20	30	50	50
<b>SSV (mg/L)</b>	40	< 20	< 20	50	35
<b>SDT (mg/L)</b>	1.440	2.070	1.440	2.150	710
<b>Residuo seco (mg/L)</b>	1.460	2.070	1.450	2.100	710

Respecto a los resultados, se observa que:

- El parámetro pH es cercano al neutro, y en todos los casos se encuentra dentro del rango admitido por el Decreto 253/79 y Modificativos para vertido a colector.

- Si bien hay variabilidad en la  $DBO_5$  del efluente, la relación  $DBO_5/DQO$  se mantiene relativamente constante en el orden de 0,6.
- El parámetro  $DBO_5$  es menor o igual que el límite de 700 mg/L establecido por el Decreto 253/79 y Modificativos para vertido a colector, con excepción de una campaña donde se superó dicho límite con un valor de 760 mg/L.
- Prácticamente, el total de sólidos del efluente pertenece a la fracción disuelta, siendo el contenido de sólidos suspendidos de pequeña entidad.
- La fracción volátil, que se asocia al contenido de materia orgánica, es muy pequeña en comparación con el total.

Las características del efluente viabilizan la aplicación de ozono de forma directa en el efluente bruto, sin otro tratamiento previo.

#### 5.2.1.3 Ecotoxicidad

Los resultados de los test de toxicidad se presentan en la Tabla 5-8 para cada uno de los muestreos realizados.

**Tabla 5-8: Caracterización del efluente - Toxicidad (%)**

Bioensayo	Nº 1 Fin de campaña CPA – EE2	Nº 2 Mitad de campaña GES – EE2	Nº 3 Mitad de campaña DRO – EE2	Nº 4 Mitad de campaña DRO – EE2	Nº 5 Fin de campaña DRO – EE2
<i>Daphnia magna (LC<sub>50</sub>)</i>	17,8	25,6	15,9	18,1	17,68
<i>Lactuca sativa (IC<sub>50</sub>)</i>	82,9	>100	>100	67,1	>100
<i>Selenastrum capricornutum (IC<sub>50</sub>)</i>	> 75	11,3	2,3	4,5	20,75
<i>Hydra attenuata (IC<sub>50</sub>)</i>	19,1	22,0	10,9	13,2	10,16

Para calificar el grado de toxicidad se utilizaron las categorías toxicológicas que se indican en la Tabla 5-9, desarrolladas por Bulich (1982) y Coleman & Quereshi (1985) (Castro *et al.*, 2002).

**Tabla 5-9: Categorías toxicológicas**

LC <sub>50</sub> o IC <sub>50</sub> (%)	Índice	Categoría
1 a 25	I	Muy Tóxica
26 a 50	II	Tóxica
51 a 75	III	Moderadamente Tóxica
76 a 99	IV	Levemente Tóxica
100 o +	V	No Tóxica

En general, aunque se considere que cada muestra representa el resultado de una campaña de producción diferente de la planta industrial, los ensayos no indican diferencias en la categorización de las toxicidades, quedando para todos los niveles tróficos en la franja de *Muy Tóxica*, salvo para el caso del bioensayo con *Lactuca sativa* que es *Levemente Tóxica*. Debe considerarse que la posible presencia de compuestos tensoactivos (en los detergentes, por ejemplo) u otros compuestos comunes a todos los procesos, pueden estar produciendo una toxicidad de base que enmascare diferencias entre las matrices con diferentes PAs.

Respecto a la comparación de la toxicidad de este efluente con los efluentes de otras industrias nacionales, analizados a través del Índice PEEP (Prueba de Efectos Ecotoxicológicos Potenciales), los

valores obtenidos (entre 2,13 y 2,82 para un caudal de 15 m<sup>3</sup>/d) lo posicionan significativamente debajo de la media nacional de 3,80 (Castro *et al.*, 2002).

## 5.2.2 Remoción de PAH y ecotoxicidad

### 5.2.2.1 Resultados: Ensayo 1

Para indagar sobre la eficiencia del tratamiento propuesto y las dosis a aplicar, se realizó este primer ensayo con muestra de efluente que correspondía una campaña de producción con LVG y EE2.

En este ensayo se trabajó con un volumen de 80 L de efluente, sin corrección de pH (pH efluente bruto = 6,3). La relación molar O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fue de 4,2. La duración total del ensayo fue de 3 horas, y se tomaron muestras cada 30 min.

En la Tabla 5-10 se presentan la masa aplicada y la dosis resultante (masa total aplicada en el volumen de efluente del ensayo) de O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, para cada tiempo de muestreo.

Tabla 5-10: Ensayo 1 – Dosis de O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Id.	Tiempo (h)	Masa aplicada		Dosis aplicada	
		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (g)	O <sub>3</sub> (g)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	O <sub>3</sub> (mg/L)
BRUTO	0	0,0	0	0,0	0,0
T1	0,5	0,9	5	10,6	62,5
T2	1,0	1,7	10	21,3	125,0
T3	1,5	2,6	15	31,9	187,5
T4	2,0	3,4	20	42,5	250,0
T5	2,5	4,3	25	53,1	312,5
T6	3,0	5,1	30	63,8	375,0

### Remoción de PAH

Los resultados obtenidos para la remoción de LVG y EE2 se presentan en la Tabla 5-11 y en la Figura 5-3 donde se indica la concentración de cada PAH en función de la dosis de O<sub>3</sub>, para una relación molar O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 4,2.

Tabla 5-11: Resultados Ensayo 1 – Remoción de PAH con O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

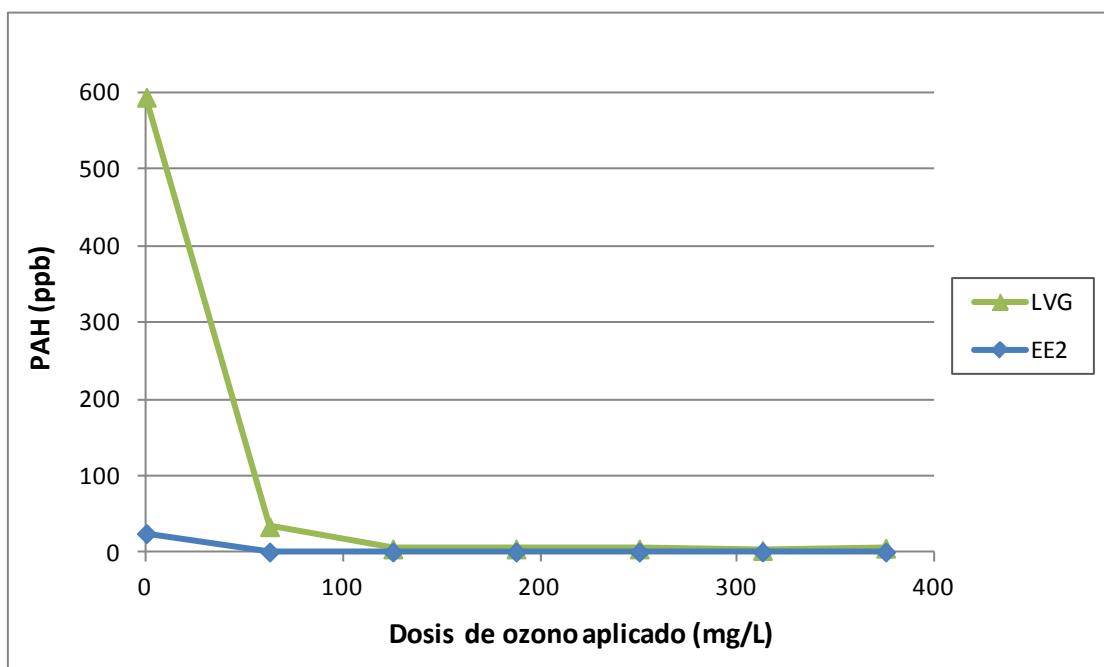
Id.	Dosis O <sub>3</sub> (mg/L)	Levonorgestrel		Ethinilestradiol	
		ppb	Remoción	ppb	Remoción
BRUTO	0,0	594	--	25	--
T1	62,5	34	94 %	ND	> 96 %
T2	125,0	5	99 %	ND	> 96 %
T3	187,5	5	99 %	ND	> 96 %
T4	250,0	5	99 %	ND	> 96 %
T5	312,5	3	99 %	ND	> 96 %
T6	375,0	ND	> 99 %	ND	> 96 %

ND: No detectado.

LD LVG: 6 ppb.

LD EE2: 1 ppb.

Figura 5-3: Ensayo 1 – Remoción de PAH con O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



Como se desprende de los resultados obtenidos, para las dosis y tiempos de contacto aplicados, la eficiencia en remoción de LVG y de EE2 es muy alta, alcanzándose concentraciones por debajo del LD para ambos; la eficiencia de remoción en el caso del LVG fue mayor a 99 % para dosis de 125 mg/L de O<sub>3</sub> y mayor a 96 % en el caso del EE2 para dosis de 62,5 mg/L de O<sub>3</sub>, con una relación molar O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 4,2.

En este sentido, se constató la eficiencia del tratamiento en remoción de los PAH estudiados, incluso para altas concentraciones iniciales como fue el caso del LVG (del orden de 600 ppb).

No fueron determinadas las dosis exactas para las cuales se alcanza el LD en la remoción de estos PAH, ni se ajustó la relación molar O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Se identificó la necesidad de reducir el intervalo para la toma de muestras en el Ensayo 2.

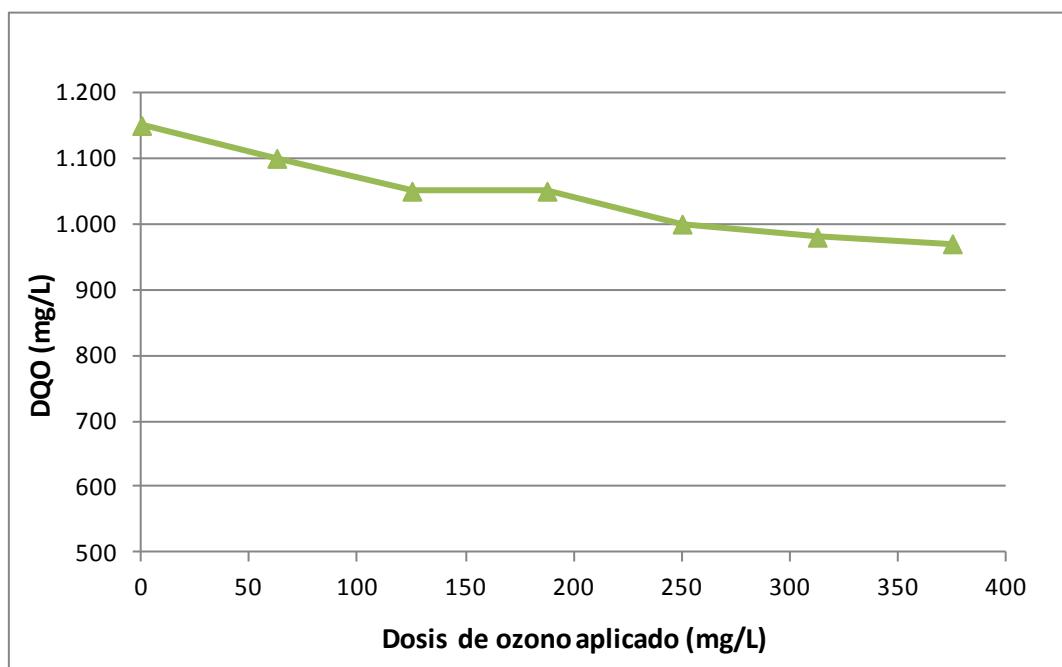
#### Remoción de materia orgánica

En lo que respecta a remoción de materia orgánica, en este primer ensayo se evaluó únicamente la remoción de DQO. Los resultados se presentan en la Tabla 5-12 y en la Figura 5-4 donde se indica la DQO en función de la dosis de O<sub>3</sub>, para una relación molar O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 4,2.

Tabla 5-12: Resultados Ensayo 1 – Remoción de DQO con O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Id.	Dosis O <sub>3</sub> (mg/L)	DQO	
		mg/L	Remoción
<b>BRUTO</b>	0,0	1.150	--
<b>T1</b>	62,5	1.100	4 %
<b>T2</b>	125,0	1.050	9 %
<b>T3</b>	187,5	1.050	9 %
<b>T4</b>	250,0	1.000	13 %
<b>T5</b>	312,5	980	15 %
<b>T6</b>	375,0	970	16 %

**Figura 5-4: Resultados Ensayo 1 - Remoción de DQO con O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**



La eficiencia de remoción de DQO al final el ensayo, para una dosis de 375 mg/L de O<sub>3</sub> y una relación molar O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 4,2, fue de 16 %. Parece ser que el proceso de oxidación con O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es de alguna forma selectivo en los compuestos que degrada, y no se alcanzan altas eficiencias en la remoción global de DQO para esta matriz de efluente.

#### Remoción de color

Si bien este es un parámetro que no fue evaluado de forma específica en el marco de esta investigación, cabe resaltar que durante el ensayo de oxidación se logró una remoción de color significativa, según se puede apreciar en la Figura 5-5.

**Figura 5-5: Resultados Ensayo 1 – Remoción de color**



### 5.2.2.2 Resultados: Ensayo 2

El segundo ensayo de oxidación con la combinación  $O_3/H_2O_2$  se realizó con un efluente generado en base a una matriz del efluente industrial con la adición de una solución con PAH en base etanol.

En este ensayo se trabajó con un volumen de 90 L de efluente. La relación molar  $O_3/H_2O_2$  fue de 3,2. Se aplicó hidróxido de sodio para corregir el pH del efluente bruto, de 6,5, resultando un valor de 7,1 previo al ensayo. La duración total del ensayo fue de 3:45 h, y se tomaron muestras cada 15 min.

En la Tabla 5-10 se presentan la masa aplicada y la dosis resultante de  $O_3$  y  $H_2O_2$ , para cada tiempo de muestreo.

**Tabla 5-13: Ensayo 2 – Dosis de  $O_3$  y  $H_2O_2$**

Id.	Tiempo (h)	Masa aplicada		Dosis aplicada	
		$H_2O_2$ (g)	$O_3$ (g)	$H_2O_2$ (mg/L)	$O_3$ (mg/L)
<b>BRUTO</b>	0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>T1</b>	0,25	0,6	2,5	6,3	27,8
<b>T2</b>	0,50	1,1	5,0	12,6	55,6
<b>T3</b>	0,75	1,7	7,5	18,9	83,3
<b>T4</b>	1,00	2,3	10,0	25,2	111,1
<b>T5</b>	1,25	2,8	12,5	31,5	138,9
<b>T6</b>	1,50	3,4	15,0	37,8	166,7
<b>T7</b>	1,75	4,0	17,5	44,1	194,4
<b>T8</b>	2,00	4,5	20,0	50,4	222,2
<b>T9</b>	2,50	5,7	25,0	63,0	277,8
<b>T10</b>	3,00	6,8	30,0	75,6	333,3
<b>T11</b>	3,50	7,9	35,0	88,1	388,9
<b>T12</b>	3,75	8,5	37,5	94,4	416,7

pH final (T12) = 5,0.

#### Remoción de PAH

Los resultados obtenidos para la remoción de PAH se presentan en la Tabla 5-14 y en la Figura 5-6 donde se indica la concentración de PAH en función de la dosis de  $O_3$ , para una relación molar  $O_3/H_2O_2$  de 3,2.

Como se desprende de los resultados obtenidos, para las dosis y tiempos de contacto aplicados, la eficiencia en remoción es muy alta, superior a 98 % para todos los PAH estudiados a partir de dosis de 140 mg/L de  $O_3$ , con una relación molar  $O_3/H_2O_2$  de 3,2.

Para los PAH GES, CPA, LVG y EE2, la eficiencia de remoción fue superior a 99 % para la dosis inicial de 27,8 mg/L de  $O_3$ , con una relación molar  $O_3/H_2O_2$  de 3,2, alcanzándose concentraciones por debajo del LD para GES y EE2. No fueron determinadas las dosis exactas para las cuales se alcanza el LD en la remoción de estos PAH, ni se ajustó la relación molar  $O_3/H_2O_2$ .

El PAH más resistente a la degradación, esto es, el que requiere mayores dosis de oxidante, resultó ser DRO. Se requieren dosis superiores a 120 mg/L de  $O_3$  para alcanzar concentraciones de DRO por debajo de 50 ppb, y dosis superiores a 195 mg/L de  $O_3$  para alcanzar concentraciones por debajo de 10 ppb, con una relación molar  $O_3/H_2O_2$  de 3,2. Si bien la concentración inicial de DRO es la más elevada, estas dosis son significativamente superiores a las obtenidas para los otros PAH estudiados. Esto se puede deber a que la estructura molecular de la DRO es más compleja en comparación a los otros PAH, y no es tan fácilmente degradada por ataque electroquímico de los radicales  $OH^{\bullet}$ .

Tabla 5-14: Resultados Ensayo 2 – Remoción de PAH con O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Id.	Dosis O <sub>3</sub> (mg/L)	GES		DRO		ACP		LVG		EE2	
		ppb	Rem.	ppb	Rem.	ppb	Rem.	ppb	Rem.	ppb	Rem.
BRUTO	0,0	452	--	3.017	--	1.288	--	413	--	45	--
T1	27,8	ND	> 98,7 %	1.222	59,5 %	4	99,7 %	2	99,5 %	ND	> 97,8 %
T2	55,6	ND	> 98,7 %	502	83,4 %	ND	> 99,4 %	3	99,3 %	ND	> 97,8 %
T3	83,3	ND	> 98,7 %	221	92,7 %	ND	> 99,4 %	3	99,3 %	ND	> 97,8 %
T4	111,1	ND	> 98,7 %	76	97,5 %	ND	> 99,4 %	3	99,3 %	ND	> 97,8 %
T5	138,9	ND	> 98,7 %	36	98,8 %	ND	> 99,4 %	3	99,3 %	ND	> 97,8 %
T6	166,7	ND	> 98,7 %	17	99,4 %	ND	> 99,4 %	3	99,3 %	ND	> 97,8 %
T7	194,4	ND	> 98,7 %	10	99,7 %	ND	> 99,4 %	3	99,3 %	ND	> 97,8 %
T8	222,2	ND	> 98,7 %	3	99,9 %	ND	> 99,4 %	3	99,3 %	ND	> 97,8 %
T9	277,8	ND	> 98,7 %	4	99,9 %	ND	> 99,4 %	3	99,3 %	ND	> 97,8 %
T10	333,3	ND	> 98,7 %	4	99,9 %	ND	> 99,4 %	2	99,5 %	ND	> 97,8 %
T11	388,9	ND	> 98,7 %	4	99,9 %	ND	> 99,4 %	2	99,5 %	ND	> 97,8 %
T12	416,7	ND	> 98,7 %	4	99,9 %	ND	> 99,4 %	2	99,5 %	ND	> 97,8 %

ND: No detectado.

LD GES: 6 ppb.

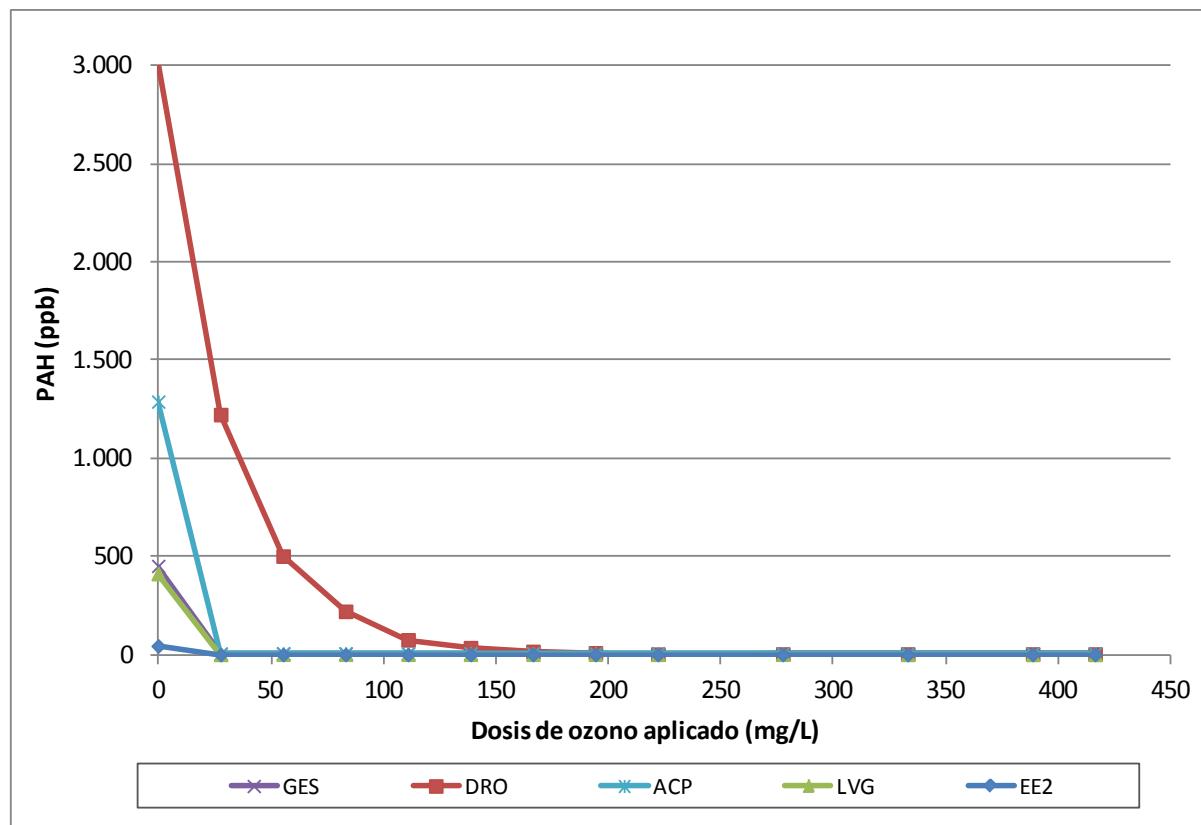
LD DRO: 6 ppb.

LD CPA: 8 ppb.

LD LVG: 6 ppb.

LD EE2: 1 ppb.

Figura 5-6: Resultados Ensayo 2 – Remoción de PAH con O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



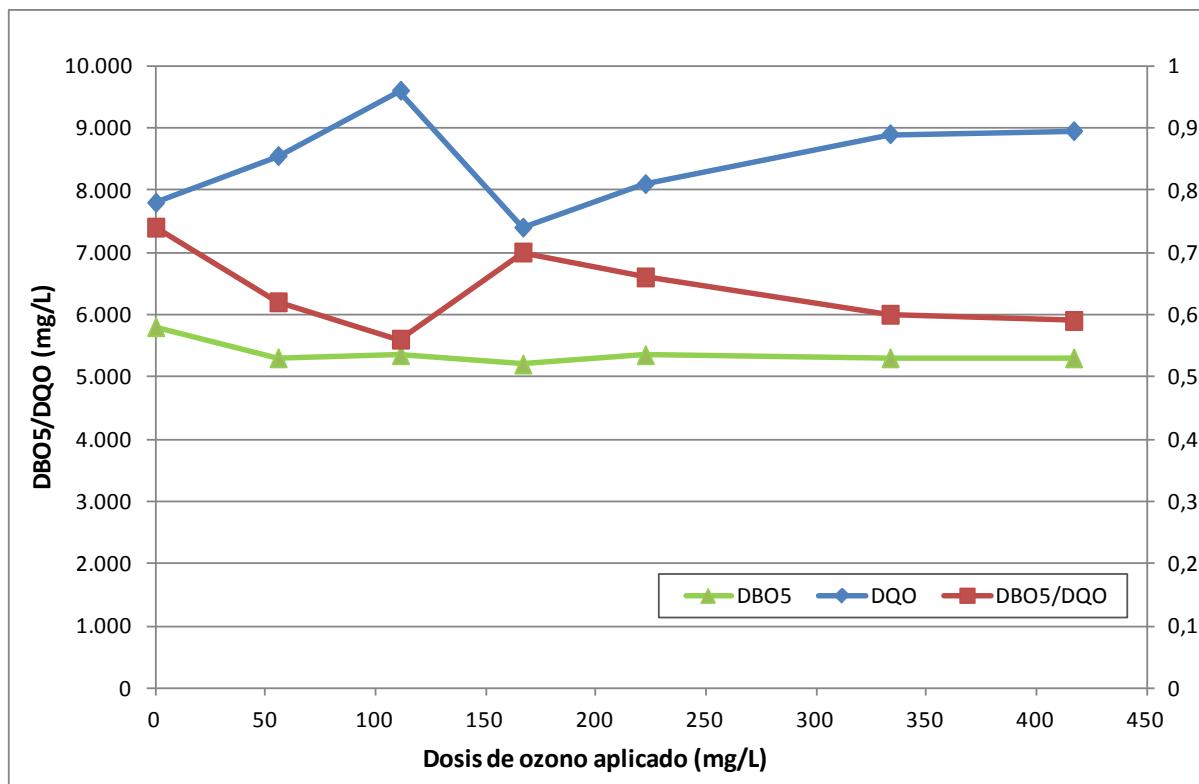
#### Remoción de materia orgánica

En lo que respecta a remoción de materia orgánica, en este ensayo se evaluó la remoción tanto de DQO como de DBO<sub>5</sub>.

Los resultados se presentan en la Tabla 5-15 y en la Figura 5-7 donde se indica la DQO, la DBO<sub>5</sub> y la relación DBO<sub>5</sub>/DQO en función de la dosis de O<sub>3</sub>, para una relación molar O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 3,2.

Tabla 5-15: Resultados Ensayo 2 – Remoción de DQO y DBO<sub>5</sub> con O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Id.	Dosis O <sub>3</sub> (mg/L)	DQO		DBO <sub>5</sub>		Relación DBO <sub>5</sub> /DQO
		mg/L	Remoción	mg/L	Remoción	
BRUTO	0,0	7.800	--	5.800	--	0,74
T2	55,6	8.550	-10%	5.300	9%	0,62
T4	111,1	9.600	-23%	5.350	8%	0,56
T6	166,7	7.400	5%	5.200	10%	0,70
T8	222,2	8.100	-4%	5.350	8%	0,66
T10	333,3	8.900	-14%	5.300	9%	0,60
T12	416,7	8.950	-15%	5.300	9%	0,59

Figura 5-7: Resultados Ensayo 2 – Remoción de DQO y  $DBO_5$  (izq.) y relación  $DBO_5/DQO$  (der.) con  $O_3$  y  $H_2O_2$ 

En cuanto a la  $DBO_5$ , la remoción al final el ensayo, para una dosis máxima de 417 mg/L de  $O_3$  y una relación molar  $O_3/H_2O_2$  de 3,2, fue de 9 %. Al igual que lo observado en el Ensayo 1, parece ser que el proceso de oxidación con  $O_3/H_2O_2$  es de alguna forma selectivo en los compuestos que degrada, y no se alcanzan altas eficiencias en la remoción global de materia orgánica.

En cuanto a la DQO, el valor al final el ensayo de 8.950 mg/L resultó un 15 % superior al valor del efluente bruto de 7.800 mg/L, para una dosis máxima de 417 mg/L de  $O_3$  y una relación molar  $O_3/H_2O_2$  de 3,2. Además, durante el ensayo se observó tanto un aumento como una disminución de la DQO respecto al valor del efluente bruto para distintas dosis de  $O_3$ . Esta fluctuación también se observó para el parámetro  $DBO_5$ , pero a menor escala y estando siempre por debajo del valor del efluente bruto.

La fluctuación del valor de la DQO durante el desarrollo de procesos de ozonización de efluentes ya fue observada por Schulz *et al.* (2012), más apreciable a mayores tiempos de contacto; según los autores, dicha fluctuación se podría deber a la formación de compuestos intermediarios que interfieren en las medidas de DQO (por ejemplo, la oxidación de compuestos orgánicos de menor peso molecular usualmente requiere de mayor cantidad de oxígeno, resultando en mayores valores de DQO). Sin embargo, fluctuaciones con valores de DQO por encima del valor inicial del efluente bruto no han sido reportadas, lo cual sugiere que pudo haber algún error o alguna interferencia en la determinación analítica de la DQO.

Comparando la biodegradabilidad del efluente bruto y luego del proceso de oxidación, a través de la relación  $DBO_5/DQO$ , se observa que hubo una disminución en la biodegradabilidad al final del ensayo; la relación  $DBO_5/DQO$  disminuyó de 0,74 en el efluente bruto a 0,59 luego del proceso de oxidación.

Analizando los dos factores citados anteriormente, podría ser factible que en la determinación del valor inicial de DQO haya habido un error debido a deficiencias en la mezcla de la muestra del efluente con la solución de etanol<sup>9</sup>. La relación  $\text{DBO}_5/\text{DQO}$  obtenida en los muestreos finales del ensayo es del orden de la que se ha determinado como representativa del efluente en los muestreos y ensayos realizados, de 0,6. Adoptando esta relación, la DQO inicial del ensayo sería del orden de 9.600 mg/L, y en este contexto las fluctuaciones estarían por debajo del valor del efluente bruto.

Es claro que la adición la solución de PAH preparada en base a etanol generó interferencias en el proceso de oxidación en comparación con el efluente original, sin el agregado de etanol. Por un lado, los valores de DQO y de  $\text{DBO}_5$  resultaron significativamente mayores que las del efluente bruto previo al agregado de la solución de etanol. Por otro lado, la oxidación del etanol pudo haber generado otros compuestos que interfirieron en la calidad del efluente; la disminución del pH al finalizar el ensayo podría ser explicada por la formación de ácido acético como producto de la oxidación del etanol. La calidad de la matriz del efluente de este ensayo se vio significativamente afectada; sin embargo, esta no es una condición de operación real y escapa del objetivo de este trabajo.<sup>10</sup>

#### Remoción de detergentes

También se evaluó la eficiencia en remoción de detergentes. Los resultados se presentan en la Tabla 5-16 y en la Figura 5-8 donde se indica la concentración de detergentes en función de la dosis de ozono, para una relación molar  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  de 3,2.

La eficiencia en remoción de detergentes al final el ensayo, para una dosis de 417 mg/L de  $\text{O}_3$  y una relación molar  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  de 3,2, fue de 72 %. A su vez, se obtuvo una eficiencia superior a 65 % para dosis de hasta 111 mg/L de  $\text{O}_3$ .

Esto muestra que el proceso de oxidación con  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  es eficiente en la remoción de detergentes, usualmente presentes en altas concentraciones en los efluentes de la industria farmacéutica. Sin embargo, cabe señalar que la eficiencia máxima de remoción parece estar limitada, ya que a partir de cierta dosis de  $\text{O}_3$  (111 mg/L) no se observó un aumento significativo de la eficiencia con un aumento significativo de la dosis de  $\text{O}_3$ .

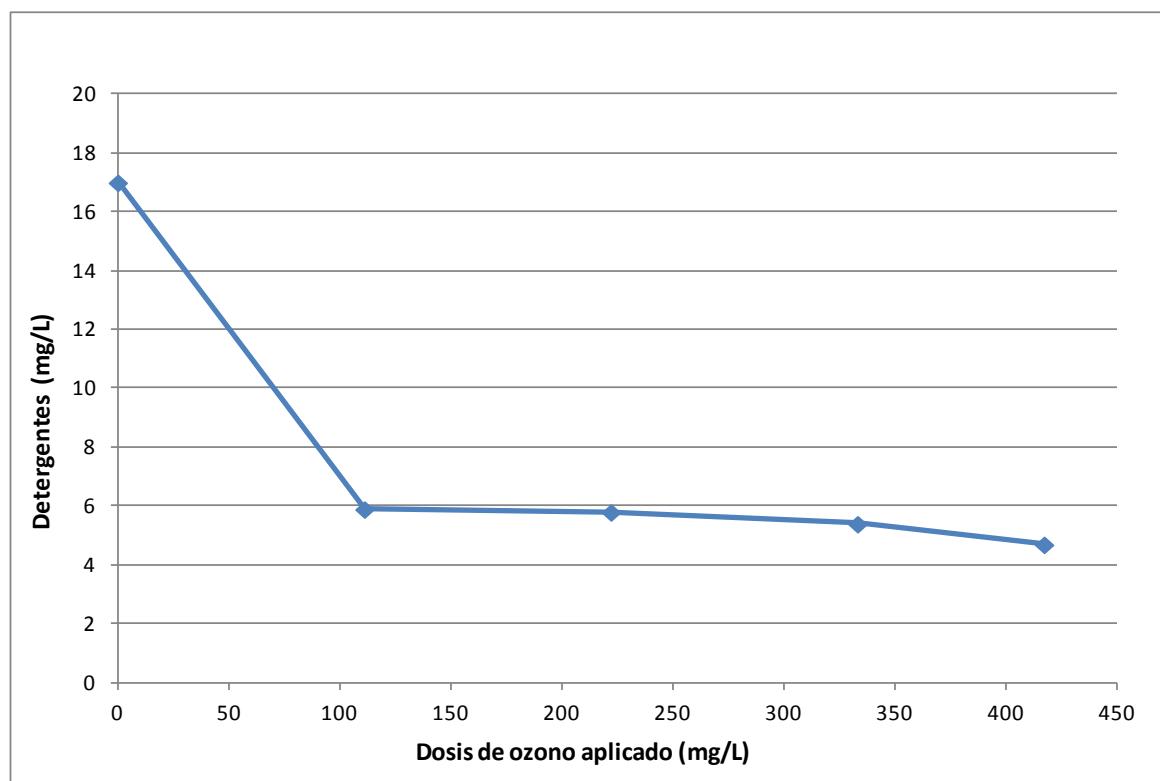
**Tabla 5-16: Resultados Ensayo 2 – Remoción de detergentes con  $\text{O}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$**

Id.	Dosis $\text{O}_3$ (mg/L)	Detergentes	
		mg/L	Remoción
<b>BRUTO</b>	0,0	17	--
<b>T4</b>	111,1	5,9	65,3%
<b>T8</b>	222,2	5,8	65,9%
<b>T10</b>	333,3	5,4	68,2%
<b>T12</b>	416,7	4,7	72,4%

---

<sup>9</sup> Luego de iniciado el ensayo de oxidación, el sistema de recirculación garantiza una buena mezcla en pocos minutos, por lo cual en los muestreos posteriores estaría bien ecualizado.

<sup>10</sup> Para determinar la incidencia del etanol en el proceso de oxidación y en los valores de DQO para diferentes dosis de oxidantes es necesario realizar más ensayos, cuantificando las cantidades de etanol y ácido acético formado, y otros posibles compuestos que pudieran estar interfiriendo con el pH y con la DQO (por ejemplo, cloruros).

**Figura 5-8: Resultados Ensayo 2 – Remoción de detergentes con O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

### 5.2.2.3 Resultados: Ensayo 3

Este ensayo se realizó con muestra de efluente que correspondía a la campaña de producción con DRO y EE2.

Se trabajó con un volumen de 70 L de efluente en cada caso. No fue necesario realizar una corrección de pH; el pH del efluente bruto era de 7,3. Para el caso que se aplicó H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, la relación molar O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fue de 2,8. La duración total de cada ensayo fue de 1,5 horas, y se tomaron muestras cada 15 en la primera hora y luego al final del ensayo.

En la Tabla 5-17 se presentan la masa aplicada y la dosis resultante de O<sub>3</sub> y de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, para cada tiempo de muestreo.

**Tabla 5-17: Ensayo 3 – Dosis de O<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Id.	Tiempo (h)	Masa aplicada		Dosis aplicada	
		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (g)	O <sub>3</sub> (g)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	O <sub>3</sub> (mg/L)
<b>BRUTO</b>	0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>T1</b>	0,25	0,6	2,5	9,1	35,7
<b>T2</b>	0,50	1,3	5,0	18,2	71,4
<b>T3</b>	0,75	1,9	7,5	27,3	107,1
<b>T4</b>	1,00	2,6	10,0	36,4	142,9
<b>T5</b>	1,50	3,8	15,0	54,6	214,3

pH final (T5) con agregado de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 7,0.

pH final (T5) sin agregado de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 7,1.

### Remoción de PAH

Los resultados obtenidos para el caso con agregado de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y para el caso sin agregado de  $\text{H}_2\text{O}_2$  se presentan en la Tabla 5-18 para la remoción de EE2 y en la Tabla 5-19 y para la remoción de DRO. Se indica la concentración de cada PAH en función de la dosis de  $\text{O}_3$  aplicada. En la Figura 5-9 se presentan en un mismo gráfico los resultados correspondientes a la remoción de DRO.

**Tabla 5-18: Resultados Ensayo 3 – Remoción de EE2 con y sin agregado de  $\text{H}_2\text{O}_2$**

Id.	Dosis $\text{O}_3$ (mg/L)	$\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$		Sólo $\text{O}_3$	
		ppb	ppb	ppb	ppb
<b>BRUTO</b>	0,0	6		5	
<b>T1</b>	35,7	ND		ND	
<b>T2</b>	71,4	ND		ND	
<b>T3</b>	107,1	ND		ND	
<b>T4</b>	142,9	ND		ND	
<b>T5</b>	214,3	ND		ND	

ND: No detectado.

LD EE2: 1 ppb.

**Tabla 5-19: Resultados Ensayo 3 – Remoción de DRO con y sin agregado de  $\text{H}_2\text{O}_2$**

Id.	Dosis $\text{O}_3$ (mg/L)	$\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$		Sólo $\text{O}_3$	
		ppb	Remoción	ppb	Remoción
<b>BRUTO</b>	0,0	547	--	545	--
<b>T1</b>	35,7	360	34%	239	56%
<b>T2</b>	71,4	199	64%	114	79%
<b>T3</b>	107,1	113	79%	42	92%
<b>T4</b>	142,9	69	87%	17	97%
<b>T5</b>	214,3	30	95%	7	99%

ND: No detectado.

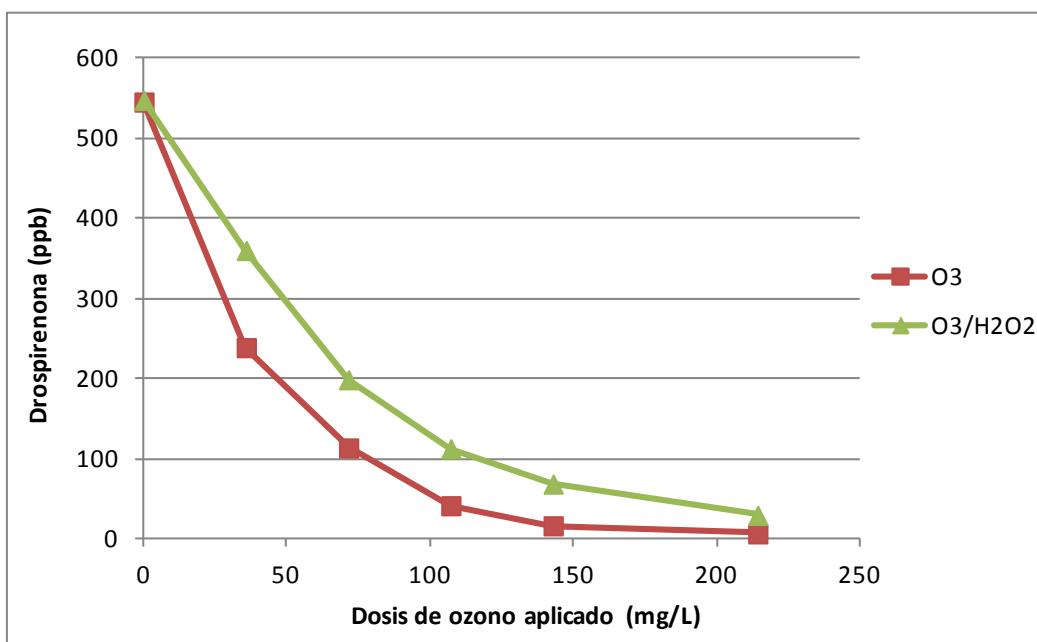
LD DRO: 6 ppb.

En el caso del EE2, la concentración alcanza valores por debajo del LD para dosis menores a 36 mg/L de  $\text{O}_3$ , tanto con o sin el agregado de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , por lo tanto no es posible inferir diferencias entre uno u otro proceso de oxidación. De todas formas, al igual que en los otros ensayos, se constata la alta eficiencia de estos procesos de oxidación en la remoción de EE2.

Para el caso de la DRO, según se desprende de los resultados obtenidos para las dosis y tiempos de contacto aplicados, la eficiencia en remoción es mayor mediante el proceso de oxidación sólo con  $\text{O}_3$  que con la combinación  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  a relación molar  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  de 2,8; en el primer caso se obtuvieron eficiencias de remoción mayores a 90 % para dosis  $< 107$  mg/L de  $\text{O}_3$ , en tanto que con la combinación  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  fueron necesarias dosis  $> 143$  mg/L de  $\text{O}_3$  para alcanzar dicha eficiencia.

Este resultado no se debe considerar como contradictorio con los resultados reportados en la bibliografía, en el sentido de que el agregado de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en los procesos de oxidación con  $\text{O}_3$  aumenta la formación de radicales  $\text{OH}^\bullet$ , aumentando la eficiencia del proceso. En este ensayo se utilizó una relación molar  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  de 2,8, superior a 2 que es la relación molar óptima según se explicitó en la sección 3.4. El exceso de  $\text{H}_2\text{O}_2$  podría haber generado reacciones competitivas capturando los radicales  $\text{OH}^\bullet$  formados, disminuyendo así la eficiencia de degradación del proceso de oxidación.

Figura 5-9: Resultados Ensayo 3 – Remoción de drospirenona con y sin agregado de  $\text{H}_2\text{O}_2$

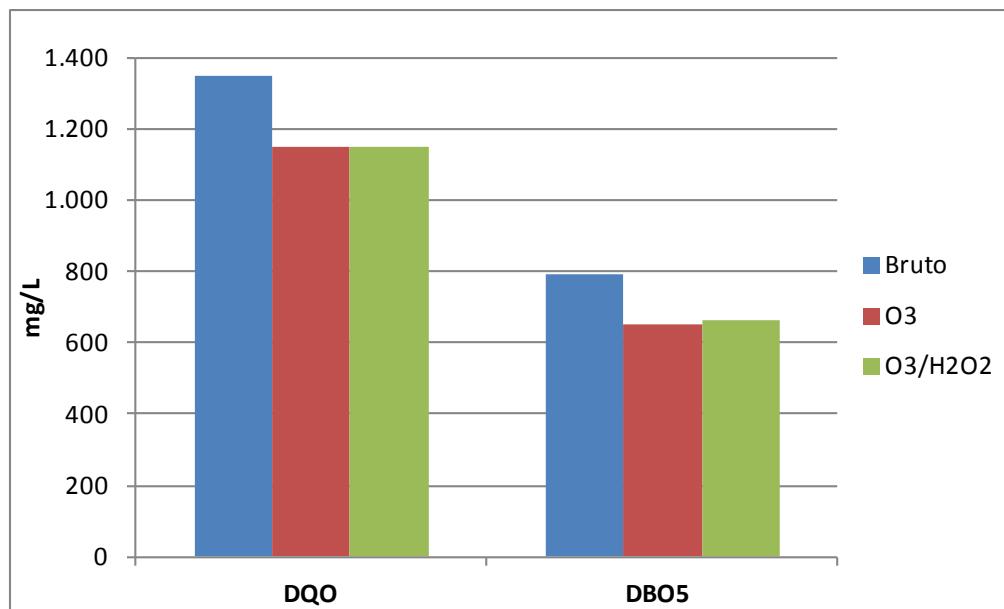


Por otra parte, al igual que en el Ensayo 2, se observó que la DRO es el PAH más resistente a la degradación por este tipo de tratamiento ya que requiere mayores dosis de oxidante que el resto de los PAH estudiados.

#### Remoción de materia orgánica

En lo que respecta a remoción de materia orgánica, se evaluó la remoción de DQO y  $\text{DBO}_5$  considerando el inicio y el final de cada ensayo. Los resultados se presentan en la Figura 5-10 donde se indica la DQO y  $\text{DBO}_5$  inicial y final para cada ensayo.

Figura 5-10: Resultados Ensayo 3 – Remoción de DQO y  $\text{DBO}_5$  con y sin agregado de  $\text{H}_2\text{O}_2$



En cuanto a la remoción de  $\text{DBO}_5$  y DQO, no se observan diferencias significativas con o sin el agregado de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . En el caso de oxidación sólo con  $\text{O}_3$ , la eficiencia de remoción al final el ensayo, para una dosis máxima de 214 mg/L de  $\text{O}_3$ , fue de 18 % para la  $\text{DBO}_5$  y de 15 % para la DQO. En el

caso de oxidación con  $O_3/H_2O_2$ , la eficiencia de remoción al final el ensayo, para una dosis máxima de 214 mg/L de  $O_3$  y una relación molar  $O_3/H_2O_2$  de 2,8, fue de 16 % para la  $DBO_5$  y de 15 % para la DQO.

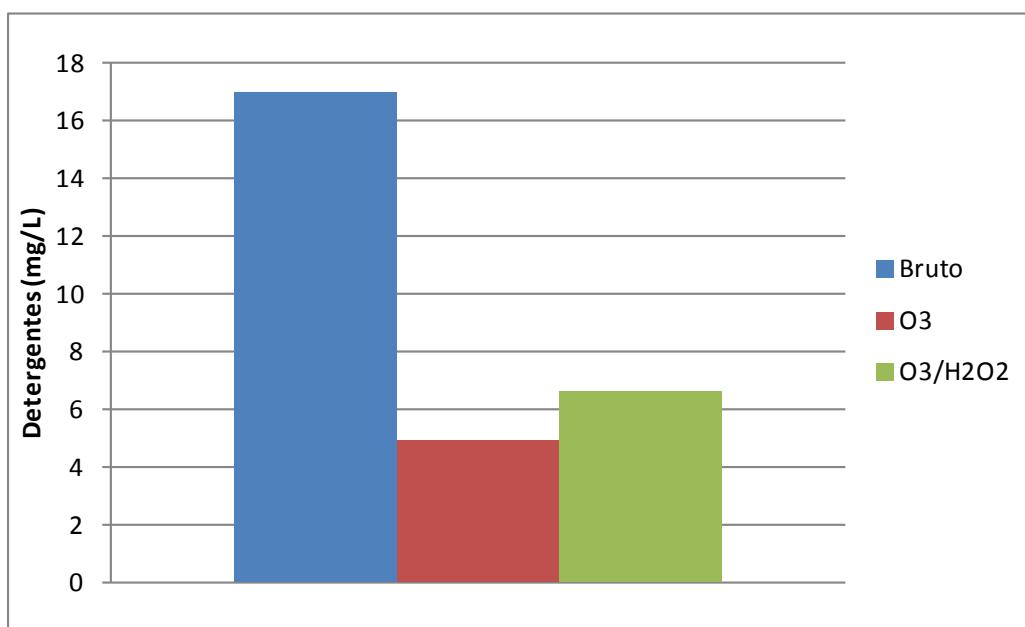
Al igual que lo observado en los ensayos 1 y 2, parece ser que el proceso de oxidación con  $O_3/H_2O_2$  es de alguna forma selectivo en los compuestos que degrada, y no se alcanzan altas eficiencias en la remoción global de materia orgánica.

Comparando la biodegradabilidad del efluente bruto y luego del proceso de oxidación, a través de la relación  $DBO_5/DQO$ , se observa que hubo una leve disminución en la biodegradabilidad al final del ensayo con y sin el agregado de  $H_2O_2$ ; la relación  $DBO_5/DQO$  disminuyó de 0,59 en el efluente bruto a 0,57 luego del proceso de oxidación.

#### Remoción de detergentes

Se evaluó la remoción de detergentes considerando el inicio y el final de cada ensayo. Los resultados se presentan en la Figura 5-11 donde se indica la concentración inicial y final para cada ensayo.

**Figura 5-11: Resultados Ensayo 3 – Remoción de Detergentes con y sin agregado de  $H_2O_2$**



En cuanto a la remoción de detergentes, se observa mayor eficiencia en el caso de oxidación sólo con  $O_3$ , donde la eficiencia de remoción al final el ensayo, para una dosis máxima de 214 mg/L de  $O_3$ , fue de 71 %; en tanto en el caso de oxidación con  $O_3/H_2O_2$  fue de 61 % para una dosis máxima de 214 mg/L de  $O_3$  y una relación molar  $O_3/H_2O_2$  de 2,8. Al igual que lo explicitado en el caso de la remoción de DRO, la diferencia puede estar influenciada por un posible exceso de  $H_2O_2$  que hubiera generado reacciones competitivas capturando los radicales  $OH^*$  formados, disminuyendo así la eficiencia de degradación del proceso de oxidación.

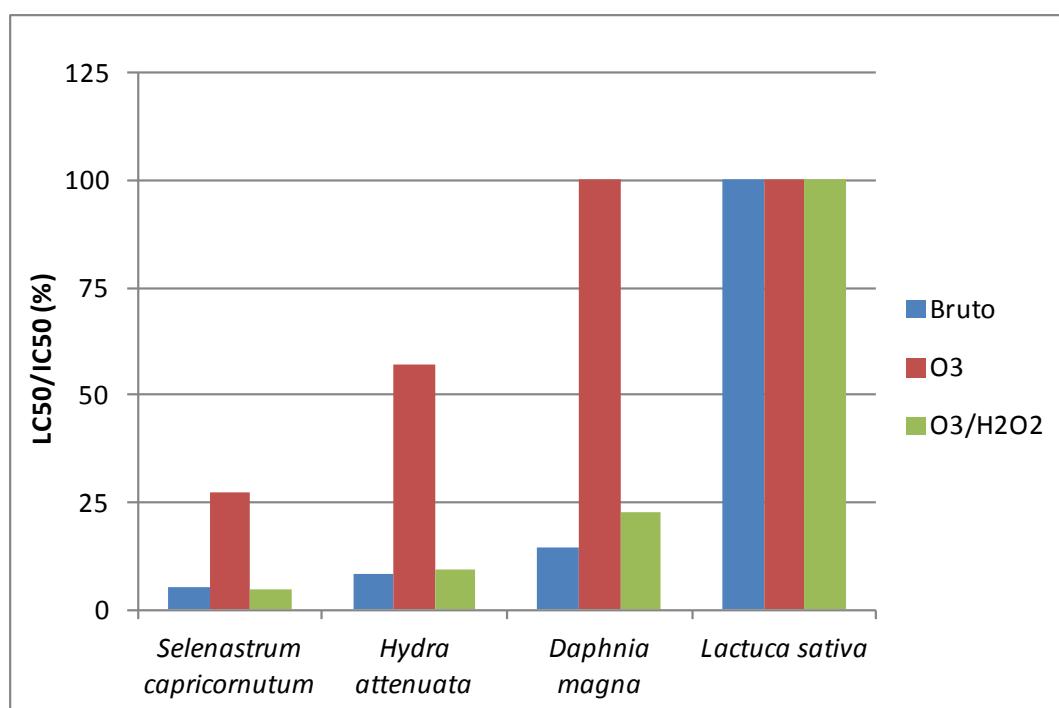
Más allá de las diferencias en las eficiencias, los resultados muestran que ambos procesos de oxidación son eficientes en la remoción de detergentes.

#### Ecotoxicidad

Los resultados de toxicidad para los bioensayos en los 4 niveles tróficos considerados se presentan en la Tabla 5-20 y en la Figura 5-12, donde se indica el valor inicial y final del  $LC_{50}$  o del  $IC_{50}$  para cada ensayo. También se presenta el grado de toxicidad en las correspondientes categorías toxicológicas.

Tabla 5-20: Ensayo 3 – Resultados de Toxicidad con y sin agregado de  $H_2O_2$ 

Bioensayo	Bruto	$O_3$	$O_3/H_2O_2$
<i>Daphnia magna</i> ( $LC_{50}$ )	14,6 % I - Muy Tóxico	> 100 % V - No Tóxico	22,9 % I - Muy Tóxico
<i>Lactuca sativa</i> ( $IC_{50}$ )	> 100 % V - No Tóxico	> 100 % V - No Tóxico	> 100 % V - No Tóxico
<i>Selenastrum capricornutum</i> ( $IC_{50}$ )	5,23 % I - Muy Tóxico	27,54 % II - Tóxico	5,03 % I - Muy Tóxico
<i>Hydra attenuata</i> ( $IC_{50}$ )	8,2 % I - Muy Tóxico	57,3 % III - Moderadamente Tóxico	9,4 % I - Muy Tóxico

Figura 5-12: Resultados Ensayo 3 - Reducción de Toxicidad con y sin agregado de  $H_2O_2$ 

En cuanto a la ecotoxicidad, se obtuvieron resultados concluyentes en el caso de la oxidación sólo con  $O_3$ , donde se alcanzó una reducción apreciable de la toxicidad; el efluente bruto pasó de la categoría *Muy tóxico* en todos los niveles tróficos (salvo *Lactuca sativa*, para la que es *No tóxico*) a la categoría *No tóxico* para la *Daphnia magna*, Tóxico para el *Selenastrum capricornutum* y *Moderadamente Tóxico* para la *Hydra attenuata* al finalizar el ensayo. En el caso de la oxidación con  $O_3/H_2O_2$ , no hubo un cambio de categoría en ninguno de los niveles tróficos.

El índice PEEP luego del ensayo sólo con  $O_3$  bajó a 1,61, reducción significativa respecto al índice PEEP del efluente bruto de 2,64. En el caso de la oxidación con  $O_3/H_2O_2$ , no se obtuvo una disminución significativa del PEEP, que bajó de 2,64 a 2,58.

Considerando que en ambos procesos de oxidación se obtuvo una remoción efectiva de PAH y detergentes, es posible que las diferencias en cuanto a la toxicidad del efluente tratado por uno u otro proceso de oxidación se explique por la presencia de una concentración residual de oxidante (en este caso, de  $H_2O_2$ ) que está generando efectos tóxicos adicionales a los de la matriz de efluente, aumentando la toxicidad. La relación molar  $O_3/H_2O_2$  de 2,8, superior a 2 que es la relación molar óptima, podría generar un exceso de  $H_2O_2$  que queda disponible para seguir reaccionando luego de su aplicación.

### 5.3 CONCLUSIONES

Analizados los resultados obtenidos, a continuación se presentan las principales conclusiones del trabajo realizado:

- El efluente bajo estudio de la industria farmacéutica de producción de ACO contiene altas concentraciones de distintos PAH según la campaña de producción, que van desde ppb hasta ppm (muy superiores a las concentraciones ambientales de riesgo), y presenta alta toxicidad para los cuatro niveles tróficos analizados.
- Las características de la matriz del efluente presentan pocas desviaciones a pesar de la alta variabilidad en la producción de la industria; las mismas son favorables para que el efluente sea sometido a un tratamiento de oxidación directa, cumpliendo con las limitaciones particulares de la industria frente a la aplicación de otro tipo de tratamiento (por ejemplo, un tratamiento biológico).
- Los tratamientos mediante POA sólo con  $O_3$  y con  $O_3/H_2O_2$  resultaron eficientes en la remoción de los PAH presentes en el efluente estudiado: DRO, LVG, GES, CPA y EE2, en las condiciones de los ensayos realizados.
- Las dosis de  $O_3$  resultaron superiores a las reportadas en la bibliografía para los mismos PAH pero en matrices en base a agua destilada o desionizada. En efluentes, donde la matriz es más compleja y hay presencia de una diversidad de compuestos que compiten por el oxidante, la demanda de ozono es significativamente mayor. En este sentido, cada matriz debe ser estudiada de forma específica para definir la dosis de ozono necesaria para remover cada contaminante objetivo.
- El estrógeno EE2 y los progestágenos LVG, GES y CPA resultaron más fácilmente degradados; el progestágeno DRO resultó significativamente más resistente a la degradación, esto es, requiere mayores dosis de oxidante para alcanzar las mismas eficiencias de remoción. Para alcanzar concentraciones por debajo de 50 ppb (valor sugerido en las Guías 2007 de la IFC) para cada uno de los PAH estudiados, se requiere una dosis máxima de  $O_3$  del orden de 130 mg/L.
- La eficiencia en remoción de materia orgánica es relativamente baja, y no se observan diferencias significativas con o sin el agregado de  $H_2O_2$ . La biodegradabilidad del efluente determinada a partir de la relación  $DBO_5/DQO$  tiende a disminuir tanto con el proceso de oxidación sólo con  $O_3$  como el proceso de oxidación con  $O_3/H_2O_2$ .
- Tanto el proceso de oxidación sólo con  $O_3$  como el proceso de oxidación con  $O_3/H_2O_2$  son eficientes en la remoción de detergentes (se alcanzaron eficiencias superiores a 50 % para dosis del orden de 100 mg/L de  $O_3$ ). La eficiencia máxima de remoción parece estar limitada, ya que a partir de cierta dosis de  $O_3$  el incremento de ésta no se traduce en un aumento significativo de la eficiencia.
- Los procesos de oxidación no aumentaron la ecotoxicidad del efluente tratado respecto a la del efluente bruto, por lo que la matriz conteniendo los subproductos de oxidación formados luego del tratamiento, no resultó más tóxica que la matriz original. En el caso de la oxidación sólo con  $O_3$  se logró una reducción apreciable de la ecotoxicidad, en tanto en el proceso de oxidación con  $O_3/H_2O_2$  no hubo una reducción apreciable, posiblemente debido a la presencia de  $H_2O_2$  residual.

## 5.4 LIMITACIONES Y SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS

Los ensayos desarrollados en el marco de este caso de estudio tuvieron ciertas limitaciones que es importante presentar de forma explícita, de modo de que puedan ser tenidas en cuenta para investigaciones futuras y en la comparación de resultados con otros estudios.

En primer lugar, según ya fue descrito, las dosis de O<sub>3</sub> informadas corresponden a dosis aplicadas, esto es, a la dosis que surge de considerar la producción del equipo generador de ozono; debido a limitaciones en el equipamiento experimental, no se determinó la dosis de O<sub>3</sub> consumido, que representa la dosis que efectivamente reacciona o participa en el proceso de oxidación.

El O<sub>3</sub> consumido se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\text{O}_3 \text{ consumido (mg/L)} = \text{O}_3 \text{ aplicado (mg/L)} - \text{O}_3 \text{ en el off-gas} - \text{O}_3 \text{ residual en la fase líquida}$$

En este caso:

- No se determinó de forma directa la producción de O<sub>3</sub> del generador; se consideró como dosis aplicada la que surge de considerar la producción nominal del equipo generador de ozono. Según consultas realizadas al proveedor de estos equipos, no hay diferencias apreciables entre la producción nominal y la producción real.
- No se determinó la concentración de O<sub>3</sub> en el off-gas, esto es, la cantidad de O<sub>3</sub> que no se transfiere a la fase líquida. Cabe señalar que, por las características del efluente, donde la demanda de O<sub>3</sub> es alta, las pérdidas de O<sub>3</sub> en el off-gas tienden a ser similares en todos los ensayos para la misma instalación.
- No se determinó el O<sub>3</sub> residual en la fase líquida, esto es, la cantidad de O<sub>3</sub> que sí se transfiere a la fase líquida pero no reacciona. Cabe señalar que se realizaron medidas indirectas de O<sub>3</sub> residual mediante el método colorimétrico con DPD (N,N-dietil-p-fenilendiamina) utilizado para medir cloro residual, que también reacciona con el ozono; los resultados siempre estuvieron por debajo del LD (< 0,1 mg/L). Esto concuerda con el hecho de que la demanda de O<sub>3</sub> en efluentes es alta, por lo que las concentraciones de O<sub>3</sub> residual podrían resultar despreciables.

Por lo expuesto, las dosis de O<sub>3</sub> consumido son menores a las dosis aplicadas informadas en este estudio. Para trabajos futuros se sugiere implementar la medición de forma sistemática de la concentración de O<sub>3</sub> en el off-gas y de la concentración de O<sub>3</sub> residual en la fase líquida, y de ser posible, determinar la producción efectiva de O<sub>3</sub> del generador si la escala del equipo lo permite.

En segundo lugar, no se determinaron las dosis de O<sub>3</sub> necesarias para remover cada PAH por debajo de su LD, o para determinar una eficiencia específica objetivo; el procedimiento para la toma de muestras fue definido en función de intervalos de tiempo fijos. Tampoco se optimizaron las dosis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de modo de obtener las mayores eficiencias de remoción. Sin detrimento de lo anterior, los resultados sí son comparables de forma cualitativa en cuanto a las eficiencias de remoción de los distintos PAH estudiados. Para trabajos futuros se sugiere disminuir el intervalo de tiempo adoptado, considerando una mayor densidad de toma de muestras en las primeras etapas del ensayo, y variar la relación molar O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (al menos 3 relaciones distintas tomando como base la relación de 2) de forma de poder determinar cuál resultaría más eficiente para la matriz bajo estudio.

En tercer lugar, no se determinaron algunos parámetros que podrían llegar a ser importantes a la hora de analizar el proceso de oxidación y las reacciones del O<sub>3</sub> en la matriz del efluente, complementando la interpretación de los resultados:

- No se determinó la alcalinidad del efluente bruto. La presencia de carbonatos y/o bicarbonatos podría generar una interferencia en el proceso de oxidación, inhibiendo el proceso mediante la captura de los radicales OH<sup>•</sup>. Esto es un parámetro que podría generar una mayor o menor demanda de O<sub>3</sub> dependiendo de su concentración en la matriz.
- No se determinó el COT o COD del efluente bruto ni del efluente durante el desarrollo de los ensayos de oxidación, que podrían complementar el análisis de las mediciones de DQO e indicar el grado de mineralización del efluente luego del tratamiento.
- No se determinó la absorbancia UV 254 nm del efluente bruto ni del efluente durante el desarrollo de los ensayos de oxidación, que podrían indicar la cantidad de compuestos fácilmente oxidados por el O<sub>3</sub> y la eficiencia de remoción de los mismos luego del tratamiento.

Para trabajos futuros se sugiere incorporar la determinación de estos parámetros de forma de poder contar con mayor información a la hora de sacar conclusiones de los ensayos realizados y poder comparar las dosis necesarias con otras matrices de efluentes.

Otro aspecto a destacar es el valor de los LD de las técnicas analíticas utilizadas para la determinación de las concentraciones de PAH, todas en el rango de ppb (μg/L). Si bien las eficiencias de remoción fueron muy altas, permitiendo alcanzar concentraciones por debajo del LD para todos los PAH estudiados, estos LD son muy altos en relación a las concentraciones ambientales de riesgo, que se encuentran en el orden de ng/L. En el caso de contar con el equipamiento experimental necesario, se sugiere trabajar con LD en el orden de ppt de forma de determinar si la remoción resulta efectiva en el rango de las concentraciones ambientales de riesgo de los PAH.

Por último y alineado con lo anterior, si bien se realizaron ensayos de ecotoxicidad del efluente bruto y del efluente luego de los ensayos de oxidación, estos ensayos se hicieron con el objetivo de evaluar un posible aumento de toxicidad debido a la formación de subproductos de la oxidación, y no para evaluar la remoción de los efectos específicos de los PAH. No se evaluó de forma específica la remoción de estrogenicidad en complemento a la remoción de cada PAH, la cual no puede ser evaluada mediante los bioensayos utilizados en este caso de estudio. Para trabajos futuros se sugiere implementar ensayos que permitan evaluar la remoción de estrogenicidad de forma específica, como ser ELISA o YES.

# **CAPÍTULO 6**

# **SÍNTESIS FINAL**

## **6. SÍNTESIS FINAL**

### **6.1 PRINCIPALES CONCLUSIONES**

En este trabajo se ha abordado el problema de la contaminación por PAH usados en la fabricación de ACO, buscando obtener una primera aproximación a la realidad de Uruguay donde los antecedentes son muy escasos. El abordaje se realizó en tres grandes módulos:

- El estado del arte en cuanto a la caracterización de PAH, su ocurrencia y efectos en el ambiente, posibles tecnologías de remoción y aspectos referentes a la regulación ambiental.
- Una evaluación primaria a nivel nacional basada en los datos de consumo de ACO en Uruguay.
- Una aplicación experimental para la remoción de PAH del efluente de una industria farmacéutica mediante ozonización.

Si bien todavía quedan muchas cuestiones por resolver y se requiere más investigación sobre la ocurrencia y los efectos ambientales de los PAH utilizados en la fabricación de ACO, el ingreso de estos compuestos en el ambiente es un hecho, y los efectos ecotoxicológicos a muy bajas concentraciones están comprobados, tornándolos contaminantes de riesgo ambiental.

A nivel internacional, si bien está siendo prioritaria la investigación sobre estos contaminantes, aún no se han definido estándares para su control. La falta de información dificulta la toma de decisiones, y en nuestro país la Propuesta de Modificación del Decreto 253/979 y modificativos elaborada por GESTA Agua en el marco de la COTAMA tampoco los consideró de forma específica.

El consumo de ACO en Uruguay es relativamente elevado, del orden de 30 % para las mujeres en edad sexual reproductiva, y a pesar de la baja población respecto a otros países, podría ser esperable encontrar concentraciones ambientales de riesgo de algunos PAH en efluentes de origen doméstico y cuerpos de agua de nuestro país debido al consumo de ACO, por lo que la contaminación por PAH en Uruguay constituye un riesgo potencial.

Los PAH asociados al consumo de ACO que podrían estar presentes en aguas residuales de origen doméstico y en los cursos de agua superficial representando un riesgo ambiental debido a su concentración son la drospirenona, el levonorgestrel, el gestodeno y el etinilestradiol. Se requiere de mayor investigación para profundizar en este tema.

La otra fuente de contaminación por PAH usados en ACO lo constituye la industria farmacéutica de producción de ACO. La mayoría de las formulaciones comerciales de ACO consumidas en nuestro país son importadas; la producción nacional es limitada y está identificada, por lo que el control de esta fuente puntual se podría realizar de forma eficiente. De todas formas, se entiende que es importante desarrollar e implementar tecnologías eficientes de remoción de PAH de estos efluentes, ya que las concentraciones de PAH son muy elevadas.

En este sentido, los procesos de oxidación sólo con ozono y con la combinación  $O_3/H_2O_2$  resultaron eficientes para la remoción de todos los PAH estudiados (etinilestradiol, acetato de ciproterona, gestodeno, levonorgestrel y drospirenona), y se constató también la reducción de la toxicidad del efluente tratado para el caso de oxidación sólo con ozono.

Este es uno de los primeros estudios realizados con una matriz compleja de efluentes, y más allá de las limitaciones constatadas en la realización de los ensayos, los resultados en cuanto a eficiencia de remoción son concluyentes. Cabe destacar que la viabilidad económica de la aplicación de los POA

sólo con  $O_3$  y con  $O_3/H_2O_2$  para caudales importantes (por ejemplo, como tratamiento terciario en PTDAR de origen doméstico) debe ser evaluada caso por caso, dadas las cantidades de oxidantes necesarias para las dosis resultantes y los caudales a tratar.

## 6.2 LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN A FUTURO

Se sugiere que las investigaciones a futuro sean orientadas a identificar y cuantificar la presencia de estos compuestos en los efluentes de origen doméstico y en los cursos de agua de nuestro país, priorizando los PAH que resultaron de mayor riesgo a partir de la evaluación primaria realizada. A la hora de plantearse un estudio a posteriori, también se podría incluir el estrógeno estradiol, que si bien no es significativo su aporte debido al uso de ACO, sí lo es dado que es un estrógeno natural que se excreta por toda la población femenina.

Con cuantificación se hace referencia no sólo a la determinación de la concentración de cada compuesto, sino también a la cuantificación de sus efectos, esto es, a la determinación de los efectos ecotoxicológicos y endócrinos (estrogénicos y androgénicos), tarea que debe ser abordada de forma multidisciplinaria. La determinación de efectos endócrinos podría incluso resultar más efectiva a los efectos de evaluar la incidencia de otros PAH que podrían estar presentes debido a otras fuentes de contaminación, como los PAH de uso veterinario.

Para los muestreos es deseable seleccionar aquellos lugares donde se prevé una afectación mayor, esto es, donde se tiene una mayor concentración de población (en el entorno de los centros urbanos más importantes), donde no hay tratamiento previo al vertido o donde el caudal de efluentes domina sobre el caudal del curso de agua.

En primera instancia, se sugiere evaluar las características de las cuencas de aporte de los cursos de agua para identificar las que podrían presentar mayor contaminación por PAH; en este análisis se podrían considerar otras fuentes además de las asociadas al uso de ACO. Para los cursos de agua preseleccionados, se sugiere primero realizar los bioensayos para identificar si las muestras presentan o no actividad estrogénica o androgénica, y en caso afirmativo realizar la cuantificación específica de los posibles PAH.

Para ello es necesario contar con el equipamiento para la determinación de PAH en muestras de agua y de efluentes con límites de detección en el orden de ppt (ng/L) como para detectar estos compuestos en las concentraciones que suelen encontrarse en aguas residuales de origen doméstico y en cuerpos de agua, y hacer una puesta a punto para implementar los bioensayos necesarios.

En cuanto a los procesos de oxidación estudiados, para optimizarlos se podría estudiar la incidencia de ciertos parámetros condicionantes como el pH y la relación molar  $O_3/H_2O_2$ , además de incorporar la determinación otros parámetros como alcalinidad, COT y absorbancia UV 254 nm para una mejor interpretación de los resultados.

Para finalizar, es importante destacar que las metodologías desarrolladas, tanto la evaluación primaria para determinar cuáles serían los PAH que se podrían encontrar en concentraciones apreciables en efluentes y en cursos de agua de nuestro país, como los ensayos de oxidación a escala piloto, se pueden aplicar a otros contaminantes emergentes que pueden resultar de riesgo en nuestro país. Por ejemplo, la evaluación primaria se podría implementar para otros principios activos de forma de determinar cuáles podrían ser más relevantes o cuáles podrían requerir de mayor control.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Aboulnadl, K.; De Potter, C.; Prévost, M.; Sauvé, S. *Time-dependent integrity during storage of natural surface water samples for the trace analysis of pharmaceutical products, feminizing hormones and pesticides*. Chemistry Central Journal, pp. 4:10, 2010.

Aguinaga, S. Presentación realizada en el marco del Proyecto de Mejora del Desempeño Ambiental del sector farmacéutico asociado a productos de uso humano y animal. Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA), 2008.

Allinson, M.; Shiraishi, F.; Salzman, S.A.; Allinson, G. *In Vitro and Immunological Assessment of the Estrogenic Activity and Concentrations of 17b-Estradiol, Estrone, and Ethinyl Estradiol in Treated Effluent from 45 Wastewater Treatment Plants in Victoria, Australia*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 58, pp. 576–586, 2010.

Altmann, D.; Schaar H.; Bartel, C.; Schorkopf, D.; Miller, I.; Kreuzinger N.; Mostle, E.; Grillitsch, B. *Impact of ozonation on ecotoxicity and endocrine activity of tertiary treated wastewater effluent*. Water Research, Vol. 46, pp. 3693-3702, 2012.

Amado, J.A.; Flórez, J. *Farmacología humana, 3ª Edición*. ISBN 84-458-0613-0, pp. 867-890, 1997.

American Water Works Association (AWWA). *Ozone in Water Treatment. Application and Engineering*. American Water Works Association Research Foundation, ISBN 0-87371-474-1, 1991.

American Water Works Association (AWWA). *Removal of EDCs and pharmaceuticals in drinking and reuse treatment processes*. American Water Works Association Research Foundation, 2007.

Aris, A.Z.; Shamsuddin, A.; Praveena, S. *Occurrence of 17 $\alpha$ -ethynodiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review*. Environmental International, Vol. 69, pp 104-119, 2014.

Benia, W.; Niedworok, N.; Macadar, D. *Reproducción biológica y social de la población uruguaya, una aproximación desde la perspectiva de género y generaciones. Primer informe de investigación. Proyecto Género y Generaciones*. Fondo de Población de las Naciones Unidas, Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, Ministerio de Salud Pública, Instituto Nacional de Estadística y Mujer y Salud en Uruguay. 77 pp, 2005.

Besse, J.P.; Garric, J. *Human pharmaceuticals in surface waters. Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation*. Toxicology Letters, Vol. 176, pp. 104–123, 2008.

Besse, J.P.; Garric, J. *Progestagens for human use, exposure and hazard assessment for the aquatic environment*. Environmental Pollution, Vol. 157, pp. 3485-3494, 2009.

Bianchetti, F.J. *Remoção do agente hormonalmente ativo etinilestradiol por pré-oxidação e coagulação: estudo em escala de bancada*. Tesis para la obtención del título de Master en Saneamiento, Medio Ambiente y Recursos Hídricos, Universidade de Minas Gerais, 2008.

Bradley, P.M.; Barber, L.B.; Chapelle, F.H.; Gray, J.L.; Kolpin, D.W.; McMahon, P.B. *Biodegradation of 17 $\beta$ -Estradiol, Estrone and Testosterone in Stream Sediments*. Environmental Science & Technology, Vol. 43, pp. 1902–1910, 2009.

Broséus, R.; Vincent, S.; Aboulnadl, K.; Daneshvar, A.; Sauvé, S.; Barbeau, B.; Prévost, M. *Ozone oxidation of pharmaceuticals, endocrine disruptors and pesticides during drinking water treatment*. Water research, Vol. 43, pp. 4707–4717, 2009.

Carballo, M.; Aguayo, S.; Roset, J.; de la Peña, E.; de la Torre, A.; Muñoz, M. J. *Valoración de las aguas residuales mediante procedimientos analíticos y biológicos*. Revista Salud ambiental, Vol. 2, pp. 32–38, 2002.

Castillo, G.; Consuelo, M.; Pica, Y.; Ronco, A.; Feola, G.; Forget, G.; Sánchez-Bain, A. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, ISBN 968-5536-33-3, pp. 172, 2004.

Castro, S.; Espínola, J.; Míguez, D.; Viana, F. *Los bionesayos como herramienta de evaluación de la toxicidad de los efluentes industriales en Uruguay*. Informe Final. Dirección Nacional de Medio Ambiente, Intendencia de Montevideo, Laboratorio Tecnológico del Uruguay y Facultad de Ciencias (Universidad de la República), pp. 51, 2002.

Chang, H.; Wan, Y.; Wu, S.; Fan, Z.; Hu, J. *Occurrence of androgens and progestogens in wastewater treatment plants and receiving river waters: Comparison to estrogens*. Water Research Vol 45, pp. 732-740, 2011.

Christiansen, L. B.; Winther-Nielsen, M.; Helweg, C. *Feminisation of fish. The effect of estrogenic compounds and their fate in sewage treatment plants and nature*. Environmental Project No. 729, Danish Environmental Protection Agency, 2002.

Cui, C. W.; Ji, S. L.; Ren, H. Y. *Determination of steroid estrogens in wastewater treatment plant of a contraceptives producing factory*. Environmental Monitoring and Assessment, Vol. 121, pp. 409–419, 2006.

Colman, J.R.; Baldwin, D.; Johnson, L.L.; Scholz, N.L. *Effects of the synthetic estrogen, 17 $\alpha$ -ethinylestradiol, on aggression and courtship behavior in male zebrafish (*Danio rerio*)*. Aquatic Toxicology, Vol. 91 (4), pp. 346-354, 2009.

Combalbert, S.; Hernandez-Raquet, G. *Occurrence, fate, and biodegradation of estrogens in sewage and manure*. Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 86, pp. 1671–1692, 2010.

Contardo-Jara, V.; Lorenz, C.; Pflugmacher, S.; Nützmannb, G.; Kloasa, W.; Wiegandc, C. *Molecular effects and bioaccumulation of levonorgestrel in the non-target organism *Dreissena polymorpha**. Environmental Pollution, Vol. 159 (1), pp. 38-44, 2011.

Comisión Técnica Asesora en Medio Ambiente. Propuesta de modificación del Decreto 253/79. *Normas reglamentarias para prevenir la contaminación ambiental mediante el control de las aguas*. Grupo de Estandarización Técnica de estándares de agua. Versión consolidada al 19 de diciembre de 2007.

de Matos, J.H. *Contribuição para o estudo da remoção em ETAR de 17 $\beta$ -estradiol e de 17 $\alpha$ -etinilestradiol no tratamento biológico*. Tesis para la obtención del título de Master en Ingeniería del Ambiente, Universidade Nova de Lisboa, 2011.

De Moura, J. A. *Estudo da Eficiência de Estações de Tratamento de Esgoto - ETE e Estações de Tratamento de Água – ETA na Eliminação de Resíduos de Estrógenos Naturais e Sintéticos na UGRHI-13 (Tietê-Jacaré)*. Tesis para la obtención del título de doctor en Química, Universidade Estadual Paulista, 2009.

De Oliveira, R. *Formação de subprodutos do estrona e 17 $\beta$ -estradiol na oxidação utilizando cloro e ozônio em água*. Tesis para la obtención del título de doctor en Ciencias (Ingeniería Hidráulica y Saneamiento), Universidade de São Paulo, 2011.

Domènec, X.; Jardim, W. F.; Litter, M. I. *Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes*. Proyecto CNEA-CAC-UAQ, Red CYTED VIII-G, 2001.

Ellestad, L.E.; Cardon, M.; Chambers, I.G.; Farmer, J.L.; Hartig, P.; Stevens, K.; § Villeneuve, D.L.; Wilson, V.; Orlando, E.F. *Environmental Gestagens Activate Fathead Minnow (Pimephales promelas) Nuclear Progesterone and Androgen Receptors in Vitro*. Environmental Science & Technology, Vol. 48, pp. 8179-8187, 2014.

Environmental Protection Agency (EPA). *Contaminant Candidate List and Regulatory Determinations Home*. Disponible en: <http://water.epa.gov/scitech/drinkingwater/dws/ccl/>. 2014.

Environmental Protection Agency (EPA). *40 CFR Parts 141 and 142. Revisions to the Unregulated Contaminant Monitoring Regulation (UCMR 3) for Public Water Systems*. Federal Register, Vol. 77 N° 85, Rules and Regulations, 2012.

Environmental Protection Agency (EPA). *Handbook on Advanced Nonphotochemical Oxidation Processes*. EPA/625/R-01/004, pp 132, 2001.

Environmental Protection Agency (EPA). *Alternative Disinfectants and Oxidants. Chapter 3: Ozone*. EPA Guidance Manual, pp 3-1 a 3-52, 1999.

Environmental Protection Agency (EPA). *Handbook on Advanced Photochemical Oxidation Processes*. EPA/625/R-98/004, pp 97, 1998.

Esteban, S.; Gorga, M.; Petrovic, M.; González-Alonso, S.; Barceló, D.; Valcárcel, Y. *Analysis and occurrence of endocrine-disrupting compounds and estrogenic activity in the surface waters of Central Spain*. Science of the Total Environment, Vol. 466–467, pp. 939–951, 2014.

European Medicines Agency (EMEA). *Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use*. EMEA/CHMP/SWP/4447/00, 2006.

European Parliament. *Surface waters: 12 new controlled chemicals, three pharmaceuticals on watch list*. Disponible en: <http://www.europarl.europa.eu/news/en/newsroom/content/20130701IPR14760/html/Surface-waters-12-new-controlled-chemicals-three-pharmaceuticals-on-watch-list>. 2013.

Falås, P.; Andersen, H. R.; Ledin, A.; la Cour Jansen, J. *Occurrence and reduction of pharmaceuticals in the water phase at Swedish wastewater treatment plants*. Water Science & Technology, Vol. 66 (4), pp. 783–791, 2012.

Fatta-Kassinios, D.; Vasquez, M. I.; Kummerer, K. *Transformation products of pharmaceuticals in surface waters and wastewater formed during photolysis and advanced oxidation processes – Degradation, elucidation of byproducts and assessment of their biological potency. Review*. Chemosphere, Vol. 85, pp. 693–709, 2011.

Fent, K.; Weston, A.; Caminada, D. *Ecotoxicology of human pharmaceuticals*. Aquatic Toxicology, Vol. 76 (2), pp. 122–159, 2006.

Fernandes, D.; Pujol, S.; Aceña, J.; Perez, S.; Barceló, D.; Porte, C. *The in-vitro interference of synthetic progestogens with carp steroidogenic enzymes*. Aquatic Toxicology (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.07.014>.

Fernandes, R. *Estudos de remoção de 17 $\alpha$ -etinilestradiol de águas para abastecimento, utilizando dióxido de cloro, hipoclorito de sódio, carvão ativado em pó (cap) e tratamento físico-químico*. Tesis para la obtención del título de máster en Ingeniería Civil, Universidade Estadual de Campinas, 2007.

Fernandez, M.P.; Ikonomou, M.G.; Buchanan, I. *An assessment of estrogenic organic contaminants in Canadian wastewaters*. Science of the Total Environment, Vol 373, pp. 250–269, 2007.

Fernández-Alba, A.R.; Letón, P.; Rosal, R.; Dorado, M.; Villar, S.; Sanz, J. M. *Informe de vigilancia. Tratamientos avanzados de aguas residuales industriales*. Círculo de Innovación en Tecnologías Medioambientales y Energía (CITME), 2006.

Fick, J.; Lindberg, R.H.; Parkkonen, J.; Arvidsson, B.; Tysklind, M.; Larsson, D. G. *Therapeutic Levels of Levonorgestrel Detected in Blood Plasma of Fish: Results from Screening Rainbow Trout Exposed to Treated Sewage Effluents*. Environmental: science and technology, Vol. 44 (7), pp. 2661–2666, 2010.

Folmar, L.C.; Hemmer, M.; Hemmer, R.; Bowman, C.; Kroll, K.; Denslow, N.D. *Comparative estrogenicity of estradiol, ethynodiol and diethylstilbestrol in an in vivo, male sheepshead minnow (Cyprinodon variegatus), vitellogenin bioassay*. Aquatic Toxicology, Vol. 49, pp. 77–88, 2000.

García, A.; Aguirre, J.; Roitter, C.; Cecchetto, E.; Plaza, M.; Bernet, J.; Castelari, N.; López, A. C. *Estrógenos y progestágenos. Anticonceptivos orales*. Curso Libre de Farmacología II, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, 2009.

Gilroy, È.A.M.; Klinck, J.S.; Campbell, S.D.; McInnis, R.; Gillis, P.L.; de Solla, S. R. *Toxicity and bioconcentration of the pharmaceuticals moxifloxacin, rosuvastatin, and drospirenone to the unionid mussel Lampsilis siliquoidea*. Science of the Total Environment, Vol. 487, pp. 537-544, 2014.

Glaze, W.H.; Kang, J.W.; Chapin, D.H. *The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation*. Ozone: Science and Engineering, Vol. 9, pp. 335–352, 1987.

Hernández, A.; Cortacans, J.A.; Del Castillo, I.; Hernández, A.; Gil, J.; Gil, F. *Eficacia de los tratamientos avanzados en la eliminación de sustancias estrogénicas*. III Congreso Internacional de Ingeniería Civil, Territorio y Medio Ambiente, Zaragoza, 2006.

Hey, G.; Vega, S.R.; Fick, J.; Tysklind, M.; Ledin, A.; la Cour Jansen, J.; Andersen, H.R. *Removal of pharmaceuticals in WWTP effluents by ozone and hydrogen peroxide*. Water SA, Vol. 40 (1), pp. 165-174, 2014.

Hutchinson, T.H. *Reproductive and developmental effects of endocrine disrupters in invertebrates: in vitro and in vivo approaches*. Toxicology Letters, Vol. 131, pp. 75–81, 2002.

Ikehata, K.; Naghashkar, N. J.; El-Din, M. G. *Degradation of Aqueous Pharmaceuticals by Ozonation and Advanced Oxidation Processes: A Review*. Ozone: Science and Engineering, Vol. 28, pp. 353–414, 2006.

Instituto Nacional de Estadística. Censos 2011. Consulta realizada en sitio web (año 2014): <http://www.ine.gub.uy/censos2011/index.html>. 2011.

Intendencia de Montevideo. *Cálculo de los caudales de tiempo seco*. Parte 2, Tomo 1 del Diagnóstico del Plan Director de Saneamiento y Drenaje de Montevideo, 2007.

Intendencia de Montevideo. Información disponible en: <http://www.montevideo.gub.uy>. 2014.

International Financial Corporation (IFC). *Guías sobre medio ambiente, salud y seguridad para la fabricación de productos farmacéuticos y biotecnología*. 2007.

Johnson, A.C.; Belfroid, U. A.; Di Corciac, A. *Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent*. The Science of the Total Environment, Vol. 256, pp. 163-173, 2000.

Keel, K. *Disruptores endócrinos. Efectos em peces Pimephales promelas*. Tesis para la obtención del título de Magister en Biología Celular y Molecular, Universidad de la República, 2012.

Keel, K.; Míguez, D.; Soares, A.; Parodi, A. *Optimización de una técnica de medida de disruptión endocrína por medio de Saccharomyces cerevisiae recombinantes*. Revista del Laboratorio tecnológico del Uruguay, Vol. 5, pp. 34-38, 2010.

Koester, S.; Beier, S.; Zhao, F. F.; Sui, Q.; Yu, G.; Pinnekamp, J. *Organic trace pollutants in the aquatic environment – regulatory and technical problem-solving approaches in Germany and China*. Water Science & Technology, Vol. 66 (5), pp. 942-952, 2012.

Labadie, P.; Budzinski, H. *Development of an analytical procedure for determination of selected estrogens and progestagens in water samples*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, Vol. 381, pp. 1199-1205, 2005.

Länge, R.; Hutchinson, T.H.; Croudace, C.P.; Siegmund, F.; Schweinfurth, H.; Hampe, P.; Panter, G.H.; Sumpster, J.P. *Effects of the synthetic estrogen 17 alpha-ethinylestradiol on the life-cycle of the fathead minnow (Pimephales promelas)*. Experimental Toxicology, Schering AG Research Laboratories, 2001.

Laurenson, J. P.; Bloom, R. A.; Page, S.; Sadrieh, N. *Ethinyl Estradiol and Other Human Pharmaceutical Estrogens in the Aquatic Environment: A Review of Recent Risk Assessment Data*. The American Association of Pharmaceutical Scientists Journal, Vol. 16, No. 2, pp. 299-310, 2014.

Li, Z.H.; Randak, T. *Residual pharmaceutically active compounds (PhACs) in aquatic environment – status, toxicity and kinetics: a review*. Veterinarni Medicina, Vol. 52 (7), pp. 295-314, 2009.

Liu, Z.; Ogejo, J.; Pruden, A.; Knowlton, K. *Occurrence, fate and removal of synthetic oral contraceptives (SOCs) in the natural environment: A review*. Science of the Total Environment, Vol. 409, pp. 5149-5161, 2011.

Liu, S.; Ying, G.; Zhao, J.; Chen, F.; Yang, B.; Zhou, L.; Lai, H. *Trace analysis of 28 steroids in surface water, wastewater and sludge samples by rapid resolution liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, Vol. 1218, pp. 1367-1378, 2011.

Liu, S.; Ying, G.; Liu, Y.; Peng, F.; He, L. *Degradation of Norgestrel by Bacteria from Activated Sludge: Comparison to Progesterone*. Environmental Science and Technolgy, Vol. 47, pp. 10266-10276, 2013.

López, J.; Ramírez, C.; D'Angelo, M.; Ceiter, C. *Sistemas de saneamiento adecuado*. Convenio OSE-UdelaR. Informe final, pp 211, 2013.

Lorenz, C.; Contardo-Jara, V.; Trubiroha, A.; Kruger, A.; Viehmann, V.; Wiegand, C.; Pflugmacher, S.; Nutzmann, G.; Lutz, I.; Kloas, W. *The Synthetic Gestagen Levonorgestrel Disrupts Sexual Development in Xenopus laevis by Affecting Gene Expression of Pituitary Gonadotropins and Gonadal Steroidogenic Enzymes*. Toxicological sciences, Vol. 124 (2), pp 311 -319, 2011.

MacGillivray, R. *Contaminants of Emerging Concern In the Tidal Delaware River. Pilot Monitoring Survey 2007-2009*. Final Report. Delaware River Basin Commission, pp. 87, 2013.

Maia, D. *Degradação e remoção da atividade estrogênica de desregulador endócrino 17 $\beta$ -estradiol pelo processo de ozonização*. Tesis para la obtención del título de Doctor en Ciencias en Ingeniería Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

Maniero, M. *Remoção da atividade estrogênica de 17 $\beta$ -estradiol e de 17 $\alpha$ -ethinilestradiol pelos processos de ozonização e O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>*. Tesis para la obtención del título de Doctor en Ciencias en Ingeniería Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

Miège, C.; Choubert, J. M.; Ribeiro, L. Eusèbe, M.; Coquery, M. *Removal efficiency of pharmaceuticals and personal care products with varying wastewater treatment processes and operating conditions – conception of a database and first results*. Water Science & Technology, Vol. 57 (1), pp. 49–56, 2008.

Mujer y Salud en Uruguay (MYSU). *Mujeres y salud sexual y reproductiva: vida sexual, acceso a información y a servicios*. Folleto del Observatorio Nacional en Género y Salud Sexual y Reproductiva en Uruguay. Organización Panamericana de la Salud, Fondo de Población de las Naciones Unidas y Entidad de las Naciones Unidas para la Igualdad de Género y el Empoderamiento de las Mujeres, pp. 4, 2012.

Nasuhoglu, D.; Berk, D.; Yargeau, V. *Photocatalytic removal of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) and levonorgestrel (LNG) from contraceptive pill manufacturing plant wastewater under UVC radiation*. Chemical Engineering Journal, Vol. 185–186, pp. 52– 60, 2012.

Organización Mundial de la Salud (OMS). *Pharmaceuticals in drinking-water*. WHO Press, World Health Organization. 2011.

Organización Mundial de la Salud (OMS). *Effects of human exposure to hormone-disrupting chemicals examined in landmark UN report*. Disponible en: [http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/hormone\\_disrupting\\_20130219/en/](http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/hormone_disrupting_20130219/en/). 2013.

Orlando, E.F.; Ellestad, L.E. *Sources, concentrations, and exposure effects of environmental gestagens on fish and other aquatic wildlife, with an emphasis on reproduction*. General and Comparative Endocrinology, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.03.038>.

Ortiz de García, S.; Pinto, G.; García, P.; Irusta, R. *Consumption and occurrence of pharmaceutical and personal care products in the aquatic environment in Spain*. Science of the Total Environment, Vol. 444, pp. 451–465, 2013.

Obras Sanitarias del Estado (OSE). *Norma Interna de Calidad de Agua Potable*. Aprobada por R/D Nº 1628/12 del 21/11/2012. Disponible en: [http://www.ose.com.uy/descargas/Clientes/Reglamentos/norma\\_interna\\_calidad\\_agua\\_potable\\_.pdf](http://www.ose.com.uy/descargas/Clientes/Reglamentos/norma_interna_calidad_agua_potable_.pdf)

Obras Sanitarias del Estado (OSE). Información disponible en: <http://www.ose.com.uy>. 2014.

Paulos, P.; Runnalls, T.J.; Nallani, G.; La Point, T.; Scott, A.P.; Sumpter, J. P.; Huggetta, D. B. *Reproductive responses in fathead minnow and Japanese medaka following exposure to a synthetic progestin, Norethindrone*. Aquatic Toxicology, Vol 99 (2), pp. 256–262, 2010.

Pawlowski, S.; van Aerle, R.; Tyler, C.; Braunbecka, T. *Effects of 17a-ethynodiol in a fathead minnow (Pimephales promelas) gonadal recrudescence assay*. Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol. 57, pp. 330–345, 2004.

Petrovic, M.; Solé, López, M.J.; Barcelo, D. *Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: integration of chemical analysis and biological effects on feral carp*. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 21 (10), pp. 2146–2156, 2002.

Plotan, M.; Frizzell, C.; Robinson, V.; Elliott, C.T.; Connolly, L. *Endocrine disruptor activity in bottled mineral and flavoured water*. Food Chemistry, Vol. 136, pp. 1590–1596, 2013.

PR VADEMECUM. Disponible en: <http://uy.prvademeum.com/index.php>, 2014.

Presidencia de la República Oriental del Uruguay. Decreto 253/979, con las modificaciones de los Decretos 232/88, 698/89 y 195/91 incluidas. *Se aprueban normas para prevenir la contaminación ambiental mediante el control de las aguas*. Disponible en: <http://www.mvotma.gub.uy/ciudadania/biblioteca/marco-legal/item/10003601-decreto-253-079.html>.

Presidencia de la República Oriental del Uruguay. Decreto 315/994, acordado y concordado con apéndice normativo. Reglamento Bromatológico Nacional. Disponible en: [www.impo.com.uy](http://www.impo.com.uy).

Presidencia de la República Oriental del Uruguay. Decreto 009/011 del 14 de enero de 2011. Disponible en: [http://archivo.presidencia.gub.uy/sci/decretos/2011/01/msp\\_176.pdf](http://archivo.presidencia.gub.uy/sci/decretos/2011/01/msp_176.pdf).

Presidencia de la República Oriental del Uruguay. Ley Nº 18.426 del 10 de diciembre de 2008. *Normas relacionadas con la Salud Sexual y Reproductiva*. Disponible en: [http://archivo.presidencia.gub.uy/\\_web/leyes/2008/12/522\\_00001.PDF](http://archivo.presidencia.gub.uy/_web/leyes/2008/12/522_00001.PDF).

Quesada, I. *Métodos no convencionales para el tratamiento de aguas contaminadas con productos farmacéuticos*. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas, Instituto Nacional Politécnico de Toulouse - Escuela Nacional Superior de Ingenieros en Artes Químicas y Tecnológicas. 2009.

Rand-Weaver, M.; Margiotta-Casaluci, M.; Patel, A.; Panter, G.H.; Owen, S.F.; Sumpter, J.P. *The Read-Across Hypothesis and Environmental Risk Assessment of Pharmaceuticals*. Environmental Science and Technolgy, Vol. 47, pp. 11384-11395, 2013.

Roccaro, P.; Sgroi, M.; Vagliasindi, F. *Removal of Xenobiotic Compounds from Wastewater for Environment Protection: Treatment Processes and Costs*. Chemical Engineering Transactions (AIDIC), Vol. 32, pp. 505-510, 2013.

Rokhina, E. V.; Vattikonda, N. S.; Johnson, C.; Suri, R. *Ozonation of a mixture of estrogens and progestins in aqueous solution: Interpretation of experimental results by computational methods*. Chemosphere, Vol. 89 (11), pp. 1323-1329, 2012.

Runnalls, T.J.; Beresford, N.; Losty, E.; Scott, A.P.; Sumpter, J.P. *Several synthetic progestins with different potencies adversely affect reproduction of fish*. Environmental Science and Technolgy, Vol. 47, pp. 2077–2084, 2013.

Santos, S. A.; Trovó, A. G.; Rossi, I.; Fernandes, R. *Revisão. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados*. Química Nova, Vol. 32 (1), pp. 188-197, 2009.

Santos, W. *Determinação de estrogênios em afluentes da Lagoa de Araruama*. Tesis para la obtención del título de Magister en Salud Pública y Medio Ambiente, Fundação Oswaldo Cruz, pp. 102, 2013.

Santoyo, S.; Alvarado, G.; Corral, J.L.; Pons, J.E.; Córdova, S.; Domínguez, J.; Ponce, E.; Gómez, J.; Irigoyen, A.; Fernández, M.A.; García, F.; Galimberti, D.; de La Parra, I.; Febres, F.; Maucó, S.; Olivares, L.; Penagos, G.; Salazar, G.; Mostajo, D.; de la Fuente, E.; Aspilcueta, D.; Molina, R.; Flores, I.; Uribe, R.; Alvarado, A.; Hinojosa, J.C.; Murillo, A.; Tilio, M.; Cortés, M.; Pérez, J.L.; Uribe, C.; Tonda, P.; Saldaña, I.; Padilla, A.; Barrera, L.; Rufino, M.; Díaz, V.; Olaya, M.A.; García, L.M. *Conocimientos generales y uso de métodos anticonceptivos en mujeres en edad reproductiva de 14 países de América Latina*. Atención Familiar, Vol. 14 (1), pp. 12-16, 2007.

Schäfers, C.; Teigelera, M.; Wenzela, A.; Maackb, G.; Fenskeb, M.; Segner, H. *Concentration and time-dependent effects of the synthetic estrogen, 17 $\alpha$ -ethinylestradiol, on reproductive capabilities of the Zebrafish, Danio rerio*. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues, Vol 70 (9), pp. 768-779, 2007.

Schulz, H.E.; Daniel, L.A.; Salla, M.R. *COD Fluctuation in Ozonization Columns for Wastewater Treatment. Effects of Intermediate Organic Compounds*. Journal of Water Resource and Hydraulic Engineering, Vol. 1, pp. 1-9, 2012.

Sitruk-Ware, R. *New progestagens for contraceptive use*. Human Reproduction Update, Vol. 12, No.2 pp. 169–178, 2006.

Stockholm Country Council. *Environmentally classified pharmaceuticals 2012*. Suecia, 2012. Disponible en: [www.janusinfo.se/environment](http://www.janusinfo.se/environment).

Svensson, J.; Fick, J.; Brandt, I.; Brunstrom, B. *The Synthetic Progestin Levonorgestrel Is a Potent Androgen in the Three-Spined Stickleback (Gasterosteus aculeatus)*. Environmental Science & Technology, Vol. 47, pp. 2043-2051, 2013.

Tambosi, J.L. *Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento*. Tesis para la obtención del título de Doctor en Ingeniería Química, Universidade Federal do Santa Catarina, 2008.

Ternes, T.A.; Andersen, H.; Gilberg, D.; Bonerz, M. *Determination of Estrogens in Sludge and Sediments by Liquid Extraction and GC/MS/MS*. Analytical Chemistry, Vol. 74, pp. 3498– 3504, 2002.

Touraud, E.; Roig, B.; Sumpter, J.P.; Coetsier, C. *Drug residues and endocrine disruptors in drinking water: Risk for humans?* International Journal of Hygiene and Environmental Health, Vol. 214, pp. 437– 441, 2011.

Vulliet, E.; Baugros, J.P.; Flament-Waton, M.M.; Grenier-Loustalot, M.F. *Analytical methods for the determination of selected steroid sex hormones and corticosteroids in wastewater*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, Vol. 387, pp. 2143–2151, 2007.

Vulliet, E.; Wiest, L.; Baudot, R.; Grenier-Loustalot, M.F. *Multi-residue analysis of steroids at sub-ng/L levels in surface and ground-waters using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, Vol. 1210, pp. 84–91, 2008.

Vulliet, E.; Cren-Olivé, C.; Grenier-Loustalot, M. *Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters*. Environmental Chemistry Letters, Vol. 9, pp.103–114, 2011.

Vulliet, E.; Tournier, M.; Vauchez, A.; Wiest, L.; Baudot, R.; Lafay, F.; Kiss, A.; Cren-Olivé, C. *Survey regarding the occurrence of selected organic micropollutants in the groundwaters of overseas departments*. Environmental Science and Pollution Research, Vol. 21, pp. 7512-7521, 2014.

Xu, N.; Xu, Y.; Xu, S.; Li, J.; Tao, H. *Removal of estrogens in municipal wastewater treatment plants: A Chinese perspective*. Environmental Pollution, Vol. 165, pp. 215-224, 2012.

Ying, G-G.; Kookana, R.S.; Ru, Y-J. *Occurrence and fate of hormone steroids in the environment*. Environmental International, Vol. 28, pp. 545-551, 2002.

Zeilinger, J.; Steger-hartmann, T.; Maser, E.; Goller, S.; Vonk, R.; Lange, R. *Effects of synthetic gestagens on fish reproduction*. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 28, No. 12, pp. 2663–2670, 2009.

Zhang, X.; Chen, P.; Wu, F.; Deng, N.; Liu, J.; Fang, T. *Degradation of 17 $\alpha$ -ethynodiol in aqueous solution by ozonation*. Journal of Hazardous Materials, Vol. 133, pp. 291–298, 2006.

Zucchi, S.; Mirbhai, L.; Castiglioni, S.; Fent, F. *Transcriptional and Physiological Responses Induced by Binary Mixtures of Drosophila and Progesterone in Zebrafish (Danio rerio)*. Environmental Science and Technology, Vol. 48, pp. 3523–3531, 2014.

## **GLOSARIO**

**Absorbancia ultravioleta específica (SUVA):** Parámetro definido como la absorbancia a 254 nm (UV254) por unidad de COT. Es un indicador del carácter aromático de la materia orgánica, útil para una comparación preliminar de la distinta aromaticidad de las sustancias orgánicas.

**Andrógenos:** Hormonas sexuales esteroideas de tipo masculino (testosterona, androsterona y androstenediona) cuya función principal es estimular el desarrollo de los caracteres sexuales masculinos.

**Coeficiente de adsorción al carbono orgánico (K<sub>oc</sub>):** Cociente entre las concentraciones de una sustancia en una mezcla bifásica formada por una fase 100 % carbono orgánico y agua. Es una medida de la distribución de una sustancia entre sedimentos y la fase líquida.

**Coeficiente de partición octanol-agua (K<sub>ow</sub>):** Cociente entre las concentraciones de un sustancia en una mezcla bifásica formada por dos disolventes no miscibles en equilibrio: n-octanol y agua; mide la solubilidad diferencial de un soluto en esos dos disolventes. Representa el carácter hidrófobo de la sustancia o su afinidad hacia los lípidos de una sustancia disuelta en agua. Según la Convención de Estocolmo, 2001, compuestos con Log K<sub>ow</sub> iguales o superiores a 5,00 poseen un elevado potencial bioacumulativo, en tanto que por debajo de 3,00 el potencial bioacumulativo es bajo.

**Disruptor endócrino:** Sustancia o mezcla de sustancias exógenas que altera la función del sistema endócrino y, por lo tanto, causa efectos adversos en la salud de un organismo, o en su progenie, o en su población.

**EC<sub>50</sub> (Concentración efectiva 50 %):** Concentración de una sustancia sometida a prueba que provoca un efecto (por ejemplo, en el crecimiento) en el 50 % de la población expuesta durante un intervalo de tiempo determinado.

**EEQ (Concentración equivalente de 17 $\beta$ -estradiol):** Concentración de un estrógeno que produce la misma respuesta que el 17 $\beta$ -estradiol.

**Estrógenos:** Hormonas sexuales esteroideas de tipo femenino principalmente, responsables del desarrollo de la mayoría de los caracteres sexuales femeninos secundarios. Actúan con diversos grupos celulares del organismo, especialmente con algunos relacionados con la actividad sexual, con el cerebro, con la función endócrina y también neurotransmisora.

**IC<sub>50</sub> (Concentración de Inhibición 50 %):** Concentración de una sustancia sometida a prueba que provoca la inhibición de un parámetro dado (por ejemplo, el crecimiento) en el 50 % de la población expuesta durante un intervalo de tiempo determinado.

**Índice PEEP (Prueba de Efectos Ecotoxicológicos Potenciales):** Permite comparar la toxicidad de diferentes efluentes industriales, integrando los resultados de toxicidad obtenidos mediante diferentes bioensayos y considerando también, el caudal del efluente vertido por la industria, pero no el caudal del cuerpo receptor. Se expresa en una escala logarítmica de 0 a 10; cuanto mayor es el índice PEEP, mayor es el efecto potencial del vertido. Los resultados constituyen una excelente herramienta para la toma de decisiones sobre el impacto tóxico de los vertidos sobre los cursos de agua (Castro *et al.*, 2002).

**LC<sub>50</sub> (Concentración Letal 50 %):** Concentración de una sustancia sometida a prueba que provoca un 50 % de mortalidad durante un intervalo de tiempo determinado.

**LOEC (Concentración con efecto mínimo observado - *Lowest observed effective concentration*):** Dosis o nivel de exposición más bajo comprobado que permite observar un efecto estadísticamente significativo en la población expuesta respecto a un grupo de control en un estudio.

**NOEC (Concentración sin efecto observado - *No observed effective concentration*):** Concentración más alta comprobada a la cual no se observa un efecto estadísticamente significativo en la población expuesta respecto a un grupo de control en un estudio.

**PEC (Concentración ambiental prevista - *Predicted Environmental Concentration*):** Concentración de una sustancia que posiblemente se encontrará en el ambiente, en el compartimento ambiental que se trate, utilizada en el marco de la evaluación de riesgo ambiental.

**PEQ (Concentración equivalente de progesterona):** Concentración de un progestágeno que produce la misma respuesta que la progesterona.

**PNEC (Concentración prevista sin efecto - *Predicted No Effect Concentration*):** Concentración de una sustancia por debajo de la cual no se esperan efectos negativos en el ámbito ambiental de que se trate.

**Potencial estrogénico:** Capacidad de producción de respuestas biológicas cualitativamente similares a aquellas producidas por un principio activo hormonal patrón, usualmente el 17 $\beta$ -estradiol.

**Proceso de oxidación avanzada:** Procesos que involucran la generación *in situ* de radicales hidroxilo (OH<sup>•</sup>) en cantidad suficiente para oxidar los compuestos orgánicos del medio.

**Progestágenos:** Hormonas sexuales esteroideas de tipo femenino, que actúan en la preparación final del útero para la gestación y de las mamas para la lactancia.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1: ESTRUCTURA DE LOS PAH

### PROGESTÁGENOS

Los progestágenos naturales están constituidos por 21 átomos de carbono (esqueleto pregnano). La estructura de la mayoría de los progestágenos sintéticos de primera, segunda y tercera generación deriva de la testosterona, mientras que los progestágenos sintéticos de cuarta generación fueron desarrollados con una estructura y función similar a la progesterona natural (Sitruk-Ware, 2006). Los progestágenos sintéticos se pueden clasificar en función de eso (García, 2009):

- Pregnanos (derivados de la progesterona).
- 19 norderivados (derivados de la testosterona).
- Otros (drospirenona, derivada de la espironolactona).

Los pregnanos incorporan un grupo acetilo en C17. Se caracterizan por tener una actividad gestagénica más potente que los 19 norderivados, pero además se fijan al receptor androgénico en el que se comporta como antagonista.

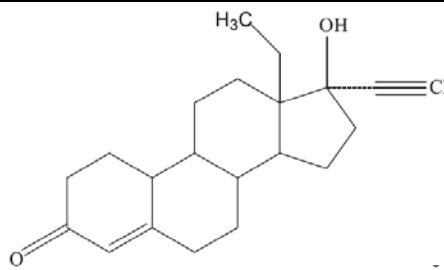
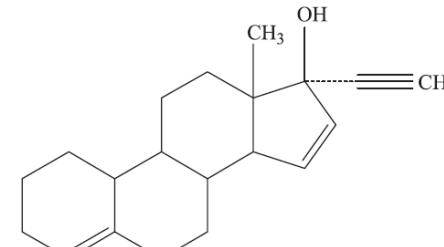
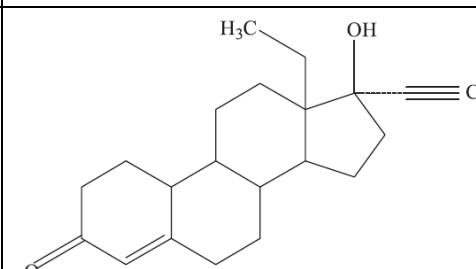
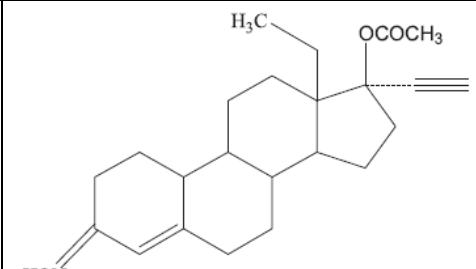
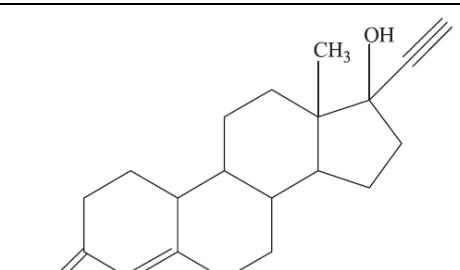
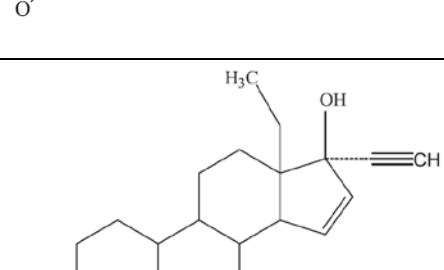
Los 19 norderivados incorporan un grupo metilo en C17 de la testosterona. Para reducir la actividad andrógена, se suprimió el radical metilo C19 del carbono 10 y así surgió el grupo de 19 norderivados de primera generación o estranos, con más actividad gestágena y menos andrógena. Para disminuir más la actividad andrógena de estos primeros 19 norderivados, se sustituyó el radical metilo del C18, lo que dio origen a los gonanos que se caracterizan por tener actividad gestágena intensa, mayor que la de los estranos. Los gonanos a su vez se dividen en androgénicos (de segunda generación) y no androgénicos (de tercera generación).

La drospirenona deriva de la 17 $\alpha$ -espironolactona. Posee potentes efectos progestágenos, antimineralocorticoideos y antiandrogénicos.

En la Tabla 1 se presenta la fórmula molecular y la estructura molecular de los principales progestágenos empleados en la fabricación de ACO.

**Tabla 1: Fórmula y estructura molecular de los principales progestágenos empleados en la fabricación de ACO**

Nombre	Nº CAS	Fórmula elemental	Estructura molecular
Acetato de ciproterona (CPA)	427-51-0	C <sub>24</sub> H <sub>29</sub> ClO <sub>4</sub>	

Nombre	Nº CAS	Fórmula elemental	Estructura molecular
<b>Levonorgestrel (LVG)</b>	797-63-7	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	
<b>Linestrenol (LYN)</b>	52-76-6	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O	
<b>Norgestrel (NOG)</b>	6533-00-2	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	
<b>Norgestimato (NTE)</b>	35189-28-7	C <sub>23</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>3</sub>	
<b>Noretindrona (NET)</b>	68-22-4	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	
<b>Gestodeno (GES)</b>	60282-87-3	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	

Nombre	Nº CAS	Fórmula elemental	Estructura molecular
<b>Desogestrel (DES)</b>	54024-22-5	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O	
<b>Etonogestrel (ETO)</b>	54048-10-1	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	
<b>Dienogest (DIE)</b>	65928-58-7	C <sub>20</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>2</sub>	
<b>Drospirenone (DRO)</b>	67392-87-4	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	

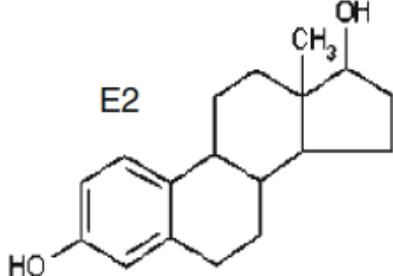
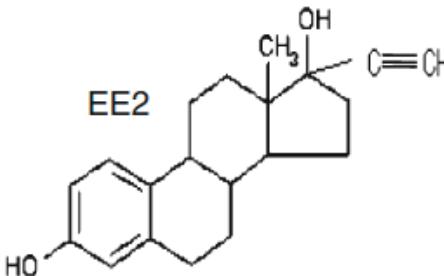
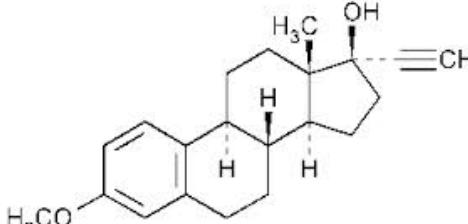
Fuente: Adaptado de Liu Z. et al. (2011).

## ESTRÓGENOS

Los estrógenos se caracterizan por su anillo fenólico, que tiene un grupo hidroxilo responsable por la actividad estrogénica. Los estrógenos naturales están constituidos por 18 átomos de carbono (esqueleto estrano) distribuidos en 3 anillos hexagonales y un anillo pentagonal. Las diferentes posiciones de los grupos hidroxilo es lo que diferencia a cada tipo de molécula. De los estrógenos naturales, el más potente es el estradiol, que es a su vez el principal producto de la secreción endocrina del ovario. La estrona es un producto de oxidación del estradiol, y el estriol es una consecuencia de la hidratación del estradiol. En los estrógenos sintéticos, se agrega un grupo etinil para formar etinilestradiol. El mestranol es el éster metílico del etinilestradiol, con potencial estrogénico algo menor.

En la Tabla 2 se presenta la fórmula molecular y la estructura molecular de los principales estrógenos empleados en la fabricación de ACO.

**Tabla 2: Fórmula y estructura molecular de los principales estrógenos empleados en la fabricación de ACO**

Nombre	Nº CAS	Fórmula elemental	Estructura molecular
<b>17<math>\beta</math>-estradiol (E2)</b>	50-28-2	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	
<b>17<math>\alpha</math>-etinilestradiol (EE2)</b>	57-63-6	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	
<b>Mestranol (MeEE2)</b>	72-33-3	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	

Fuente: Adaptado de Combalbert (2010).

## ANEXO 2: CONCENTRACIONES DE PAH EN AGUAS RESIDUALES DE ORIGEN DOMÉSTICO Y EN AGUAS SUPERFICIALES REPORTADAS EN LA BIBLIOGRAFÍA

### PROGESTÁGENOS

Tabla 1: Ocurrencia de progestágenos en PTDAR. Fuente: Liu Z. et al. (2011).

PAH	País	Tipo y cantidad de PTDAR	Afluente (ng/L)	Efluente (ng/L)	Remoción (%)	Referencia
CPA	China	AS(1)	ND	ND	–	Sun et al., 2009
	Malasia	EA-AS(1)	–	<20	–	Al-Odaini et al., 2010
GES	EUA	AS(1);TF(1);SBR(1)	ND	ND	–	Robert et al., 2007
	China	AS(1)	ND	ND	–	Sun et al., 2009
LVG	Alemania	AS(1)	–	ND-1	–	Kuch y Ballschmiter, 2000
	España	AS(4)	ND	ND	–	Sole et al., 2000
	España	AS(4)	<0,2-16,1	<0,2-4,0	-1100-93,2	Petrovic et al., 2002b
	Francia	AS(3)	–	<2,5-7,2	–	Labadie y Budzinski, 2005a
	Francia	AS(1)	–	<2-5	–	Labadie y Budzinski, 2005b
	EUA	AS(1);TF(1);SBR(1)	ND	ND	–	Robert et al., 2007
	Francia	AS(2)	–	0,9-17,9	–	Vulliet et al., 2007
	España	AS(3)	–	ND	–	Kuster et al., 2008
	China	–(1)	5,6	1,1	80,4	Pu et al., 2008
	China	–(1)	6,5	1,3	80	Pu et al., 2008
	Canadá	PPCTP(1)	150-170	30	81,3	Viglino et al., 2008
	Brasil	–(1)	–	ND	–	Kuster et al., 2009
	China	AS(1)	ND	ND	–	Sun et al., 2009
	China	–(1)	74,3	8,1	89,1	Qiao et al., 2009
	Suecia	AS(3)	–	ND-1	–	Fick et al., 2010a
	Malasia	EA-AS(1)	–	<66	–	Al-Odaini et al., 2010
NET	España	AS(4)	ND	ND	–	Sole et al., 2000
	España	AS(4)	<0,2-8,9	<0,2-17,4	-2.550-81,8	Petrovic et al., 2002b
	Francia	AS(3)	–	<1,1-6,5	–	Labadie y Budzinski, 2005a
	Francia	AS(1)	–	<1-5	–	Labadie y Budzinski, 2005b
	Francia	AS(2)	–	5,2-41	–	Vulliet et al., 2007
	Canadá	AS(3);TF/SC(1);AL(1)	0-224	0-159	78-100	Fernandez et al., 2007
	España	AS(3)	–	ND	–	Kuster et al., 2008
	Canadá	PPCTP(1)	70-205	53	61,5	Viglino et al., 2008
	Japón	AS(2)	ND	ND	–	Chang et al., 2008
	EUA	–(7)	–	ND	–	Batt et al., 2008
	Brasil	–(1)	–	ND	–	Kuster et al., 2009

PAH	País	Tipo y cantidad de PTDAR	Afluente (ng/L)	Efluente (ng/L)	Remoción (%)	Referencia
NET	China	AS(1)	ND	ND	–	Sun <i>et al.</i> , 2009
	Malasia	EA-AS(1)	–	188	–	Al-Odaini <i>et al.</i> , 2010
	China	AS(7)	4,6–12	ND	100	Chang <i>et al.</i> , 2011
NOG	EUA	AS(1);TF(1);SBR(1)	ND	ND	–	Robert <i>et al.</i> , 2007
	Canadá	AS(3);TF/SC(1);AL(1)	0-48	0-126	-93-0	Fernandez <i>et al.</i> , 2007
	Japón	AS(2)	ND	ND	–	Chang <i>et al.</i> , 2008
	China	AS(2)	59	9,2	84,4	Liu <i>et al.</i> , 2011

AS: Lodos activados.

EA-AS: Lodos activados de aireación extendida.

TF: Filtro percolador.

SBR: Reactor biológico secuencial.

PPCTP: Planta de tratamiento primario físico-químico.

TF/SC: Filtro percolador con contacto de sólidos.

AL: Laguna aireada.

PT: Tratamiento primario.

OD/FP: Zanja de oxidación / Laguna facultativa.

ND: No detectable.

–: No disponible.

Tabla 2: Ocurrencia de progestágenos en compartimentos ambientales. Fuente: Liu Z. et al. (2011)

PAH	Aguas superficiales (ng/L)			Agua potable (ng/L)	Agua subterránea (ng/L)	Sedimentos (ng/g)		
	Río	Lago	Represa			Río	Suelo	Lodo
CPA	ND[2]	ND[1]	ND[2]	ND[1]	–	<7,1[3]	ND [3]	–
	<68[3]			ND[2]				
DES	ND[2]	–	ND[2]	ND[2]	–	–	–	–
DRO	–	ND[5]	ND[5]		ND[5]	–	–	–
GES	ND[1]	ND[1]	ND[2]	ND[1]	–	–	–	–
	ND[2]			ND[2]				
	ND[6]							
LVG	38[4]	ND[1]	ND[2]	ND[1]	7,4-11,0[5]	ND-2,18[7]	24-52[8]	33-53 [8]
	ND[6]	5,3[5]	7,0[5]	ND[2]		ND-19[8]		
	ND-4,7 [9]	ND-8,0[9]	ND-5,3[9]	ND-10[9]				
	7,5[10]							
	<3,8–5,9[12]							
NE	ND-2,9 [9]	2,7[5]	2,8[5]	ND[1]	4,2-5,6[5]	ND-1,08[7]	91-93[8]	105-106[8]
	ND-872 [11]		ND-2,8[9]	ND-6,8[9]		ND-90 [8]		
	<1,3- 2,5[12]							
	ND-1 [14]a							
	ND-16 [15]							
NOG	ND-8[14]a	–	–	–	–	–	–	–
	ND-6,2 [15]							
	3,7[18]							

ND: No detectable.

–: No disponible.

[1] Sun *et al.*, 2009; [2] Matejicek y Kuban, 2007; [3] Perez-Carrera *et al.*, 2010; [4] Al-Odaini *et al.*, 2010; [5] Vulliet *et al.*, 2008; [6] Velicu y Suri, 2009; [7] Lopez de Alda *et al.*, 2002; [8] Viglino *et al.*, 2011; [9] Vulliet *et al.*, 2011; [10] Qiao *et al.*, 2009; [11] Kolpin *et al.*, 2002; [12] Labadie and Budzinski, 2005a; [14] Jeffries *et al.*, 2010; [15] Chang *et al.*, 2011; [18] Liu *et al.*, 2011.

## ESTRÓGENOS

**Tabla 3: Ocurrencia de estrógenos en aguas residuales de origen doméstico (efluente bruto). Fuente: Combalbert *et al.* (2010)**

País	Nº de PTDAR	E2 (ng/L)	EE2 (ng/L)	Referencia
<b>Estrógenos libres</b>				
Alemania	1	15	2	Ternes <i>et al.</i> , 1999
Alemania	1	12-19	6-10	Andersen <i>et al.</i> , 2003a,b
Australia	1	22±15	<0,5	Braga <i>et al.</i> , 2005a,b
Australia	13	<1-24	NSD	Leusch <i>et al.</i> , 2006
Austria	4	14-125	3-70	Clara <i>et al.</i> , 2005
Brasil	1	21	5	Ternes <i>et al.</i> , 1999
Canadá	18	2,5-26	NSD	Servos <i>et al.</i> , 2005
Canadá	4	9-26	<1	Lee <i>et al.</i> , 2004
España	1	3	<1	Carballa <i>et al.</i> , 2004
Francia	4	11-17	5-7	Cargouet <i>et al.</i> , 2004
Francia	1	13-28	<0,2-20	Muller <i>et al.</i> , 2008
Holanda	3	<0,5-48	<0,2-8,8	Johnson <i>et al.</i> , 2000
Italia	6	12±5	3±2,6	Baronti <i>et al.</i> , 2000
Italia	5	<0,5-20	<0,5-10	Johnson <i>et al.</i> , 2000
Italia	6	11±8	NSD	D'Ascenzo <i>et al.</i> , 2003
Japón	5	10-30	NSD	Nakada <i>et al.</i> , 2006
Suiza	3	5-11	<1-5	Joss <i>et al.</i> , 2004
<b>Estrógenos conjugados</b>				
Alemania	2	1,5	2,5	Adler <i>et al.</i> , 2001
Francia	1	3-5	ND-11	Muller <i>et al.</i> , 2008
Italia	6	8,5	NSD	D'Ascenzo <i>et al.</i> , 2003

ND: No detectable.

NSD: No se determinó.

**Tabla 4: Ocurrencia de estrógenos en efluentes y lodos de PTDAR. Fuente: Combalbert *et al.* (2010)**

Tipo de PTDAR	Nº de PTDAR	E2 (ng/L)	EE2 (ng/L)	País	Referencia
AS+BF	1	6	9	Brasil	Ternes <i>et al.</i> , 1999
AS	1	ND	1	Alemania	Ternes <i>et al.</i> , 1999
AS	5	<0,5-12	<0,3-7,5	Holanda	Belfroid <i>et al.</i> , 1999
AS	6	<1-4	<1-2	Italia	Baronti <i>et al.</i> , 2000
AS	5	<0,5-7	<0,5-2,2	Italia	Johnson <i>et al.</i> , 2000
AS	3	<0,4-12	<1,8	Holanda	Johnson <i>et al.</i> , 2000
AS	6	1,6±1,9	NSD	Italia	D'Ascenzo <i>et al.</i> , 2003
AS	1	<1	<2	Alemania	Andersen <i>et al.</i> , 2003a
AS	4	<1-7	<1	Canadá	Lee <i>et al.</i> , 2004
AS	1	ND	ND	España	Carballa <i>et al.</i> , 2004
AS+BF	3	0,5-1	ND	Suiza	Joss <i>et al.</i> , 2004
AS+BF	4	4-9	3-5	Francia	Cargouet <i>et al.</i> , 2004
AS	3	<1-5,7	NSD	Francia	Johnson <i>et al.</i> , 2005
AS+LG	18	0,2-15	NSD	Canadá	Servos <i>et al.</i> , 2005
AS	4	<1-30	<1-5	Austria	Clara <i>et al.</i> , 2005
AS	1	1±0,5	<0,1	Australia	Braga <i>et al.</i> , 2005b
AS	5	<1-20	NSD	Japón	Nakada <i>et al.</i> , 2006
AS+BF	13	<1-5	NSD	Australia	Leusch <i>et al.</i> , 2006
AS	1	<0,2-3	ND	Francia	Muller <i>et al.</i> , 2008
<b>Lodos (μg/kg seco)</b>					
SS	2	5-17	<2-4	Alemania	Ternes <i>et al.</i> , 2002
DS	2	<2-49	<4-17	Alemania	Ternes <i>et al.</i> , 2002
SS	1	1,7	3	Alemania	Andersen <i>et al.</i> , 2003a
SS	1	0,3	0,4	Australia	Braga <i>et al.</i> , 2005a,b
SS	1	1-5,5	1-18	Francia	Muller <i>et al.</i> , 2008
No especificado	2	<175 E2-3S=0,64-7	NSD	España	Nieto <i>et al.</i> , 2008
SS	1	0,1-0,2	ND	España	Fernandez <i>et al.</i> , 2009
No especificado	12	E2α=4,2-15,5 E2β=4,5-22,1	ND	Francia	Gabet-Giraud <i>et al.</i> , 2010

ND: No detectable.

NSD: No se determinó.

AS: Lodos activados.

BF: Lecho fijo.

LG: Laguna.

SS: Lodo secundario.

DS: Lodo digerido.

**Tabla 5: Ocurrencia de estrógenos en aguas superficiales. Fuente: Aris *et al.* (2014)**

Lugar	E2	EE2	Referencia
<b>Aguas (ng/L)</b>			
Estuario del Río Acushet, EUA	0,56-0,83	3,01-4,67	Zuo <i>et al.</i> (2006)
Sur de Florida, EUA	ND-1,80	NSD	Singh <i>et al.</i> (2010)
Agua superficial (ciudad de Hamadam), Irán	10,00-3,00	2,00-0,01	Jafari <i>et al.</i> (2009)
Cuenca de Buyukcekme, Estambul, Turquía	1,10-5,39	11,70-14,00	Aydin y Talinli (2013)
South East Queensland, Australia	0,39-3,77	0,00-0,52	Ying <i>et al.</i> (2009)
Agua superficial, Brasil	ND-7,30	ND-25,00	Sodré <i>et al.</i> (2010)
Río Elbe y tributarios, República Checa y Alemania	<0,20	<0,20	Stachel <i>et al.</i> (2003)
Holanda (Agua superficial)	<0,80-1,00	<0,30-0,40	Vethaak <i>et al.</i> (2005)
Río Lambro, Italia	0	0	Viganò <i>et al.</i> (2006)
Laguna de Venecia, Bahía del Mar Adriático	<1,00-175,00	<0,80-34,00	Pojana <i>et al.</i> (2007)
Río Würm, Alemania	<0,30-0,70	<0,30-0,70	Bögi <i>et al.</i> (2003)
Río Dan-Shui, Taipei, Taiwán	1,40-33,90	7,53-27,40	Chen <i>et al.</i> (2007)
Bahía de Jiaozhou, Qingdao, China	ND-134,00	7,00-24,00	Zhou <i>et al.</i> (2011)
Área de Tiajin, Norte de China	ND-21,20	ND-24,40	Lei <i>et al.</i> (2009)
Guangzhou, Sur de China	ND-2,00	ND	Peng <i>et al.</i> (2008)
Laguna Yundang, China	ND-1,56	ND-0,43	Zhang <i>et al.</i> (2011a)
Río Amarillo, China	ND-2,30	NSD	Wang <i>et al.</i> (2012)
Lago Dianchi, China	1,90±0,30	ND	Liu <i>et al.</i> (2012b)
<b>Sedimentos (ng/g en peso seco)</b>			
Río Ouse, Reino Unido	<0,03-1,20	ND(<0,04)	LabadieandHill(2007)
Río Europeo	<1,00	<0,10	Schmitt <i>et al.</i> (2010)
Norte de Francia	0,18-1,58	ND	Kinani <i>et al.</i> (2010)
Laguna de Venecia	NSD	<2,00-41,00	Pojana <i>et al.</i> (2007)
Manglar de Itacorubí, Brasil	0,87-40,96	133,64	Froehner <i>et al.</i> (2012)
Malabar, Sydney, Australia	0,22-2,48	<0,05-0,50	Braga <i>et al.</i> (2005)
Bahía de Tokyo, Japan	ND-0,59	ND-0,34	Isobe <i>et al.</i> (2006)
Área de Tianjin, Norte de China	ND-9,70	ND-9,26	Lei <i>et al.</i> (2009)
Delta del Río Pearl, China	<0,90-2,60	ND	Gong <i>et al.</i> (2011)
Bahía Xiamen, China	ND-2,35	ND-2,18	Zhang <i>et al.</i> (2009)
Laguna Yundang, China	ND-3,71	ND-2,48	Zhang <i>et al.</i> (2011b)
Río Amarillo, China	ND	NSD	Wang <i>et al.</i> (2012)
Río Licun, China	ND-1,20	ND-5,10	Zhou <i>et al.</i> (2011)

ND: No detectable.

NSD: No se determinó.

## ANEXO 3: BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS ENSAYOS DE ECOTOXICIDAD

A continuación se presenta una breve descripción de los ensayos de ecotoxicidad usados en el marco de la aplicación del caso de estudio. Mayor información puede ser consultada en el libro del Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo: “Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones” (Castillo *et al.*, 2004).

### **Ensayo estático crónico (72 h) con *Selenastrum capricornutum***

*Selenastrum capricornutum* es un alga verde (clorofita) unicelular con forma de media luna, que puede encontrarse en sistemas acuáticos epicontinentales eutróficos u oligotróficos.

Cuando las células son expuestas a muestras que contienen contaminantes tóxicos, su reproducción se afecta, alterando la tasa de crecimiento de la población de las algas. El efecto de inhibición de la población causada por los agentes tóxicos en una muestra luego de 72 h de exposición, bajo condiciones de temperatura controlada ( $24 \pm 2$  °C), se determina comparándolo con el crecimiento normal observado en un sistema libre de agentes contaminantes.

### **Ensayo estático agudo (48 h) con *Daphnia magna***

Dentro del grupo de cladóceros, las especies del género *Daphnia* son las más utilizadas como organismos de prueba o de referencia en pruebas de toxicidad. La amplia distribución geográfica, el importante papel que cumplen al interior de la comunidad zooplanctonica, la facilidad de cultivo en el laboratorio, la reproducción partenogenética (lo cual asegura una uniformidad de respuesta) y el corto ciclo de vida con la producción de un alto número de crías, han hecho de éste un grupo ideal para la evaluación de toxicidad, de carácter universal.

Para el desarrollo de pruebas de toxicidad aguda con *Daphnia magna* se emplean neonatos (< 24 h de nacidos) expuestos a diferentes concentraciones de una muestra durante un periodo de 48 h. Como resultado de dicha exposición es posible determinar la concentración de la muestra que produce la muerte al 50 % de la población de neonatos expuestos (concentración letal media o  $CL_{50}$ ), con un nivel de confiabilidad del 95 %.

### **Ensayo estático agudo (48 h) con *Hydra attenuata***

Los pólipos de agua dulce del género *Hydra* son microinvertebrados de la clase Hydrozoa de amplia distribución geográfica y se caracterizan por ser animales pluricelulares, cuyas células se disponen en dos capas: la epidermis y la gastrodermis.

La especie *Hydra attenuata* es empleada como organismo de prueba por la facilidad de su cultivo en laboratorio, su rápida reproducción, su estructura primaria (ectodermo, mesodermo y endodermo), que favorece el intercambio intra e intercelular aumentando su potencial para la detección de tóxicos, así como el presentar cambios morfológicos fácilmente reconocibles bajo condiciones progresivas de intoxicación (Trottier *et al.*, 1997, en Castillo *et al.*, 2004).

Las pruebas de toxicidad con *Hydra attenuata* tienen una duración máxima de 96 horas. La exposición de los organismos a compuestos tóxicos da lugar a una serie de cambios morfológicos (efectos subletales) y, dependiendo de la concentración, puede producir la muerte de los individuos (efectos letales). Los resultados de las pruebas permiten la estimación de los valores de CL<sub>50</sub> y CE<sub>50</sub>, así como de LOEC y NOEC. Durante el ensayo, diariamente se hace un examen microscópico y se registran los cambios morfológicos producidos (Blaise & Kusui, 1997, en Castillo *et al.*, 2004).

### **Ensayo estático agudo (120 h) con *Lactuca sativa***

El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) es una prueba estática de toxicidad aguda (120 horas de exposición) en la que se pueden evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Como puntos finales para la evaluación de los efectos fitotóxicos, se determina la inhibición en la germinación y la inhibición en la elongación de la radícula y del hipocotilo. Muchas de las reacciones y procesos involucrados son generales para la gran mayoría de las semillas, por lo que la respuesta de esta especie y los datos obtenidos a partir de la aplicación de esta prueba son en gran medida representativos de los efectos en semillas o plántulas en general.

Si bien *Lactuca sativa* no es una especie representativa de ecosistemas acuáticos, la información generada a partir de esta prueba de toxicidad proporciona datos acerca del posible efecto de los contaminantes en las comunidades vegetales cercanas a las márgenes de cuerpos de agua contaminados, siendo también una especie interesante de considerar por su importancia desde el punto de vista hortícola. Por otra parte, es de fácil y rápida germinación, por lo que es posible desarrollar la prueba en pocos días.

## ANEXO 4: PROCEDIMIENTO PARA EL CÁLCULO DEL CAUDAL ANUAL DE AGUAS RESIDUALES DE ORIGEN DOMÉSTICO

El caudal anual de aguas residuales de origen doméstico se estimó en base a una dotación (volumen de efluente generado por persona por día) diferenciada entre los habitantes de Montevideo y los habitantes del interior del país, y a la cantidad de habitantes correspondiente.

El cálculo de los valores de dotación se realizó a partir de los datos de consumo de agua y coeficientes de retorno determinados en el marco del cálculo de caudales de tiempo seco para el Diagnóstico del Plan Director de Saneamiento y Drenaje de Montevideo (IM, 2007). Las unidades de cálculo utilizadas en este estudio fueron las denominadas “áreas de saneamiento”, que se refieren a una red existente o proyectada dentro de límites geográficos definidos. Las mismas se muestran en la Figura 1.

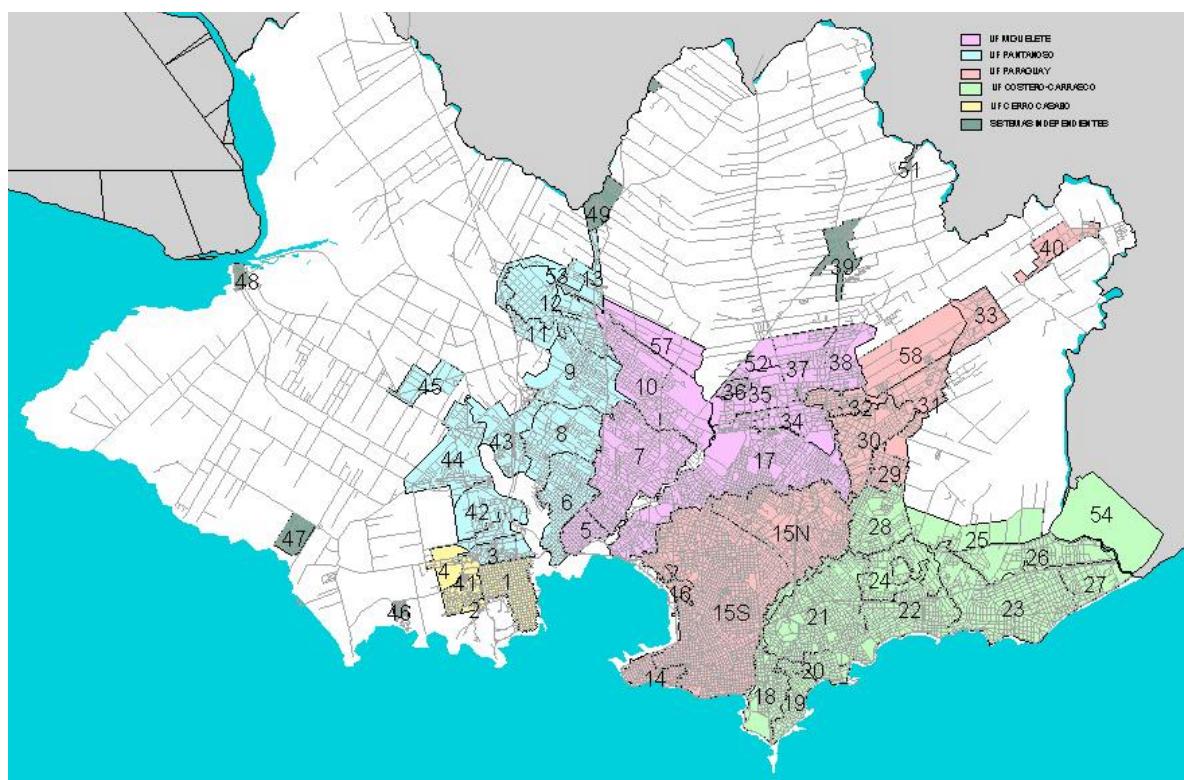


Figura 1: Plano de ubicación de las áreas de saneamiento. Fuente: IM (2006).

A continuación se detallan los datos de base que fueron tomados de este estudio y las consideraciones adicionales realizadas para el cálculo de las dotaciones de efluentes para los habitantes de Montevideo y para los habitantes del interior del país.

### DATOS DE BASE

#### Población servida

De los datos de población y vivienda se obtuvo el promedio de habitantes por viviendas y por área de saneamiento para el año 2004; se aplicó este valor a las unidades servidas y se obtuvieron los habitantes servidos en cada área de saneamiento (IM, 2007).

### Consumo de agua

La IM dispone de los datos de consumo de todas las cuentas de OSE del departamento de Montevideo. A partir de estas cuentas se obtuvieron los datos de consumo y unidades servidas residenciales para el año 2004 en cada área de saneamiento. A su vez, los datos fueron corregidos considerando que el consumo facturado representa el 80 % del consumo total debido a errores de micromedición (IM, 2007).

### Dotación de agua

Del cociente entre consumo anual y habitantes servidos, se obtuvo el dato de dotación por habitante para el año 2004 para cada área de saneamiento (IM, 2007).

### Coeficiente de retorno

El coeficiente de retorno, definido como el cociente entre el volumen de aguas residuales que llega al saneamiento y el volumen de agua que es distribuido, se tomó variable entre 0,70 para las zonas típicamente residenciales y con jardines, y 0,90 para las zonas con mayores densidades, ya que su valor depende de las características que presente el área a considerar (IM, 2007).

### Aumento de la dotación per cápita

Para el año 2035 se supone un aumento de la dotación per cápita del 20 % (estimaciones realizadas en el Plan Director de Agua Potable de Montevideo, 1998) (IM, 2007).

## **DOTACIÓN DE EFLUENTES PARA MONTEVIDEO**

A partir de los datos de dotación de agua y coeficiente de retorno, se calculó la dotación de efluentes en el año 2004 en cada una de las áreas de saneamiento.

Considerando un aumento lineal de la dotación per cápita, que para el año 2035 se supone del 20 %, se calculó el aumento correspondiente al año 2012 que es el año de referencia para realizar los cálculos en el marco de este estudio. Por lo tanto, para el año 2012 se consideró un incremento del 5,2 % respecto a la dotación de efluentes para el año 2004.

Por último, se calculó un valor de dotación de efluentes para Montevideo ponderando la dotación de efluentes en cada una de las áreas de saneamiento por la población correspondiente.

Los datos utilizados y los resultados obtenidos para el cálculo de la dotación de efluentes para los habitantes de Montevideo se resumen en la Tabla 1.

**Tabla 1: Cálculo de dotación de efluentes para habitantes de Montevideo, año 2012**

Área de saneamiento <sup>1,2</sup>	Población (hab)	Dotación de agua (L/hab/día)	Coeficiente de retorno	Dotación de efluentes 2004 (L/hab/día)	Dotación de efluentes 2012 (L/hab/día)
1	26.666	119	0,80	95	<b>100</b>
2	2.253	106	0,80	85	<b>89</b>
3	12.357	122	0,80	98	<b>103</b>
4	3.616	72	0,85	61	<b>64</b>
5	12.603	118	0,85	100	<b>105</b>
6	31.417	117	0,85	99	<b>105</b>
7	58.050	147	0,80	118	<b>124</b>
8	21.805	117	0,80	94	<b>98</b>

Área de saneamiento <sup>1,2</sup>	Población (hab)	Dotación de agua (L/hab/día)	Coeficiente de retorno	Dotación de efluentes 2004 (L/hab/día)	Dotación de efluentes 2012 (L/hab/día)
9	28.031	131	0,80	105	<b>110</b>
10	29.783	138	0,85	117	<b>123</b>
11	4.161	114	0,80	91	<b>96</b>
12	23.771	147	0,80	118	<b>124</b>
13	4.326	163	0,80	130	<b>137</b>
14	17.285	196	0,90	176	<b>186</b>
15N	39.633	154	0,90	139	<b>146</b>
15S	230.992	174	0,90	157	<b>165</b>
16	6.991	156	0,90	140	<b>148</b>
17	89.829	142	0,90	128	<b>134</b>
18	43.062	202	0,90	182	<b>191</b>
19	41.353	235	0,90	212	<b>222</b>
20	29.165	212	0,90	191	<b>201</b>
21	91.976	177	0,90	159	<b>168</b>
22	43.509	183	0,75	137	<b>144</b>
23	38.241	230	0,70	161	<b>169</b>
24	28.637	208	0,80	166	<b>175</b>
25	4.763	151	0,80	121	<b>127</b>
26	12.647	193	0,75	145	<b>152</b>
27	4.845	305	0,70	214	<b>225</b>
28	24.622	129	0,80	103	<b>109</b>
29	10.581	132	0,80	106	<b>111</b>
30	31.908	140	0,80	112	<b>118</b>
31	20.765	108	0,80	86	<b>91</b>
32	6.550	80	0,80	64	<b>67</b>
33	7.492	125	0,80	100	<b>105</b>
34	14.159	107	0,80	86	<b>90</b>
35	18.676	106	0,80	85	<b>89</b>
36	3.320	117	0,80	94	<b>98</b>
37	14.441	124	0,80	99	<b>104</b>
38	13.698	145	0,80	116	<b>122</b>
39	9.414	123	0,80	98	<b>103</b>
40	7.656	139	0,80	111	<b>117</b>
41	15.543	93	0,80	74	<b>78</b>
42	20.280	92	0,80	74	<b>77</b>
43	9.115	120	0,80	96	<b>101</b>
44	14.254	115	0,75	86	<b>91</b>
45	4.756	117	0,75	88	<b>92</b>
46	4.738	105	0,75	79	<b>83</b>

Área de saneamiento <sup>1,2</sup>	Población (hab)	Dotación de agua (L/hab/día)	Coeficiente de retorno	Dotación de efluentes 2004 (L/hab/día)	Dotación de efluentes 2012 (L/hab/día)
47	2.049	126	0,80	101	<b>106</b>
48	1.777	112	0,80	90	<b>94</b>
49	3.354	151	0,80	121	<b>127</b>
50	626	94	0,80	75	<b>79</b>
51	1.201	86	0,80	69	<b>72</b>
52	2.372	108	0,80	86	<b>91</b>
53	1.768	129	0,80	103	<b>109</b>
57	1.611	135	0,80	108	<b>114</b>
58	5.381	78	0,80	62	<b>66</b>
<b>Dotación de efluentes para Montevideo (2012)</b>					<b>140</b>

<sup>1</sup> Para el área 54 (Paso y Barra Carrasco) no se cuenta con el dato de dotación de agua, por lo tanto no fue incluida en los cálculos.

<sup>2</sup> Las áreas 55 y 56 son zonas industriales (Zona industrial Belvedere y Zona industrial Hipódromo respectivamente), por lo cual no fueron incluidas en los cálculos.

De los resultados obtenidos, se tiene que la dotación de efluentes para los habitantes de Montevideo es de 140 L/hab/día.

## DOTACIÓN DE EFLUENTES PARA EL INTERIOR

Debido a que no se tuvo acceso a información suficiente para la determinación de la dotación de efluentes para los habitantes del interior del país, se consideraron los datos correspondientes a Montevideo excluyendo los valores más elevados según el siguiente criterio:

- Se calculó el valor medio de la serie de datos de dotaciones de efluentes para el año 2012.
- Se calculó la desviación estándar de la serie de datos de dotaciones de efluentes para el año 2012.
- Se determinó el valor de corte superior para la serie de datos a considerar, como la suma del promedio más la desviación estándar.

Los valores se resumen en la Tabla 2.

**Tabla 2: Valor de corte para cálculo de dotación de efluentes para habitantes del Interior**

Valor	Dotación (L/hab/día)
Promedio	119
Desviación estándar	38
<b>Valor de corte</b>	<b>157</b>

Por lo tanto, para el cálculo del valor representativo de la dotación de efluentes para los habitantes del interior del país serán consideradas aquellas áreas de saneamiento con una dotación menor a 157 L/hab/día.

De forma análoga que para el caso de Montevideo, se calculó un valor de dotación de efluentes para el interior del país ponderado la dotación de efluentes en cada una de las áreas de saneamiento con una dotación menor a 157 L/hab/día por la población correspondiente.

Los datos utilizados (47 áreas en total) y los resultados obtenidos para el cálculo de la dotación de efluentes para habitantes del Interior del país se resumen en la Tabla 3.

**Tabla 3: Cálculo de dotación de efluentes para habitantes del Interior, año 2012**

Área de saneamiento	Población (hab)	Dotación de agua (L/hab/día)	Coeficiente de retorno	Dotación de efluentes 2004 (L/hab/día)	Dotación de efluentes 2012 (L/hab/día)
1	26.666	119	0,80	95	<b>100</b>
2	2.253	106	0,80	85	<b>89</b>
3	12.357	122	0,80	98	<b>103</b>
4	3.616	72	0,85	61	<b>64</b>
5	12.603	118	0,85	100	<b>105</b>
6	31.417	117	0,85	99	<b>105</b>
7	58.050	147	0,80	118	<b>124</b>
8	21.805	117	0,80	94	<b>98</b>
9	28.031	131	0,80	105	<b>110</b>
10	29.783	138	0,85	117	<b>123</b>
11	4.161	114	0,80	91	<b>96</b>
12	23.771	147	0,80	118	<b>124</b>
13	4.326	163	0,80	130	<b>137</b>
15N	39.633	154	0,90	139	<b>146</b>
16	6.991	156	0,90	140	<b>148</b>
17	89.829	142	0,90	128	<b>134</b>
22	43.509	183	0,75	137	<b>144</b>
25	4.763	151	0,80	121	<b>127</b>
26	12.647	193	0,75	145	<b>152</b>
28	24.622	129	0,80	103	<b>109</b>
29	10.581	132	0,80	106	<b>111</b>
30	31.908	140	0,80	112	<b>118</b>
31	20.765	108	0,80	86	<b>91</b>
32	6.550	80	0,80	64	<b>67</b>
33	7.492	125	0,80	100	<b>105</b>
34	14.159	107	0,80	86	<b>90</b>
35	18.676	106	0,80	85	<b>89</b>
36	3.320	117	0,80	94	<b>98</b>
37	14.441	124	0,80	99	<b>104</b>
38	13.698	145	0,80	116	<b>122</b>
39	9.414	123	0,80	98	<b>103</b>
40	7.656	139	0,80	111	<b>117</b>
41	15.543	93	0,80	74	<b>78</b>

Área de saneamiento	Población (hab)	Dotación de agua (L/hab/día)	Coeficiente de retorno	Dotación de efluentes 2004 (L/hab/día)	Dotación de efluentes 2012 (L/hab/día)
42	20.280	92	0,80	74	<b>77</b>
43	9.115	120	0,80	96	<b>101</b>
44	14.254	115	0,75	86	<b>91</b>
45	4.756	117	0,75	88	<b>92</b>
46	4.738	105	0,75	79	<b>83</b>
47	2.049	126	0,80	101	<b>106</b>
48	1.777	112	0,80	90	<b>94</b>
49	3.354	151	0,80	121	<b>127</b>
50	626	94	0,80	75	<b>79</b>
51	1.201	86	0,80	69	<b>72</b>
52	2.372	108	0,80	86	<b>91</b>
53	1.768	129	0,80	103	<b>109</b>
57	1.611	135	0,80	108	<b>114</b>
58	5.381	78	0,80	62	<b>66</b>
<b>Dotación de efluentes para el Interior (2012)</b>					<b>115</b>

De los resultados obtenidos, se tiene que la dotación de efluentes para los habitantes del interior del país es de 115 L/hab/día.

## CÁLCULO DE CAUDALES

El caudal de aguas residuales de origen doméstico se calculó multiplicando la dotación de efluentes por la cantidad de habitantes, tanto para Montevideo como para el interior del país, y se sumaron ambos valores. Se obtuvo así el caudal anual de aguas residuales de origen doméstico en Uruguay.

Los valores utilizados y los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4.

**Tabla 4: Caudal anual de aguas residuales de origen doméstico en Uruguay<sup>1</sup>**

Lugar	Población <sup>2</sup> (hab)	Dotación (L/hab/día)	Caudal anual (L/año)
Montevideo	1.319.108	140	$6,74 \times 10^{10}$
Interior	1.967.206	115	$8,26 \times 10^{10}$
<b>TOTAL</b>	<b>3.286.314</b>	--	<b><math>1,50 \times 10^{11}</math></b>

<sup>1</sup> No están considerados otros aportes, como el aporte adicional a la red de saneamiento por el caudal de infiltración, ni intrusiones pluviales, ni aporte de efluentes de otras fuentes (industrias, etc.).

<sup>2</sup> Datos tomados del Censo 2011 (INE, 2011).