

REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y TOXICIDAD EN UN REACTOR ANAEROBIO DE BIOMASA INMOVILIZADA Y FLUJO ASCENDENTE TRATANDO AGUA RESIDUAL HOSPITALARIA: EVALUACION PRELIMINAR

REMOVAL OF ORGANIC MATTER AND TOXICITY IN AN UPFLOW IMMOBILIZED BIOMASS ANAEROBIC REACTOR TREATING HOSPITAL WASTEWATERS: PRELIMINARY EVALUATION

MÓNICA PORRAS TORRES

Programa de Ingeniería Civil, Grupo de Investigación en Tratamiento de Agua, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá Colombia, monicaporras.t@gmail.com

JOSÉ CARDOZO LÓPEZ

Programa de Ingeniería Civil, Grupo de Investigación en Tratamiento de Agua Grupo de Tratamiento de Agua, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá Colombia, jose.cardozolpz@gmail.com

TATIANA RODRÍGUEZ CHAPARRO

Programa de Ingeniería Civil, Grupo de Investigación en Tratamiento de Agua, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá Colombia, adela.rodriguez@unimilitar.edu.co

RESUMEN: El objetivo de esta investigación consistió en evaluar el desempeño de un reactor anaerobio de flujo ascendente de biomasa inmovilizada (RAFABI) tratando un efluente hospitalario real. Se estudio la remoción de materia orgánica y toxicidad, por medio de análisis como UV_{254nm} , $DQO_{filtrada}$ y determinación del porcentaje de inhibición en el crecimiento de la raíz de la cebolla. Los resultados mostraron que el proceso biológico estuvo estable durante los 287 días de operación continua, el valor medio de la relación AI/AP fue de 1.21 ± 0.08 , indicando que no hubo acumulación de ácidos en el sistema. Sin embargo, los valores de la eficiencia de remoción de $DQO_{filtrada}$, $56 \pm 15\%$ y UV_{254nm} , $21 \pm 36\%$, no fueron representativos. La toxicidad se redujo en 50%. Con base en lo anterior, es necesario utilizar el reactor anaerobio en combinación con otros procesos como por ejemplo los procesos de oxidación avanzada, para continuar reduciendo la materia orgánica recalcitrante al proceso anaerobio. Se comprobó la capacidad que tienen los reactores anaerobios de biomasa inmovilizada para remover la toxicidad.

PALABRAS CLAVES: *Allium cepa L*, efluentes hospitalarios, recalcitrancia, toxicidad.

ABSTRACT: The aim of this research was to evaluate the performance of an Upflow Immobilized Biomass Anaerobic Reactor (UIBA) treating a real hospital wastewater. The organic matter removal and the toxicity were assessed through COD, UV_{254nm} and the measure of the growth inhibition of the *Allium cepa L* roots. The results show that the biological process was stable during the 287 days of continuous operation; the mean value of the IA/PA relation was 1.21 ± 0.08 , indicating that there was not acid accumulation in the system. However, the removal efficiency of COD, $56 \pm 15\%$ and UV_{254nm} , $21 \pm 36\%$, is not quite representative. The toxicity was reduced in 50%. Therefore, it is necessary to continue with the removal of organic matter to combine the anaerobic process with other process such as advanced oxidation process. Was verified the capacity of the anaerobic immobilized process to remove the compounds that produce toxicity.

KEYWORDS: *Allium cepa L*, hospital effluents, recalcitrance, toxicity.

1. INTRODUCCIÓN

Los hospitales requieren una cantidad significativa de agua por día para los diferentes propósitos y servicios en función de las actividades realizadas [1]. Estas aguas se disponen generalmente en el sistema de alcantarillado urbano sin previo tratamiento, conteniendo una alta variedad de sustancias tóxicas y persistentes, tales como, residuos farmacéuticos, radionúclidos, solventes y desinfectantes utilizados con fines médicos en un amplio rango de concentraciones debido principalmente a: actividades en laboratorios, investigación y excreción de los medicamentos en los pacientes, la mayoría de estos compuestos pertenecen al grupo de los llamados “compuestos emergentes”. El control y el manejo de los efluentes hospitalarios se consideran de alta importancia debido a que representan un alto nivel de amenaza, no solo para la salud pública, también debido a los problemas que se pueden generar en los ecosistemas por la presencia de estos compuestos. De acuerdo con [2], varios autores señalan en la literatura que los sistemas de tratamiento convencionales que son usados en las estaciones de tratamiento municipales no tienen la capacidad de tratar este tipo de compuestos.

Estas sustancias, no están reguladas totalmente, lo que las hace candidatas ideales para por medio de estudios, analizar su potencial efecto en la salud, ocurrencia en los sistemas de tratamiento de agua y destino final en el ambiente. Por ejemplo, las descargas incontroladas de aguas servidas hospitalarias que trataban pacientes con cólera han sido ampliamente relacionadas con epidemias de cólera en algunos países latinoamericanos. [1]

Los procesos anaerobios de biomasa inmovilizada, pueden ser una tecnología atractiva para tratar efluentes hospitalarios, debido no solo a su ya reconocida capacidad de tolerar sustancias tóxicas y altas cargas orgánicas, también a que requieren áreas pequeñas para su funcionamiento, lo que sería ventajoso para los centros hospitalarios. Recientemente, se ha venido estudiando el tratamiento de aguas

residuales con presencia de compuestos farmacéuticos utilizando procesos anaerobios [3,4], la mayoría de estos estudios muestran resultados con sustancias específicas y culturas puras. Existe un número limitado de estudios experimentales que investiguen los efectos de los compuestos farmacéuticos o de aguas residuales hospitalarias reales en ambientes anaerobios. En este sentido, y teniendo en cuenta que la clave para la degradación anaerobia de compuestos recalcitrantes y tóxicos es la inmovilización de la biomasa, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar el desempeño de un reactor anaerobio de flujo ascendente de biomasa inmovilizada tratando un efluente real hospitalario.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente y Biomasa Inmovilizada

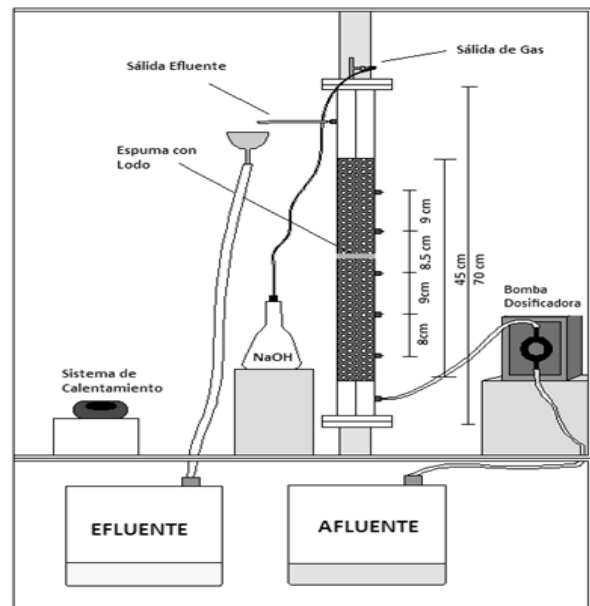


Figura 1. Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente de biomasa inmovilizada (**RAFABI**).

Figure 1. Upflow Immobilized Biomass Anaerobic Reactor. (**UIBA**).

El reactor anaerobio fue elaborado en acrílico, con una longitud de 70 cm y un diámetro de 8 cm, con un volumen total de 3648 ml y un volumen útil de 1200 ml, como se observa en la Figura 1. El reactor operó continuamente durante 287 días con un tiempo de detención hidráulica (TDH) de 12 ± 0.6 horas, controlado

por el caudal de alimentación que a su vez fue controlado con una bomba dosificadora de diafragma de marca Pulssafeder (Electronic Metering Pumps®). Tiene 5 puntos para muestreo y una salida para el biogás que está conectada a un sistema de sello hidráulico que contiene una solución de hidróxido de sodio (NaOH-1mol/L). El diseño siguió las recomendaciones hechas por [5]. El reactor se instaló en una cámara revestida de icopor, la cual se acondiciono a una temperatura de $30^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Como soporte para inmovilización de la biomasa anaerobia fue utilizado el material de cilindros de espuma poliuretano organizado de 58 mm de largo con un diámetro de 23.2 mm, con una densidad aparente de $0,018 \text{ g/cm}^3$. La espuma de poliuretano fue inoculada siguiendo las recomendaciones de [6] con lodo proveniente de un reactor anaerobio de circulación interna que trata las aguas residuales de la Industria cervecera Bavaria S.A., localizada en la autopista norte, Km 30, Tocancipa (Cundinamarca-Colombia).

El reactor anaerobio de flujo ascendente de biomasa inmovilizada (RAFABI), fue alimentado inicialmente con agua residual sintética (ARS) y posteriormente acondicionado por etapas de operación con agua residual hospitalaria real proveniente del Hospital Militar Central de la ciudad de Bogotá (ARH_{Real}). El agua residual sintética se realizó de acuerdo con lo sugerido por [7] (Ver Tabla 1); y adición de nutrientes, para mantener la relación sugerida por [8] de 500:5:1 (DQO/N/P). La operación del reactor se dividió en diferentes etapas, con base en el valor de la carga orgánica volumétrica (COV) de la siguiente forma: de los 5 a los 16 días con ARS, dando como resultado un valor de COV de $4,84 \text{ KgDQO/m}^3\cdot\text{día}$, esta etapa se considero como una previa aclimatación para que los microorganismos se pudieran adaptar mejor y gradualmente al ARH_{Real}. La etapa 1 corresponde a los días 16 a 81 de operación, en ésta, se operó con un COV de $4,14 \text{ KgDQO/m}^3\cdot\text{día}$, lo que corresponde a una proporción de 70% de ARS + 30% ARH_{Real}. La etapa 2, se considero entre los días 81 a 97 días, en estas se operó con un COV de $7,08 \text{ KgDQO/m}^3\cdot\text{día}$, correspondiente a una proporción de 50% de ARS + 50 % ARH_{Real}. La etapa 3 se considero,

de los días 97 a 200 operando con un COV de $0,84 \text{ KgDQO/m}^3\cdot\text{día}$, que corresponde a la proporción de 30% ARS + 70% ARH_{Real}. Por último la etapa 4 fue de los días 200 a 287 días con COV de $0,82 \text{ KgDQO/m}^3\cdot\text{día}$ correspondiente al 100% ARH_{Real}. En los días 211 a 235 días el reactor presento un choque térmico. En este periodo el reactor fue alimentado con una solución de Bicarbonato de sodio ,1g/L, Etanol 0.025% v/v, Fosfato monobásico de sodio, 3,5 mg/L, y Urea 39,3 mg/L.

Tabla 1. Agua Residual Sintética.

Table 1. Synthetic Wastewater

Compuesto	Concentración (mg/l)
Extracto de carne	425
Almidón ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$)	111
Sacarosa ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$)	36
Cloruro de Sodio (NaCl)	250
Cloruro de Mag. ($\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	7
Cloruro de Calcio ($\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	5
Fosfato de Potasio (KH_2PO_4)	6
Sulfato de Sodio (Na_2SO_4)	148
Bicarbonato de Sodio (NaHCO_3)	200

2.2 Métodos Analíticos

Tabla 2. Métodos analíticos.

Table 2. Analytical methods.

Parámetros de Estudio	Método	Frecuencia
Caudal	Volumétrica	Diaria
Alcalinidad Total	2320B*	2 X Semana
Alcalinidad Intermedia		
Alcalinidad Parcial		
AVT	4500H+	2 X Semana
pH		
DQO _{TOTAL}	5220	2 X Semana
DQO _{FILTRADA}		2 X Semana
T°	-	2 X Semana
UV ₂₅₄	5910B	2 X Semana

* [12]

Para el análisis de la caracterización del agua residual sintética y la evaluación del

desempeño del reactor en los días de operación, se evaluaron los parámetros físico-químicos que se presentan en la Tabla 2. Todos los procedimientos utilizados están normalizados según los métodos estándar [9].

2.3 Bioensayo con *Allium Cepa L.*

El ensayo de toxicidad se realizó con bulbos de cebolla (especie *Red Creole*). El ensayo consiste en colocar en tubos de ensayo a exposición por 72 horas bulbos de cebolla en los siguientes tratamientos: control negativo con agua ultra pura, control positivo utilizando una solución de 5 mg/L de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), y el afluente y efluente del reactor RAFABI. Después del periodo de exposición, se determina el porcentaje de inhibición en el crecimiento de la raíz de cada uno de los tratamientos comparando con el control negativo, de acuerdo con lo sugerido por [10].

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Características de las aguas residuales

Tabla 3. Caracterización Agua residual hospitalaria
Table 3. Hospital Wastewater Characterization

Parámetro	Unidad	Media \pm D.S
Alcalinidad Total	mg CaCO_3/L	163 \pm 52
pH		7 \pm 0,5
Cloruro	mg Cl/L	153 \pm 40
ST	mg/L	412 \pm 143
SST	mg/L	12 \pm 34
SV	mg/L	102 \pm 64
DQO	mg/L	310 \pm 123
DBO ₅	mg/L	46 \pm 37
DQO/DBO ₅	-	6,74 \pm 3,32
UV ₂₅₄	cm^{-1}	0,7 \pm 0,4
COLOR (VIS ₄₃₆)	cm^{-1}	0,14 \pm 0,11
SO_4^{-2}	mg $\text{SO}_4^{-2}/\text{L}$	19 \pm 3
NTK	mg NTK/L	7 \pm 2
DQO/ SO_4^{-2}		16 \pm 4
Coliformes Fecales	UFC/100mL	3x10 ⁶ \pm 2x10 ⁶

En la Tabla 3 se presentan los resultados de la caracterización del agua residual

hospitalaria durante el tiempo de operación del reactor. Se realizaron 4 colectas durante el año 2011. Estas fueron almacenadas y preservadas en temperatura a 4°C para posterior análisis. Es importante resaltar que el ARH_{real} varía notablemente, debido a las actividades que se programan en el Hospital, disminución y/o aumento de pacientes atendidos.

3.2 Efecto en la DQO_{filtrada} y la UV_{254nm}

En la Figura 2 se observan los resultados de la DQO_{filtrada} y compuestos orgánicos medidos como UV_{254nm} en relación con la variación de la carga orgánica volumétrica. En la etapa 4 (100% ARH_{real}) cuando el reactor opero con un COV de 0.82 KgDQO/ m³.día, la eficiencia media de remoción de DQO_{filtrada} fue del 29%. En cambio cuando la COV fue de 0.84 KgDQO/ m³.día (70% ARH_{real} + 30% ARS) el valor medio de eficiencia fue de 58%. Estos resultados indican la presencia de tóxicos y probables inhibidores del proceso anaerobio, pues la eficiencia se redujo en casi el 50% al pasar a operar con el 100% de agua residual hospitalaria. Este comportamiento fue observado por autores como [3], que estudiaron la influencia de la carga orgánica en el rendimiento y la estructura de la comunidad microbiana de un reactor anaerobio tratando aguas residuales farmacéuticas, estos autores encontraron que al aumentar la COV de 1.86 a 2.48 KgDQO/ m³.día la eficiencia de remoción disminuyó de un 75% a un 45% respectivamente, concluyendo que la concentración de sustancias tóxicas adicionadas a esta agua (principalmente hormonas) disminuyó la eficiencia del tratamiento. Es importante señalar, que la disminución de la eficiencia de remoción de la DQO_{filtrada} en la etapa 4, puede ser también consecuencia del efecto del choque térmico, que se presentó durante los días 211 a 235.

La UV_{254nm}, indica la aromaticidad del carbono orgánico presente en el agua, por tanto, para este caso, indica la presencia de sustancias recalcitrantes de características aromáticas en efluentes hospitalarios, que fueron evaluados a partir de la etapa 2. Los valores de la absorbancia en la longitud de onda de 254nm para esta etapa en el afluente estuvieron en promedio entre 0,48 \pm 0,31 cm^{-1} y para el

efluente $0,36 \pm 0,30 \text{ cm}^{-1}$, resultando en valores bajos en la eficiencia de remoción, en promedio de 21%. Es importante resaltar que durante el periodo de estudio se observó aumento del valor de la absorbancia en 254nm en el efluente comparado con el afluente. La mayor remoción de $UV_{254\text{nm}}$ se presentó en el día 112 (etapa 3), con un valor del 71%, en esta etapa la eficiencia media de remoción fue de 26%.

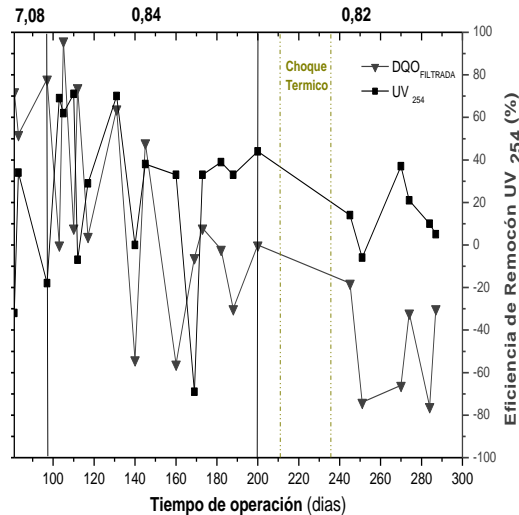


Figura 2. Eficiencia de Remoción DQO filtrada (%) y Eficiencia de Remoción de $UV_{254\text{nm}}$.

Figure 2. COD_{filtrate} and $UV_{254\text{nm}}$ removal efficiency (%)

Se podría decir con base en estos resultados que el reactor anaerobio consigue degradar levemente los compuestos de características aromáticas presentes en el agua residual hospitalaria, sin embargo, para dar esta conclusión, es necesario realizar estudios adicionales de lo que está sucediendo al interior del reactor. Puede ser por ejemplo, que estos compuestos no estén siendo degradados, sino que estén adheridos al medio de soporte. De lo anterior se puede concluir que la aclimatación, la estrategia de alimentación y el

tipo de aguas residual sintética que se escogió no serían el camino más adecuado para tratar este tipo de aguas residuales. Es necesario entonces realizar más estudios, variando el tipo de agua residual sintética, el origen del inóculo, el medio de soporte y la adición de diferentes cosubstratos.

3.3 pH, Alcalinidad y Ácidos Volátiles Totales.

El efecto del pH sobre el proceso anaerobio se manifiesta a través de dos formas:[11] directamente, afectando las actividades de las enzimas por medio de la alteración de sus estructuras proteínicas, que pueden ocurrir de manera drástica del resultado del cambio del pH; o indirectamente, afectando la toxicidad de un sin número de compuestos por medio de la degradación de compuestos orgánicos. Los microorganismos productores de metano tienen un crecimiento óptimo en el rango de pH de 6.6 a 7.4, aunque se logra una estabilidad en la formación de metano con un rango más amplio de pH entre 6.0 a 8.0. En este estudio se encontraron valores promedio de pH de 7.9 ± 0.6 para el afluente y 8.2 ± 0.3 para el efluente, indicando estabilidad en el proceso.

Durante las diferentes etapas del proceso se evaluaron los valores de la alcalinidad parcial (AP), alcalinidad intermedia (AI), alcalinidad total (AT), ácidos volátiles totales (AVT) y las relaciones AI/AP y AVT/AT, de acuerdo con lo sugerido por [12]. Es importante decir que la interacción de la alcalinidad con los ácidos volátiles, durante la digestión anaerobia, se fundamenta en la capacidad de la alcalinidad del sistema en neutralizar los ácidos formados durante el proceso y también tamponar el pH, en la eventualidad de acumulación de ácidos volátiles.

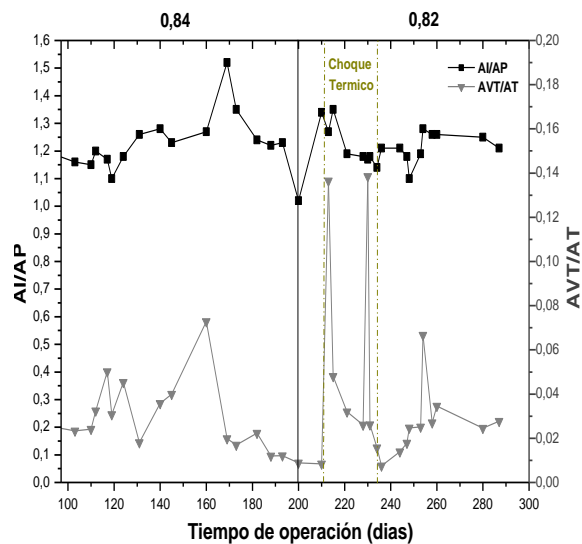


Figura 3. Variación de la relación AI/AP y AVT/AT.
Figure 3. Variation of IA/PA and TVA/TA relations.

Como se observa en la Figura 3 el valor de la relación AI/AP durante todo el periodo de operación tuvo un valor medio de 1.21 ± 0.08 ; si se compara este valor con el sugerido por [12], quienes indican que el proceso está estable siempre que los valores de la relación AI/AP sean menores que 0.35, el reactor RAFABI entonces presentaba disturbios en el proceso anaerobio. Sin embargo, se debe resaltar que los valores de la relación AI/AP se mantuvieron constantes a lo largo de todo el periodo de operación, indicando que no se presentó acumulación de ácidos. Autores como [13] indican que esta relación es válida para analizar la estabilidad, no obstante es necesario verificar los valores para cada caso en particular. La relación AVT/AT, tuvo un valor medio 0.036, valor que comparado con lo que sugiere la literatura ($AVT/AT < 0.1$), indicó que hubo estabilidad del proceso biológico.

3.4 Análisis de toxicidad con bulbos de cebolla *Allium cepa* L.

Los ensayos de toxicidad utilizando plantas superiores, están siendo cada vez más utilizados con el fin de evaluar, la capacidad de los sistemas de tratamiento de agua, de reducir sustancias tóxicas y a su vez, determinar el impacto que tendría el efluente si este es vertido

en cuerpos de agua. El ensayo de toxicidad con *Allium cepa* L. (cebolla común) ha sido utilizado desde la década de los 80, principalmente para estudiar el potencial de toxicidad de sustancias químicas específicas [10]. Su aplicación para evaluar el desempeño de los sistemas de tratamiento es hasta el momento poco documentada.

El reactor anaerobio tratando 100% con ARH_{Real} (etapa 4) removió la toxicidad presente en el agua en un 50%. Estos resultados indicaron una buena capacidad del proceso anaerobio para remover sustancias tóxicas que inhiben el crecimiento de la raíz de la cebolla. Resultados semejantes, trabajando con reactores anaerobios de biomasa inmovilizada y tratando efluentes de la industria de papel y celulosa fueron reportados en la literatura por [14]. Autores como [15] evaluaron la genotoxicidad en aguas residuales hospitalarias, utilizando el test de Ames (*Salmonella typhimurium*). Realizaron ensayos tanto en las aguas sin tratar como las tratadas por procesos físico-químicos (*i.e.* filtración, aireación, cloración). Encontraron que estos efluentes son mutagénicos, con alto riesgo para la salud pública. La mutagenicidad se redujo a niveles sin riesgo, después de todos los tratamientos evaluados. En este sentido es importante decir que es una necesidad urgente prestar mayor atención al tratamiento y disposición final de las aguas residuales hospitalarias, incluyendo en los estudios no solo la evaluación de la reducción de la materia orgánica también la identificación y cuantificación de las sustancias responsables principalmente de los efectos tóxicos y genotóxicos.

4. CONCLUSIONES

El desempeño de un reactor anaerobio de biomasa inmovilizada y flujo ascendente tratando aguas residuales hospitalarias reales fue estudiado. Los valores de las relaciones AVT/AT y AI/AP mostraron que no hubo acumulación de ácidos y por tanto no se presentaron disturbios del proceso biológico. Sin embargo, los valores de remoción de materia orgánica y compuestos aromáticos medidos como UV_{254nm} , no fueron representativos. La toxicidad aguda medida con

la inhibición en el crecimiento de la raíz de la cebolla se redujo en un 50%. Es necesario para tratar este tipo de efluentes, considerar al proceso anaerobio como una etapa intermediaria, es decir combinar este proceso con otras tecnologías como por ejemplo, los procesos de oxidación avanzada.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Militar Nueva Granada por el apoyo técnico y financiero para la realización de este proyecto. A las empresas de Bavaria S.A. y al Hospital Militar Central de Bogotá Colombia, por la colaboración en el desarrollo de tomas de muestras para la investigación.

REFERENCIAS

[1] VERLICCHI, P., GALLETTI, A., PETROVIC, M., BARCELÓ, D. Hospital effluents as a source of emerging pollutants: an overview of micropollutants and sustainable treatment options. *Journal of Hydrology*, 389, 416-428, 2010.

[2] KÜMMERER, K. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aid and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review. *Chemosphere* 45,957–969, 2001.

[3] CHELLIAPAN, S; WILBY, T; YUZIR, ASALLIS, P. Influence of organic loading on the performance and microbial community structure of an anaerobic stage reactor treating pharmaceutical wastewater. *Desalination* 257 (1-3), 257 - 267, 2011.

[4] CARBALLA, M., OMIL, F., LEMA, J.M., LLOMPART, M., GOMEZ, M., TERNES, T. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Research*, 39 (12), 2918–2926, 2004.

[5] FERNANDES, B.S. Produção de Hidrogênio em reator anaeróbico de leito fixo. Tese (Doutorado), Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

2008.

[6] HERNANDEZ, L. Desarrollo de una metodología para inmovilización de la biomasa en un reactor anaerobio de flujo Ascendente: Evaluación del desempeño. Programa de Ingeniería Civil, Universidad Militar Nueva Granada Bogotá. Trabajo de conclusión de pregrado. 2011.

[7] SOUZA, C. L.; CHERNICHARO, C. A. L.; AQUINO S. F. Quantification of dissolved methane in UASB reactors treating domestic wastewater under different operating conditions. In Proc 12th IWA Specialist Conference on Anaerobic Digestion, Mexico, 2010.

[8] SPEECE, R. *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewater*. Nashville Tennessee: Archae Press, 1996.

[9] APHA. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association/ American Water Works Association/ Water Environment Federation, Washington, DC, USA. 21th ed, 2005.

[10] FISKESSJO, G. Allium test I: A 2-3 day plant test for toxicity assessment by measuring the mean root growth of the onions (*Allium cepa* L). *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal*, 8, 461-470, 1993.

[11] LETTINGA, G. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 67, 3-28, 1995.

[12] RIPLEY, L; BOYLE, W; CONVERSE, J. Improved alkalinity monitoring for anaerobic digestion of high strength wastes. *Journal of Water Pollution Control Federation*, v. 58, p. 406-411. 1986.

[13] FORESTI E; Fundamentos do processo de digestão anaeróbia. In Anais III Taller y Seminario Latinoamericano: Tratamiento

anaeróbio de águas residuais. Montevideo. Uruguay, 97-110, 1994.

[14] CHAPARRO, R.T., BOTTA, C.M., PIRES, E.C. Toxicity and recalcitrant compound removal from bleaching pulp plant effluents by an integrated system: anaerobic packed-bed bioreactor and ozone. *Water Science and Technology*, 61 (1), 199-205. 2010.

[15] GUPTA P; MATHUR N; BHATNAGAR P; SRIVASTAVA S. Genotoxicity evaluation of hospital wastewaters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1925 – 1932, 2009.