

**UNIVERSIDAD MILITAR
NUEVA GRANADA**



**INFLUENCIA DEL pH EN LA DEGRADACIÓN DE LAS SUSTANCIAS
DISRUPTORAS ENDOCRINAS APLICANDO OZONO**

Angélica María Muñoz Huertas

Trabajo de investigación

Tutor:
Adela Tatiana Rodríguez Chaparro Ph.D

**UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA
FACULTAD DE INGENIERÍA
INGENIERÍA CIVIL
BOGOTÁ
2013**

INFLUENCIA DEL pH EN LA DEGRADACIÓN DE SUSTANCIAS DISRUPTORAS ENDOCRINAS (EDCs) APLICANDO OZONO

INFLUENCE OF pH ON THE DEGRADATION OF ENDOCRINE DISRUPTING SUBSTANCES (EDCs) BY OZONE

Angélica Muñoz¹, Tatiana R. Chaparro²

^{1,2} Programa de Ingeniería Civil, Laboratorio de Saneamiento Ambiental, Universidad Militar Nueva Granada. Cra. 11 N^o 101-80. Bogotá, Colombia.

RESUMEN

Las sustancias disruptoras endocrinas son consideradas como contaminantes emergentes, su presencia en fuentes de agua y aguas residuales está siendo objeto de interés debido principalmente a la falta de conocimiento de los efectos en la salud y el medio ambiente. Los tratamientos convencionales no son capaces de transformar o reducir este tipo de compuestos, por tanto es necesario recurrir a procesos avanzados, por ejemplo, el ozono. Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar la influencia del pH en la transformación de hormonas presentes en pastillas anticonceptivas comerciales aplicando ozono. Los valores de pH estudiados fueron pH = 3, pH = 7 y pH = 10. Se encontró que para todos los valores de pH evaluados, a medida que la dosis aplicada de ozono aumenta, aumenta también la presencia de compuestos orgánicos derivados de las hormonas presentes en las pastillas anticonceptivas, por ejemplo para la UV₂₅₄ aplicando una dosis de 0,23 mg/L se obtuvo un incremento del 100% en pH básico.

Autor de correspondencia: teléfono: +576500000 ext 1286, fax: +57 2147280 correo electrónico: adela.rodriguez@unimilitar.edu.co (T. Chaparro)

Sin embargo, es importante resaltar que para la biodegradabilidad se presentaron efectos positivos en todas las condiciones estudiadas, indicando que si hubo una transformación del compuesto original y que es posible, posteriormente tener un postratamiento de tipo biológico que continúe con la degradación de este tipo de compuestos.

Palabras clave: Biodegradabilidad, Disruptores Endocrinos, Hormonas, Ozono.

ABSTRACT

The disrupted endocrine substances are considered as emerging contaminants, its presence in water sources and wastewater it is been subject of interest mainly due to the lack of knowledge about its effects upon health and environment. The conventional treatments are not capable to transform or reduce this kind of components, so is necessary to study advanced processes, for example, ozone. Based on this, the purpose of this research was to evaluate the pH influence in the hormone transformation present in contraceptive pills applying ozone. The pH values studied were pH=3, pH=7 and pH=10. It was found that for all pH values studied, if the ozone dose increases, the presence of organic compounds derived from the pills also increases, for example: for the UV_{254} applying a 0,23 mg/L dose a 100% increase in basic pH. However, it is to be highlighted that for the biodegradability there were positive effects in all studied conditions, indicating that there was a transformation of the original compound and that it is possible to have a future biological treatment in order to continue the degradation of this type of compounds.

Key words: Biodegradability, Endocrine Disrupting, Hormones, Ozone.

INTRODUCCIÓN

Los disruptores endocrinos (EDC's) son sustancias o mezclas exógenas capaces de alterar las funciones del sistema endocrino, perturbando el sistema hormonal y causando efectos adversos en la salud de seres vivos y su futura población [1], algunos de estos efectos incluyen el aumento en la incidencia de cáncer y el deterioro de los procesos reproductivos [2]. Según [3], los estrógenos naturales (17β -estradiol, estrona) y los estrógenos sintéticos (17α -etinilestradiol), son la causa principal de la actividad estrogénica en efluentes de las Plantas de Tratamiento de Agua Potable, debido a su remoción incompleta durante el tratamiento de aguas residuales. La lista total de disruptores endocrinos incluye 564 sustancias químicas, de las cuales 147 tienden a estar persistentes en el medio ambiente. Los EDCs a diario se encuentran en contacto con los seres humanos en perfumes, detergentes, aromatizantes, etc., [4] o entran al medio ambiente a través de escorrentía o infiltración de los desechos animales [5] y son encontradas en aguas residuales domésticas, efluentes de plantas de tratamiento de agua residual, agua natural y potable. Lo anterior puede traer diversas complicaciones para la salud, que no solo dependen de la concentración en la que se encuentran, también de su acumulación, tiempo de exposición, mecanismos de transformación, debido a que pueden resultar subproductos mucho más peligrosos que los originales [1].

La detección de los EDC's en el agua no es una tarea fácil, principalmente porque estas sustancias se presentan en bajas concentraciones, por lo general en el orden de ng/L [4], adicional a lo anterior, las técnicas analíticas están siendo hasta ahora desarrolladas, son muy costosas y requieren la preparación extensa de muestras y el uso de equipos técnicos altamente calificados. Los procesos de tratamiento comunes de agua potable (coagulación, sedimentación y filtración) y de agua residual (decantador, digester de lodos, lodos activados, filtro biológico, tratamientos

anaerobios, etc.) no son efectivos para la eliminación de estas sustancias debido a que poseen diversos compuestos orgánicos de difícil tratabilidad, por lo tanto, es necesario el uso de tratamientos avanzados y diversas tecnologías tales como los procesos de oxidación avanzada, carbón activado y tecnología de membrana que han sido investigados [6].

El ozono es un electrófilo que reacciona con aminas y fenoles, es decir con compuestos orgánicos, gracias a la producción del ión HO° que contiene alto poder de oxidación [7], es el segundo oxidante más poderoso después del flúor y hace parte de los POA (Procesos de Oxidación Avanzada), ha sido estudiado principalmente en la remoción de las hormonas estradiol, etinilestradiol y estrona, para las que ha obtenido una remoción mucho más eficiente por contener partículas fenólicas [9].

Mediante su empleo, se oxida la materia fenólica obteniendo así una reacción de tipo químico que aumenta la biodegradabilidad, para posteriormente ser removida con el empleo de procesos biológicos utilizados en las plantas de tratamiento convencionales. El ozono comparado con el cloro, el carbón activado, la UV, etc., ha obtenido buenos resultados, logrando remociones del 99% para los estrógenos [7].

El grupo de las hormonas es el grupo fenólico, cuando éste se encuentra en forma de fenolato hay mayor reactividad, debido a que reacciona con electrófilos más fácilmente que el propio fenol. La velocidad de reacción de ozono con el fenolato ($1.4 \pm 0.4 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) es mucho más alta que con el fenol ($1.3 \pm 0.2 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) en un rango de pH de 2 a 6, por lo tanto el pH es un factor fundamental, pues en pH ácido la concentración del fenolato es despreciable, por el contrario, entre más básico sea el pH, todo el fenol estará en forma de fenolato [3].

Otro aspecto por el que es importante el pH, es que después de la reacción se encuentra ozono residual en el agua, generalmente en el rango de 0 – 90 ng/L para pH 3, pero la concentración

residual es menor para pH básicos, lo que indica que la oxidación a un pH básico es ligeramente más eficiente para menores concentraciones. [3].

A partir del uso de técnicas espectrofotométricas, se puede determinar la presencia de cierto tipo de sustancias en una muestra de agua, tal como lo indica la ley de Lambert Beer, que explica que cuando un rayo de luz monocromática pasa a través de un medio absorbente, la intensidad disminuye exponencialmente a medida que la concentración del medio aumenta, es decir que a mayor concentración de partículas o sustancias en el agua, mayor será el valor de absorbancia medido.

El principio de la espectroscopia ultravioleta-visible involucra la absorción de radiación ultravioleta-visible por una molécula, causando la promoción de un electrón de un estado basal a un estado excitado. La absorción UV visible se da en dos etapas: Excitación electrónica y luego relajación [5].

La excitación corresponde a los picos de enlace UV permitiendo identificar grupos funcionales en una molécula, los grupos que absorben luz (cromóforos), son identificados en las longitudes de onda que se registran en un espectro UV-VIS que estén entre 200 y 800 nm, si se trata de sustancias coloreadas, las mediciones se realizan en la zona visible del espectro electromagnético entre 380 a 800 nm y para sustancias no coloreadas, las mediciones se realizan en la región ultravioleta del espectro electromagnético entre 200 y 380 nm [8].

De acuerdo a lo anterior, la materia orgánica no biodegradable, al reaccionar con el ozono se convierte en una sustancia menos agresiva conformada por materia orgánica biodegradable, la cual puede ser medida por medio de la radiación ultravioleta visible, de modo que se determine si realmente ocurre o no tal aumento.

En razón de lo expuesto, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar la influencia del pH en la degradación de hormonas presentes en pastillas anticonceptivas comerciales aplicando ozono y utilizando técnicas espectrofotométricas para su detección.

EXPERIMENTACIÓN

Preparación de soluciones

Para la realización de los experimentos, se utilizaron las pastillas anticonceptivas comerciales “Nordette”, cuya composición es 0,150 mg de Levonorgestrel y 0,030 mg de Etinilestradiol. Las soluciones se prepararon con base en lo sugerido por [7]. Se utilizaron 5 pastillas, que se disolvieron en 1 L de agua ultra pura, lo que resultó en una concentración inicial de 660 mg/L medida como DQO. Sin embargo, vale la pena decir que la concentración de levonorgestrel y etinilestradiol, es mucho menor debido a los excipientes y otras sustancias que componen este medicamento. Las soluciones preparadas se filtraban en membrana de 0,45 *um* y eran utilizadas inmediatamente en los ensayos de aplicación del ozono.

Aplicación de ozono

La aplicación del ozono se realizó utilizando un reactor de tubo cilíndrico tipo Batch de vidrio boro-silicato, altura 733 mm, diámetro externo 55 mm e interno 45 mm, de capacidad 1 L. En el fondo, el reactor cuenta con un difusor poroso de tamaño de poro medio. Para proveer de ozono el sistema, se empleó el generador Microzone 300P 120V/60HZ marca Clearwater Tech, LLC, con una producción de ozono de 233 mg O₃/h. El ozono no consumido era transferido a un frasco cilíndrico que contenía una solución de KI al 2%, en donde era destruido y cuantificado siguiendo las recomendaciones de [13]. La Figura 1 muestra un esquema del reactor y sus componentes.

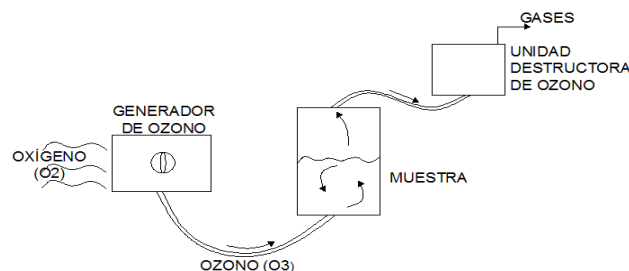


Figura 1. Esquema del montaje experimental para la aplicación de ozono

Los valores de pH estudiados fueron $\text{pH} = 3$, $\text{pH} = 7$ y $\text{pH} = 10$, variando cada uno de ellos con ácido sulfúrico (H_2SO_4), 1 mol/L e hidróxido de sodio (NaOH), 1 mol/L, según fuera el caso. El volumen ozonizado fue 500 mL, durante 30 minutos, en los cuales se tomaron muestras en diferentes tiempos de reacción y dosis de ozono, a saber: 0 min (0,00 mgO_3/L), 10 min (0,08 mgO_3/L), 20 min (0,16 mgO_3/L) y 30 minutos (0,23 mgO_3/L).

Procedimientos experimentales

En la Tabla 1 se indican los parámetros estudiados. Todos los análisis se hicieron por duplicado y se presentan como valores medios.

Tabla 1. Parámetros evaluados

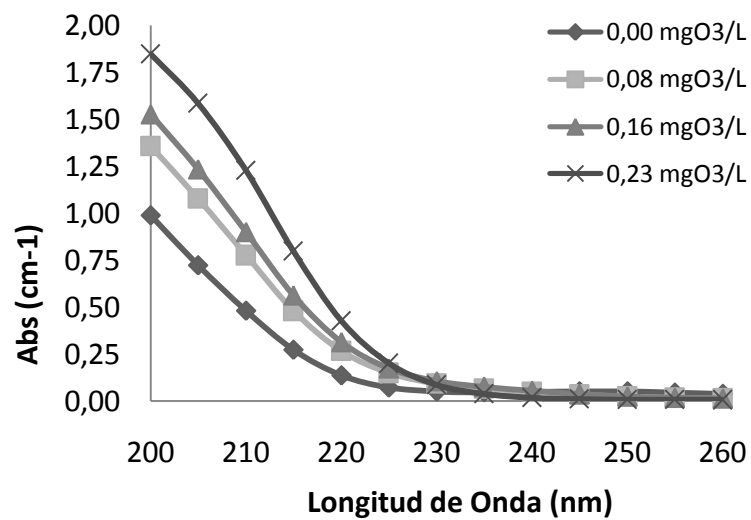
Tratamiento	Parámetro	Unidades	Método analítico
Ozono	UV_{254}	cm^{-1}	5910 [13]
	pH	-	4500- H^+ [13]
	DBO	mgO_2/L	5310 [13]
	DQO	mgO_2/L	5220D [13]
	Ozono residual	mgO_3/min	2350 [13]

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

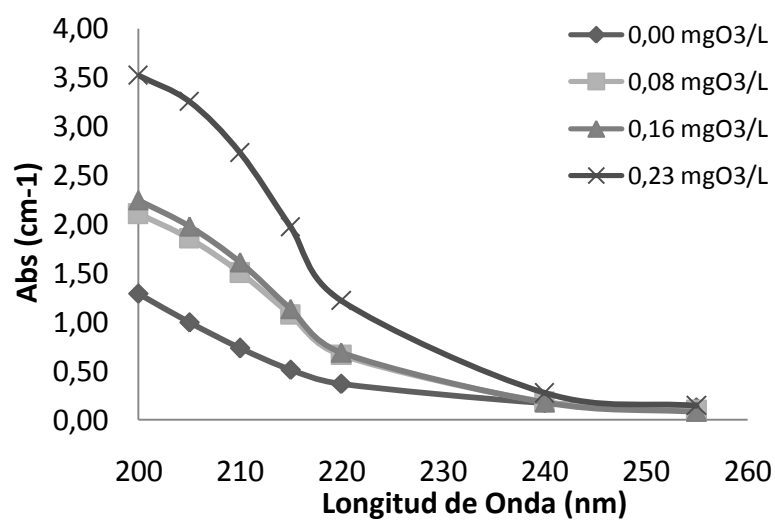
Efecto en los valores de la absorbancia en las longitudes de onda, 200 – 260 nm

La medida de absorción UV es un indicador de la concentración de compuestos orgánicos encontrados en el agua. De acuerdo con [3], la absorbancia que se encuentre en un rango de longitud de onda de 190–300 nm, representa la presencia de los enlaces dobles y triples de carbono, y un intervalo de absorción UV hasta 280 nm representa la presencia del anillo fenólico. Las hormonas etinilestradiol y levonorgestrel están compuestas de anillos fenólicos, luego, estudiar la transformación de estos compuestos utilizando la medida de la absorción UV en este caso, es una herramienta útil y complementaria a los ensayos tradicionales.

De acuerdo con los resultados, se encontró en todos los valores de pH estudiados que a medida que la dosis de ozono aumenta, los valores de la absorbancia en las longitudes de onda estudiadas también lo hacen, indicando probablemente que las sustancias presentes en las pastillas anticonceptivas se transforman en compuestos orgánicos que absorben energía en las mismas longitudes de onda (Ver Figura 2.a, 2.b y 2.c).



a*



b*

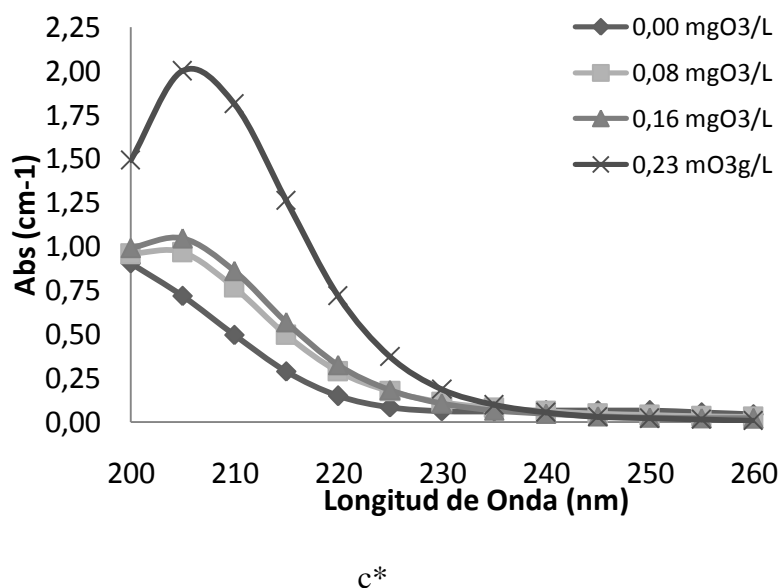


Figura 2. Espectro UV-visible de las muestras de etinilestradiol y levonorgestrel con dosis de ozono de 0, 0,08, 0,16 y 0,23 mgO₃/L. *a.* pH 3; *b.* pH 7; *c.* pH 10.

* Los valores de absorción ya han sido afectados por el factor de dilución.

En el caso de la UV₂₅₄, se encontró que hubo un aumento de 87% correspondiente al pH ácido, de 173% para el pH neutro y de 121% para el pH básico. Indicando esto, que aparecieron nuevos compuestos orgánicos de doble enlace conjugado, es decir hubo una transformación de la sustancia original. Sin embargo, no es posible decir cuáles son los compuestos que se formaron, para esto es necesario implementar técnicas cromatográficas.

Según [3], durante la ozonización de compuestos estrogénicos, se observó la formación de tres posibles subproductos, 2-hidroxiestradiol, dihidroxi y estradieno, principalmente a pHs básicos, los cuales son cerca de 20 veces menos poderosos que las hormonas de las cuales proceden, por lo tanto, los resultados obtenidos indican que las nuevas sustancias derivadas de la reacción del ozono con las hormonas etinilestradiol y levonorgestrel son más biodegradables que las originales.

Otros tratamientos han sido empleados para tratar aguas que contienen hormonas, por ejemplo autores como [7, 10, 11] encontraron que el Carbón Activado en Polvo (PAC) reduce entre un 40% y un 75% la concentración de etinilestradiol presente en aguas superficiales de los Estados Unidos en un tiempo de contacto de 4 horas.

Mediante la aplicación de ozono se obtuvo una remoción para la hormona 17α -etinilestradiol presente en agua de un lago del 97% y remociones del 100% para las hormonas etinilestradiol y estradiol presentes en agua destilada [1, 9].

Efecto en la biodegradabilidad

El ozono molecular reacciona principalmente con los grupos funcionales que son donadores de electrones, esta característica puede ser bastante interesante debido a que el anillo fenólico de las hormonas estudiadas es el responsable de conferir su actividad estrogénica.

La relación DQO/DBO₅ es usada para determinar la parte orgánica biodegradable en el agua residual. Esta relación permite comparar la cantidad de oxígeno requerido para la oxidación por microorganismos, con el oxígeno total requerido por oxidación química de los compuestos presentes en la muestra [12].

En general la aplicación de ozono en todos los casos tuvo un efecto positivo en razón a que se logró la reducción de la relación de DQO/DBO₅. En el caso del pH neutro se observó un aumento del 28% en la biodegradabilidad, como consecuencia del aumento en un 38% en los valores de la DBO. Para el pH básico el aumento de biodegradabilidad fue del 26%, en este caso debido a que la DBO aumento en un 30%. Por el contrario para el pH ácido no se observó aumento en la biodegradabilidad, los valores de la DQO y DBO fueron 656 mgO₂/L y 134 mgO₂/L respectivamente. De lo anterior se puede decir que se presentó una oxidación parcial de los

compuestos aromáticos para los valores de pH neutro y básico, posiblemente como resultado del cambio de estado de oxidación del carbono presente en la materia orgánica. Es decir mediante la aplicación de ozono no se mineralizan las hormonas, si no que se transforman en un estado más biodegradable.

CONCLUSIONES

Se encontró que para todos los valores de pH estudiados, a medida que la dosis aplicada de ozono aumenta, aumenta la presencia de compuestos orgánicos derivados de las hormonas presentes en las pastillas anticonceptivas comerciales. Así mismo, se observó que la biodegradabilidad aumentó en pH básico y neutro, en un 28% y 26% respectivamente, en cambio para pH ácido no se observó ningún cambio. De lo anterior se puede decir, que los compuestos orgánicos que se formaron durante la aplicación de pH básico, son más biodegradables que en los otros valores de pH. Sin embargo, es necesario complementar este estudio desarrollando técnicas cromatográficas, que permitan identificar y cuantificar los nuevos compuestos orgánicos formados, así como evaluar los efectos tóxicos en la salud y el medio ambiente.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la Universidad Militar Nueva Granada por el apoyo financiero, al Laboratorio de Calidad de Aguas y al Laboratorio de Saneamiento Ambiental por el apoyo técnico.

REFERENCIAS

1. S. Esplugas, D. M. Bila, L. G. Krause, M. Dezotti. "Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents". *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 149. 2007. pp. 631-642.
2. D. W. Kolpin, E. T. Furlong, M. T. Meyer, E. M. Thurman, S. D. Zaugg, L. B. Barber, H. T. Buxton. "Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999–2000: A National Reconnaissance". *Environmental Science Technology*. Vol. 36. N° 6. 2002. pp. 1202-1211.
3. D. Bila, A. F. Montalvao, D. A. Azevedo, M. Dezotti, "Estrogenic activity removal of 17 β -estradiol by ozonation and identification of by-products". *Chemosphere*. Vol. 69. 2007. pp. 736-746.
4. N. Bolong, A.F. Ismail, M. R. Salim, T. Matsuura. "A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal". *Desalination*. Vol. 239. 2009. pp. 229-246.
5. T. C. Kibbey, L. Chen, N. Singhaputtangkul, D.A. Sabatini. "A UV-transparent passive concentrator/spectrum deconvolution method for simultaneous detection of endocrine disrupting chemicals and related contaminants in natural water". *Chemosphere*. Vol. 76. 2009. pp. 1249-1257.
6. D. Altmann, H. Schaar, C. Bartel, D. Schorkopf., I. Miller, N. Kreuzinger, E. Mostl, B. Grillitsch. "Impact of ozonation on ecotoxicity and endocrine activity of tertiary treated wastewater effluent". *Water Research*. Vol. 46. 2012. pp. 3693-3702

7. P. Westerhoff, Y. Yoon, S. Snyder, E. Wert. "Fate of Endocrine – Disruptor, Pharmaceutical, and Personal Care Product Chemicals during Simulated Drinking Water Treatment Processes". *Environmental Science Technology*. Vol 39. N° 17. 2005. pp. 6649-6663.
8. David T. Plummer. "Introducción a la bioquímica práctica". McGraw-Hill (editora) Universidad de Barcelona. 1981. pp. 94, 101.
9. N. Nakada, H. Shinohara, A. Murata, K. Kiri, S. Managaki, N. Sato, H. Takada. "Removal of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine-disrupting chemicals (EDCs) during sand filtration and ozonation at a municipal sewage treatment plant". *Water Research*. Vol. 41. 2007. pp. 4373-4382.
10. P. Roccaro, M. Sgroi, F. Vagliasindi. "Treatment processes and costs for the removal of emerging contaminants in wastewater reuse systems". Impress.
11. M. J. Benotti, R. A. Trenholm, B.J. Vanderford, J. C. Holady, B.D. Stanford, S.A. Snyder, "Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Compounds in U.S. Drinking Water". *Environmental Science & Technology*. Vol 43, N° 3, 2009, pp. 597-603.
12. D. Grisales, J. Ortega, T. Rodríguez, "Tratamiento de aguas residuales hospitalarias aplicando ozono". 2011. Impress.
13. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th. Ed American Public Health Organization, Washington, DC, USA, 2005.