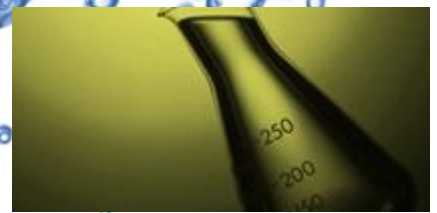
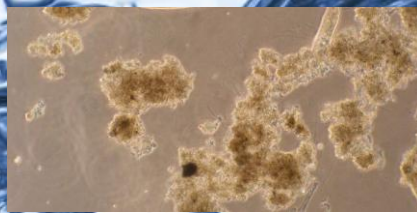


ELIMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES MEDIANTE SISTEMAS BIOLÓGICOS Y SU ACOPLAMIENTO CON PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA



Sonia Sanchis Pérez

Madrid 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FÍSICA APLICADA

SECCIÓN DE INGENIERÍA QUÍMICA



**ELIMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES
MEDIANTE SISTEMAS BIOLÓGICOS Y SU
ACOPLAMIENTO CON PROCESOS DE OXIDACIÓN
AVANZADA**

MEMORIA

que para optar al grado de

Doctor

presenta

Sonia Sanchis Pérez

Madrid, 2012

D. **Ángel Fernández Mohedano**, Profesor Titular de Universidad y Dña. **Alicia M. Polo Díez**, Profesor Contratado Doctor, ambos profesores de la Sección de Ingeniería Química del Departamento de Química-Física Aplicada de la Universidad Autónoma de Madrid.

HACEN CONSTAR:

que el presente trabajo, titulado: “Eliminación de compuestos emergentes mediante sistemas biológicos y su acoplamiento con procesos de oxidación avanzada”, presentado por Dña. Sonia Sanchis Pérez, ha sido realizado bajo su dirección, en los laboratorios de la Sección Departamental de Ingeniería Química de la Universidad Autónoma de Madrid y que, a su juicio, reúne los requisitos de originalidad y rigor científico necesarios para ser presentado como Tesis Doctoral.

Y para que conste a efectos oportunos, firmamos el presente informe en Madrid a 11 de septiembre del dos mil doce.

Ángel Fernández Mohedano

Alicia M. Polo Díez

*"Si hay magia en este planeta,
está contenida en el agua."*

Loran Eísely.

Quisiera agradecer:

Al Doctor Ángel Fernández Mohedano la oportunidad que me ha brindado para vivir esta experiencia, y la confianza depositada en mí para llevar a cabo este trabajo. A él, y a la Doctora Alicia Polo Díez, les debo estos cinco años de continuo aprendizaje. Muchísimas gracias por vuestra dedicación y esfuerzo.

A todas las personas que forman la Sección departamental de Ingeniería Química de la UAM, porque cada uno de ellos hace que me sienta orgullosa de dedicarme a la investigación formando parte de este maravilloso grupo.

En especial, a la Dra. Montserrat Tobajas, y a los Doctores Daniel Puyol y Víctor Monsalvo, por compartir su entusiasmo por el mundo de los tratamientos biológicos y representar todo un ejemplo a seguir para mí.

A toda la gente del C-VI y la Planta Piloto, por su simpatía, compañerismo y ayuda cuando la he necesitado. Gracias por todos los buenos ratos, por cada risa, por el apoyo y compañía en los momentos de desesperación... el trabajo en el laboratorio no habría sido lo mismo sin vosotros. Aunque he tenido el placer de conocer a mucha buena gente aquí, probablemente a quien le ha tocado aguantarme más tiempo ha sido a Jesús Lemus. Muchas gracias por estar ahí.

A Luis Roper, por tener el laboratorio siempre a punto para trabajar, y a Marisa, por mantenerlo limpio (aunque se lo pongamos difícil).

A mis niñas. Qué haría yo sin vosotras. Un millón de gracias por cada consejo, cada abrazo, cada risa y cada lágrima, por cada vez que me habéis preguntado “¿cómo llevas la tesis?”, por todos los buenos y malos ratos que he pasado, paso y pasaré con vosotras. Por las conversaciones trascendentales hasta las tantas en el grupo de *guasap* y los momentos *radio patio*. Con cariño especial, gracias Natalia por aguantarme desde hace más de veinte años ya, eres la mejor amiga (y psiquiatra) que se puede tener.

A mi familia, la mejor familia del mundo. A mis hermanas, por aguantar mis cabreos y ser mi apoyo en los malos momentos. A mis padres, por cada disgusto que les he dado. Gracias por enseñarme a afrontar la vida, por ayudarme a ser fuerte.

A mis perrunos. A Rex y a Bora por ser tan cariñosos. A Martina, por ser la mejor compañera en este tramo de mi vida. Por tirar de mí en la cuesta arriba. Por ser mi alegría, la cura para todos mis males.

La realización del presente trabajo ha sido posible gracias al apoyo económico prestado a través de los proyectos CCG08-UAM/AMB-4436, de la CAM y la UAM, CTM2007-60959 y CTM2010-15682, del Ministerio de Ciencia e Innovación, y a la concesión de una beca de Formación de Personal Investigador (FPI 2008) por parte de dicho ministerio.

***A todas las bacterias
que han dado su vida
en la realización de este proyecto***

Capítulo I
Capítulo III
Anexo III
Capítulo VI
Capítulo I
Capítulo V
Nomenclatura
Introducción
Bibliografía
Anexo I
Conclusiones
Resumen
Anexo II

ÍNDICE

Índice General

RESUMEN	IX
CAPÍTULO I: Introducción	1
CAPÍTULO II: Determinación del efecto inhibitorio y la biodegradabilidad de compuestos xenobióticos	43
CAPÍTULO III: Estudio de la cinética de degradación biológica de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona mediante respirometría	79
CAPÍTULO IV: Degradación de herbicidas mediante reactores biológicos avanzados	95
CAPÍTULO V: Eliminación de compuestos emergentes mediante el acoplamiento de procesos de oxidación avanzada y sistemas biológicos	117
CAPÍTULO VI: Tratamiento de aguas residuales procedentes de la fabricación de productos fitosanitarios	181

CONCLUSIONES	201
NOMENCLATURA	205
BIBLIOGRAFÍA	209
ANEXO I. Perfiles de concentración de oxígeno disuelto obtenidos en los ensayos de inhibición de fango activo	247
ANEXO II. Perfiles respirométricos obtenidos para concentraciones crecientes de acetato sódico, fenol, ciclohexanol y ciclohexanona a diferentes temperaturas	257
ANEXO III. Concentraciones de los herbicidas al inicio y final de ciclo y valores de conversión alcanzados en cada ciclo de tratamiento empleando sistemas SBR y SB-MBR	267
ANEXO IV. Ensayos de biodegradabilidad rápida realizados con los efluentes de oxidación Fenton de los herbicidas estudiados	273
ANEXO V. Valores de conversión obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de herbicidas	279

Índice Extendido

RESUMEN	IX
CAPÍTULO I: Introducción	1
1.1. Las aguas residuales	1
1.1.1. Fenoles y derivados clorados	2
1.1.2. Pesticidas y herbicidas	4
1.1.3. Fármacos	7
1.2. Marco legislativo en materia de aguas residuales	9
1.3. El tratamiento de las aguas residuales	11
1.3.1. Tratamientos de oxidación química	11
1.3.2. Tratamientos de reducción catalítica	17
1.3.3. Tratamientos biológicos	18
1.3.3.1. Reactor secuencial discontinuo	21
1.3.3.2. Reactor biológico de membrana	22
1.3.4. Acoplamiento de sistemas	24
1.4. Toxicidad y biodegradabilidad	31

1.5. La respirometría	37
1.6. Objetivos y alcance del trabajo	39
CAPÍTULO II: Determinación del efecto inhibitorio y la biodegradabilidad de compuestos xenobióticos	43
2.1. Introducción	43
2.2. Materiales y métodos	47
2.2.1. Reactor secuencial discontinuo	47
2.2.2. Inóculo	49
2.2.3. Respirómetro	49
2.2.4. Ensayos de inhibición	50
2.2.5. Ensayos de ecotoxicidad	53
2.2.6. Ensayos de biodegradabilidad rápida	53
2.2.7. Ensayos de biodegradabilidad inherente	53
2.2.8. Compuestos químicos	54
2.2.9. Métodos analíticos	56
2.3. Resultados y discusión	58
2.3.1. Estudio de inhibición de compuestos puros	58
2.3.2. Estudio de biodegradabilidad rápida de compuestos puros	66
2.3.3. Estudio de biodegradabilidad inherente de compuestos puros	70
2.3.4. Estudio de inhibición y biodegradabilidad de mezclas de compuestos	73
2.4. Conclusiones	77
CAPÍTULO III: Estudio de la cinética de degradación biológica de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona mediante respirometría	79
3.1. Introducción	79
3.2. Materiales y métodos	81

3.2.1. Reactores secuenciales discontinuos	81
3.2.2. Inóculo	82
3.2.3. Aclimatación del lodo	82
3.2.4. Ensayos cinéticos	82
3.2.5. Métodos analíticos	85
3.3. Resultados y discusión	85
3.3.1. Cinética de la degradación biológica de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona	85
3.3.2. Rendimiento biomasa/sustrato	92
3.4. Conclusiones	94
CAPÍTULO IV: Degradación de herbicidas mediante reactores biológicos avanzados	95
4.1. Introducción	95
4.2. Materiales y métodos	98
4.2.1. Reactores secuenciales discontinuos	98
4.2.2. Reactor secuencial de membrana	100
4.2.3. Inóculo	101
4.2.4. Métodos analíticos	102
4.3. Resultados y discusión	102
4.3.1. Tratamiento biológico de herbicidas en SBR	103
4.3.1.1. Tratamiento de diurón en SBR	103
4.3.1.2. Tratamiento de atrazina en SBR	105
4.3.1.3. Tratamiento de MCPA en SBR	107
4.3.1.4. Tratamiento de 2,4-D en SBR	109
4.3.2. Tratamiento biológico de 2,4-D en SB-MBR	112
4.4. Conclusiones	115

CAPÍTULO V: Eliminación de compuestos emergentes mediante el acoplamiento de procesos de oxidación avanzada y sistemas biológicos	117
5.1. Introducción	117
5.2. Materiales y métodos	121
5.2.1. Ensayos de oxidación Fenton	121
5.2.2. Reactor secuencial discontinuo	123
5.2.3. Inóculo	123
5.2.4. Ensayos de toxicidad y biodegradabilidad	124
5.2.5. Métodos analíticos	125
5.3. Resultados y discusión	128
5.3.1. Ensayos de oxidación Fenton de herbicidas	128
5.3.2. Identificación de intermedios en los efluentes de oxidación Fenton de herbicidas	133
5.3.2.1. Intermedios de oxidación en el tratamiento de diurón mediante reactivo Fenton	134
5.3.2.2. Intermedios de oxidación en el tratamiento de alacloro mediante reactivo Fenton	138
5.3.2.3. Intermedios de oxidación en el tratamiento de atrazina mediante reactivo Fenton	143
5.3.2.4. Intermedios de oxidación en el tratamiento de 2,4-D mediante reactivo Fenton	148
5.3.2.5. Intermedios de oxidación en el tratamiento de MCPA mediante reactivo Fenton	152
5.3.3. Toxicidad y biodegradabilidad de los efluentes de oxidación Fenton de herbicidas	155
5.3.4. Tratamiento biológico de los efluentes de oxidación Fenton de herbicidas	165
5.3.5. Ensayos de oxidación Fenton de atenolol y cafeína	175
5.4. Conclusiones	179

CAPÍTULO VI: Tratamiento de aguas residuales procedentes de la fabricación de productos fitosanitarios	181
6.1. Introducción	181
6.2. Materiales y métodos	183
6.2.1. Ensayos de adsorción	183
6.2.2. Ensayos de biodegradabilidad	183
6.2.3. Reactor secuencial discontinuo	184
6.2.4. Inóculo	184
6.2.5. Métodos analíticos	184
6.3. Resultados y discusión	185
6.3.1. Caracterización del agua residual	185
6.3.2. Ensayos de adsorción con bentonita	192
6.3.3. Tratamiento biológico del efluente de adsorción con bentonita	194
6.3.4. Estimación de costes	197
6.4. Conclusiones	100
CONCLUSIONES	201
NOMENCLATURA	205
BIBLIOGRAFÍA	209
ANEXO I. Perfiles de concentración de oxígeno disuelto obtenidos en los ensayos de inhibición de fango activo	247

ANEXO II. Perfiles respirométricos obtenidos para concentraciones crecientes de acetato sódico, fenol, ciclohexanol y ciclohexanona a diferentes temperaturas	257
ANEXO III. Concentraciones de los herbicidas al inicio y final de ciclo y valores de conversión alcanzados en cada ciclo de tratamiento en sistemas SBR y SB-MBR	267
ANEXO IV. Ensayos de biodegradabilidad rápida realizados con los efluentes de oxidación Fenton de los herbicidas estudiados	273
ANEXO V. Valores de conversión obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de herbicidas	279



RESUMEN

Resumen

La contaminación de las aguas constituye un problema prioritario en materia de medio ambiente, ya que se trata de un bien escaso que se ha utilizado de manera intensiva durante las últimas décadas. Existen contaminantes que, por su amplia presencia en las aguas residuales industriales, se han estudiado extensamente, desarrollándose métodos efectivos para su eliminación. Entre estos compuestos destacan el fenol y sus derivados clorados, así como ciertos intermedios generados en su tratamiento tanto por procesos de oxidación química (hidroquinona, p-benzoquinona, catecol), como de reducción catalítica (ciclohexanol, ciclohexanona).

El avance que las técnicas analíticas han experimentado en los últimos años ha permitido detectar la presencia en las aguas de una serie de compuestos, denominados **contaminantes emergentes**, cuyo efecto en el medio ambiente ha comenzado a suscitar inquietud. Entre estos contaminantes se incluyen pesticidas, fármacos, productos de higiene personal y fitoquímicos.

Los **pesticidas**, en especial los más apolares, se han estudiado durante décadas y en consecuencia existe un razonable conocimiento sobre su presencia y efecto en el medio ambiente acuático. Algunos de ellos, como el diurón, el alacloro y la atrazina, se encuentran incluidos en la Lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas de la Unión Europea (UE) ([Directiva 2008/105/CE](#)).

De todos los grupos de contaminantes emergentes, los que probablemente suscitan mayor preocupación, y por ello se han estudiado en mayor medida en la última década, son los **fármacos**. El consumo de estas sustancias en los países de la UE se cifra en toneladas por año, liberándose tras su uso al sistema integral de saneamiento en concentraciones traza. Por lo general, las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) no están diseñadas para eliminar este tipo de contaminantes, por lo que acaban dispersándose en los sistemas acuáticos naturales, entrando en las cadenas alimentarias de los distintos ecosistemas.

El desarrollo de métodos efectivos para el tratamiento de estos compuestos es esencial dado que suelen ser recalcitrantes a la biodegradación, e incluso pueden ejercer efectos tóxicos e inhibitorios cuando se encuentran en una concentración determinada en el influente de una EDAR, causando el mal funcionamiento de los biorreactores. Por ello, resulta conveniente evaluar el impacto potencial de un compuesto sobre la biomasa antes de llevar a cabo su tratamiento mediante un sistema biológico.

Existen métodos estandarizados para analizar la toxicidad y biodegradabilidad de compuestos químicos, basados en diferentes variables indicativas de la actividad microbiana, como velocidad de crecimiento, consumo de sustrato, luminiscencia bacteriana y velocidad de respiración. El test Microtox®, que analiza la ecotoxicidad a partir de la disminución de la bioluminiscencia de la bacteria *Vibrio fischeri*, es uno de los métodos más utilizados debido a su simplicidad y reproducibilidad. Sin embargo, diferentes estudios han puesto de manifiesto la inadecuada utilidad de este ensayo a la hora de determinar el impacto potencial de un compuesto sobre el fango activo de una planta de tratamiento de aguas residuales, puesto que la interpretación de los resultados puede llevar a error, generalmente sobreestimando el posible impacto sobre la biomasa. Para predecir el **efecto inhibitorio** de un compuesto sobre el sistema biológico de una EDAR debería utilizarse fango activo como organismo diana.

El test de inhibición de fango activo de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) evalúa el efecto de una sustancia sobre la biomasa a partir de la medida de la velocidad de respiración en condiciones definidas y en

presencia de diferentes concentraciones del compuesto a evaluar. Sobre las bases de este ensayo, en el presente trabajo se ha empleado un método respirométrico que determina la EC_{50} como la concentración de compuesto capaz de causar un 50% de reducción de la velocidad específica de consumo de oxígeno (VECO) del fango activo cuando se encuentra en contacto con un sustrato biodegradable de referencia. La determinación de los valores de EC_{50} a partir de los datos respirométricos se llevó a cabo empleando dos tipos de ajuste. El primero corresponde a la función logística, utilizada ampliamente en la determinación de parámetros de inhibición, y un segundo, desarrollado en el presente trabajo, que utiliza un procedimiento de ajuste lineal.

La posibilidad de tratamiento de un compuesto mediante un proceso biológico debe considerar no sólo la inhibición causada en la actividad microbiana sino también su **biodegradabilidad**, ya que compuestos poco inhibitorios pero con biodegradabilidad baja o casi inexistente pueden ocasionar un efecto acumulativo en un sistema biológico hasta alcanzar una concentración inhibitoria. En este contexto, la caracterización de una sustancia como peligrosa para un sistema de tratamiento biológico incluye la combinación de bajos valores de EC_{50} y/o baja o nula biodegradabilidad en un período de tiempo reducido.

La OECD ha publicado una serie de tests de biodegradabilidad estandarizados, basados en la evolución de parámetros globales como demanda química de oxígeno (DQO), carbono orgánico total (COT) y demanda biológica de oxígeno (DBO), entre los que destacan los tests de biodegradabilidad inmediata ([OECD 301 1993](#)) y el test Zahn Wellens de biodegradabilidad inherente ([OECD 302 B 1992](#)). Ambos ensayos tienen una duración de 28 días, difiriendo en la concentración de inóculo empleada. Los tests de biodegradabilidad inmediata son más restrictivos, ya que utilizan una relación biomasa/sustrato menor, al ser empleados normalmente para predecir el riesgo potencial de un compuesto químico en el cauce receptor. El test Zahn Wellens de biodegradabilidad inherente es menos restrictivo, pero no resulta útil a la hora de predecir el comportamiento en una planta de tratamiento biológico, ya que su duración, muy superior al tiempo de retención hidráulico (t_{RH}) empleado en procesos biológicos, permitiría la aclimatación de la biomasa.

Un conocimiento realista del comportamiento de un compuesto de cara a un tratamiento biológico en una planta de tratamiento de aguas residuales requiere que los ensayos de biodegradabilidad se lleven a cabo utilizando fango activo y en condiciones de operación similares. En el presente trabajo se ha desarrollado un método respirométrico en el cual, empleando una relación biomasa/sustrato de acuerdo con la carga másica (C_m) que suele recibir un reactor biológico, puede adecuarse el tiempo de ensayo al t_{RH} , aproximándose en lo posible a las condiciones reales de operación. Este método, rápido y sencillo, permite conocer si un compuesto se degradaría en un sistema convencional de fangos activos a través de la determinación de la biodegradabilidad rápida.

En el **capítulo II** se ha llevado a cabo la evaluación del efecto inhibitorio y la biodegradabilidad de diferentes grupos de compuestos (clorofenoles, intermedios de oxidación química y reducción catalítica de éstos, herbicidas y fármacos), con el objetivo de determinar la viabilidad del empleo de sistemas biológicos convencionales para la eliminación de los compuestos rápidamente biodegradables o técnicas de aclimatación de biomasa para el tratamiento de los compuestos que presenten biodegradabilidad inherente.

Los valores de EC_{50} y de los parámetros estadísticos obtenidos mediante los dos métodos de ajuste de datos respirométricos empleados no mostraron apenas diferencias entre sí. Esto permitió validar el método de ajuste lineal desarrollado en el presente estudio, el cual, al no precisar una concentración de compuesto suficiente para conseguir un 100% de inhibición como valor límite superior, permitió evaluar la inhibición para compuestos de reducida solubilidad o ligeramente inhibitorios, como diurón y alacloro.

Los resultados mostraron que los clorofenoles con un mayor número de átomos de cloro son capaces de ejercer un mayor efecto inhibitorio, el cual se incrementa cuando el átomo de cloro ocupa posiciones *meta-* y *para-* frente a los compuestos sustituidos en posición *orto-*. Hidroquinona y p-benzoquinona mostraron una toxicidad muy elevada, por lo que su presencia en el influente de un sistema de fangos activos puede ocasionar una inhibición importante de la biomasa, haciendo inefectivo el tratamiento biológico. En cuanto a los intermedios del tratamiento de

clorofenoles mediante hidrodecloración catalítica, se ha observado que, pese a que el fenol es tres veces más inhibitorio que la ciclohexanona y nueve veces más que el ciclohexanol para un fango activo, en concentraciones por debajo de la EC_{50} se degrada a una mayor velocidad empleando biomasa no aclimatada.

Los herbicidas y fármacos estudiados presentaron un menor efecto inhibitorio que los clorofenoles, incluso que el 4-clorocatecol. Sin embargo, los ensayos de biodegradabilidad mostraron que 4-clorocatecol y 4-clorofenol pueden eliminarse en bajas concentraciones utilizando un fango activo no aclimatado en un período de tiempo similar al t_{RH} normalmente utilizado en una EDAR, mientras que compuestos aparentemente menos inhibitorios como los fármacos y herbicidas deberían tratarse utilizando fango activo aclimatado.

En el **capítulo III** se ha optimizado un método respirométrico para la evaluación de la **cinética** de degradación biológica de algunos de los compuestos más fácilmente biodegradables, como fenol, ciclohexanol y ciclohexanona, empleando fango activo aclimatado a cada uno de ellos. El procedimiento se basó en la relación existente entre los conceptos de consumo de oxígeno y energía metabólica en un sistema biológico aerobio, que permite el uso del consumo de oxígeno como parámetro de descripción del crecimiento de la biomasa o la degradación de sustrato, y ofrece la posibilidad de emplear modelos de crecimiento de biomasa en el ajuste de datos respirométricos.

El estudio cinético mediante respirometría consistió en la determinación del perfil de VECO al añadir concentraciones crecientes de sustrato (de 5 a 300 mg L⁻¹) a diferentes temperaturas (de 15 a 35°C) empleando una concentración de biomasa en torno a 650 mg SSV L⁻¹. La representación de los valores iniciales de VECO frente a la concentración inicial de sustrato permitió obtener el valor de los parámetros cinéticos (VECO_{max} y K_S) en el caso de aplicar un modelo de crecimiento bacteriano tipo **Monod** con ausencia de inhibición por sustrato, y los correspondientes (VECO_{max}, K_S y K_i) al aplicar un modelo tipo **Haldane** en el caso de aparecer inhibición por sustrato.

El modelo de Haldane se ajustó adecuadamente a los datos experimentales en el caso de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona, obteniéndose valores del coeficiente

de determinación superiores a 0,975. El modelo de Monod se empleó para el estudio cinético del sustrato de referencia, acetato sódico. El aumento de temperatura hasta 35°C originó un aumento de la $VECO_{max}$ y una disminución de la inhibición, excepto en el caso del fenol, en el cual se produjo un punto de inflexión a partir de 30°C. Para una misma temperatura, el fenol fue el compuesto más inhibitorio, pero también el que presentó un mayor valor de $VECO_{max}$. Los valores de K_S obtenidos variaron en torno a 10, 7 y 3 mg DQO L⁻¹ para fenol, ciclohexanol y ciclohexanona, respectivamente.

Los datos respirométricos se emplearon también para evaluar el **rendimiento biomasa/sustrato** (Y_{XS}). En este caso, se representó el consumo acumulado de oxígeno exógeno (CAO_{ex}), calculado a partir de la integración de la curva de evolución temporal de la $VECO$, frente a la concentración de sustrato inicial, obteniéndose Y_{XS} a partir de la pendiente del ajuste lineal de los datos. Los resultados obtenidos mostraron un aumento del rendimiento biomasa/sustrato con el incremento de la temperatura, variando de 0,48 a 0,58 para fenol, de 0,56 a 0,71 para ciclohexanol y de 0,58 a 0,75 para ciclohexanona.

Una vez estudiada la degradación biológica de compuestos fácilmente biodegradables, se evaluó la posibilidad de tratamiento de los herbicidas estudiados empleando sistemas biológicos (**capítulo IV**). El estudio se realizó empleando reactores de alta eficacia, como los **reactores secuenciales discontinuos** (SBR) o los **reactores secuenciales biológicos de membrana** (SB-MBR). Ambos sistemas presentan la ventaja, frente a los procesos convencionales de fangos activos, de requerir un menor espacio gracias a la aplicación de las etapas de reacción y separación del fango en un solo reactor. Los reactores SBR permiten la eliminación de nutrientes gracias a la sucesión de etapas anóxicas y aerobias, y presentan una elevada flexibilidad de operación y control. La principal ventaja del empleo de membranas en estos sistemas de tratamiento biológico es la obtención de un efluente clarificado mediante filtración sin necesidad de llevar a cabo la sedimentación del fango activo. Además, permiten operar con una mayor concentración de biomasa y un mayor tiempo de residencia celular, lo que facilita la aclimatación del fango activo.

El tratamiento biológico de diurón, atrazina, 2,4-D y MCPA se llevó a cabo de forma paralela en cuatro reactores SBR, en los cuales se trató una carga de herbicida de $1,25 \text{ g kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$ para diurón y atrazina y de $2,08 \text{ g kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$ para 2,4-D y MCPA. Como sustrato biogénico se añadió glucosa hasta proporcionar una C_m de $0,20 \text{ kg DQO kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$. El tratamiento de 2,4-D se estudió además en un SB-MBR de fibra hueca. Los dos sistemas operaron en ciclos de 24 h con un t_{RH} de 6 d, utilizando una concentración de biomasa de 4 g SSV L^{-1} y un tiempo de retención celular (t_{RC}) de 30 d en el caso de los SBR, y de 8 g SSV L^{-1} y 60 d para el SB-MBR.

El tratamiento biológico de diurón y atrazina en sistemas SBR presentó una primera fase de latencia de más de 30 d, en la que tuvo lugar la acumulación de los herbicidas en el interior del reactor. Una vez la biomasa fue capaz de degradar estos compuestos, se observó un aumento progresivo de los valores de conversión obtenidos, hasta alcanzar una concentración residual en los efluentes por debajo de 10 mg L^{-1} después de 186 d de tratamiento. La degradación biológica de MCPA presentó una fase de latencia de menos de 4 d, observándose valores de conversión ascendentes durante los 112 d de experimentación. En el caso del 2,4-D tuvo lugar un período de 15 d hasta apreciarse una eliminación significativa del compuesto, alcanzándose una concentración residual inferior a 5 mg L^{-1} después de 125 d de tratamiento.

El empleo de un SB-MBR para el tratamiento de 2,4-D permitió la completa eliminación del herbicida en 81 d para una carga de $2,08 \text{ g kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$. El aumento de la carga hasta $4,16 \text{ g kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$ ocasionó la acumulación del compuesto en el interior del reactor durante los siguientes 12 ciclos, aunque pudo eliminarse por completo pasados 53 d. La degradación de materia orgánica lograda empleando este sistema de tratamiento fue notablemente superior a la obtenida utilizando los SBR, con un valor promedio del 91%.

La eficacia de eliminación de compuestos recalcitrantes como los contaminantes emergentes puede mejorarse a través del empleo de tratamientos combinados. El acoplamiento de sistemas puede ir destinado a aumentar la biodegradabilidad del influente, sometiénolo posteriormente a un tratamiento por fangos activos, o bien a la eliminación de los compuestos persistentes una vez el agua residual se ha

tratado en un sistema biológico, en función de la toxicidad y biodegradabilidad del influente a tratar.

En concreto, los Procesos de Oxidación Avanzada (AOPs) se han utilizado ampliamente en combinación con sistemas biológicos para la eliminación de contaminantes. Entre los AOPs habitualmente empleados, la oxidación **Fenton**, basada en la descomposición catalítica del peróxido de hidrógeno por medio de Fe^{2+} a pH ácido para dar lugar a radicales hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), ha mostrado ser muy efectiva en el tratamiento de aguas residuales industriales. El uso eficiente del peróxido de hidrógeno resulta crítico para la optimización económica del proceso, dado que los intermedios de reacción, que se encuentran en un estado cada vez más oxidado, tienden a ser refractarios a la oxidación química. La utilización de una dosis óptima de reactivo Fenton, empleado como tratamiento previo a un proceso biológico, permitiría reducir la toxicidad y aumentar la biodegradabilidad del agua residual, logrando un mayor grado de mineralización de la materia orgánica en un sistema biológico. Sin embargo, un tratamiento químico insuficiente daría lugar a intermedios estructuralmente similares al compuesto de partida, pudiendo ser incluso más tóxicos y recalcitrantes. Por ello, a la hora de determinar la dosis de reactivo Fenton que debe emplearse en un tratamiento combinado con un sistema biológico, resulta necesario evaluar la toxicidad y biodegradabilidad de los efluentes del proceso químico.

En el **capítulo V** se estudió la aplicación de la oxidación Fenton en combinación con un sistema biológico con el objetivo de eliminar una serie de contaminantes emergentes empleando la menor dosis de peróxido de hidrógeno posible. En el caso de los herbicidas, al ser sometidos a tratamiento en una concentración mayor que los fármacos, se evaluó la viabilidad del empleo del proceso Fenton como tratamiento previo al sistema biológico a través de ensayos de toxicidad y biodegradabilidad, sometiendo los efluentes de oxidación Fenton seleccionados para cada compuesto a un sistema de tratamiento biológico en un reactor SBR. El tratamiento de los fármacos mediante reactivo Fenton estaría orientado a la eliminación de estos compuestos en el efluente de una EDAR para poder realizar su vertido a cauce de forma que no causen daño ambiental.

Las dosis de reactivo empleadas variaron en el intervalo del 20 al 100% de la proporción estequiométrica de H_2O_2 respecto de la DQO teórica, manteniendo una relación molar 10/1 de H_2O_2/Fe^{2+} . El análisis de la composición de los efluentes obtenidos reveló la presencia de concentraciones residuales de cafeína, alacloro y atrazina en los ensayos realizados en condiciones subestequiométricas, y de H_2O_2 en los efluentes de tratamiento de cafeína y atenolol. Sin embargo, la mayor parte del carbono presente en los efluentes se encontró en forma de ácidos orgánicos de cadena corta, especialmente al emplear elevadas dosis de H_2O_2 , observándose elevadas concentraciones de ácido oxálico, sustancia refractaria al tratamiento.

La aplicación de reactivo Fenton a soluciones acuosas de los fármacos estudiados originó una disminución de la ecotoxicidad y una mejora de la biodegradabilidad en términos de índice de biodegradabilidad (DBO_5/DQO), obteniéndose efluentes aptos para el vertido a cauce, incluso utilizando dosis subestequiométricas de peróxido de hidrógeno. En el caso de los herbicidas, los efluentes generados resultaron en su mayoría ligeramente más tóxicos que el propio compuesto de partida, aunque se observó un incremento considerable de la biodegradabilidad. La concentración de H_2O_2 requerida para optimizar el tratamiento combinado fue relativamente baja en el caso de diurón (40% de la dosis estequiométrica) y para alacloro, atrazina y MCPA (60% de la dosis estequiométrica), mientras que en el tratamiento de 2,4-D resultó necesario emplear condiciones más oxidantes (80% de la dosis estequiométrica).

El tratamiento biológico de los efluentes del proceso Fenton se llevó a cabo empleando un **reactor secuencial discontinuo** (SBR), que operó en secuencias de 8 h utilizando un t_{RH} de 0,5 días. Se tomaron muestras durante el proceso biológico para la determinación de la concentración de intermedios, formas nitrogenadas inorgánicas, COT y DQO, y se registró el perfil de VECO durante la fase de reacción. Los resultados obtenidos en el tratamiento biológico del efluente de oxidación Fenton de 2,4-D mostraron una importante reducción de materia orgánica gracias a la aclimatación de la biomasa. Para atrazina, alacloro y MCPA, la eliminación de materia orgánica se mantuvo aproximadamente constante a lo largo de los ciclos de tratamiento, mientras que los efluentes finales de tratamiento de diurón mostraron un incremento de la concentración residual de COT y DQO. A partir de

los resultados obtenidos se concluyó que el tratamiento acoplado mediante reactivo Fenton y un sistema biológico permite la eliminación de alacloro, 2,4-D y MCPA, con una importante optimización del empleo de reactivos en el proceso químico y un aumento de la eficacia del sistema, mientras que el tratamiento Fenton aplicado de manera individual resulta suficiente para lograr la completa eliminación de diurón, atrazina, atenolol y cafeína, incluso empleando dosis subestequiométricas de H_2O_2 .

Una vez estudiados diferentes tipos de procesos para la eliminación de contaminantes emergentes en soluciones acuosas se llevó a cabo el tratamiento de un **agua residual** procedente del lavado de tanques de fabricación de productos fitosanitarios (**capítulo VI**). El análisis de la composición del agua residual objeto de estudio mostró una amplia heterogeneidad, con un elevado contenido en pesticidas, entre ellos varios herbicidas (terbutilazina, MCPP, metamitrona), insecticidas (clorpirifos) y fungicidas (procloraz), así como una gran cantidad de disolventes orgánicos (derivados de xileno, benceno y tolueno) y otros compuestos orgánicos como ciclohexanona. La viabilidad de tratamiento de este agua residual mediante procesos biológicos se estudió a través de ensayos de biodegradabilidad rápida empleando diluciones 1:20, 1:50 y 1:100 de la muestra inicial, obteniéndose valores de conversión de DQO y COT del 35% para la dilución 1:100, mientras que en los otros dos ensayos se observó un aumento del contenido en materia orgánica debido a la lisis celular provocada por la elevada toxicidad de los componentes del agua residual. A partir de los resultados anteriores, se planteó la necesidad de llevar a cabo un tratamiento preliminar para reducir la toxicidad del agua residual. La elevada concentración de materia orgánica (en torno a 20 g DQO L^{-1}) hizo inviable la aplicación de reactivo Fenton como tratamiento preliminar ya que, al tratarse de un método no selectivo, una importante fracción de los radicales hidroxilo actuarían en la oxidación de materia orgánica biodegradable.

El agua residual se sometió a un proceso de adsorción empleando **bentonita**, un tipo de arcilla caracterizada por una extensa área superficial, una importante capacidad de intercambio catiónico y una elevada superficie interlaminar, lo que le otorga la capacidad de adsorber cantidades significativas de compuestos orgánicos y metales pesados. El empleo de 4 g L^{-1} de bentonita permitió obtener una

eliminación del 72% de DQO y el 68% de COT, con una reducción del 96 y 91% de metamitrona y terbutilazina, respectivamente, y la completa eliminación del resto de pesticidas. Además, la ecotoxicidad se redujo de 975 a 21 UT y el índice de biodegradabilidad aumentó de 0,28 a 0,38. El efluente del proceso de adsorción se sometió a un ensayo respirométrico de biodegradabilidad rápida empleando una dilución 1:10, observándose una conversión del 60%, tanto en términos de DQO como de COT.

El efluente de adsorción con bentonita se sometió a un proceso de degradación biológica en un SBR, utilizando una C_m de $0,53 \text{ kg DQO kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$. Se analizó la composición de los efluentes en términos de DQO, COT y concentración de pesticidas. Tras la acumulación de materia orgánica durante los primeros ciclos, la biomasa se aclimató progresivamente, logrando un incremento en la eliminación de DQO y COT e incluso una importante degradación de metamitrona, uno de los pesticidas presentes en mayor concentración.

SBR
Hidrogenación
Clorofenoles
Tratamientos
Biodegradabilidad
Objetivos
Oxidación
Herbicidas
Fenol
Fármacos
AOPS
Acoplamiento
Respirometría
Legislación
Toxicidad
MBR
Aguas Residuales
Fenton

I. Introducción

What about the seas
The heavens are falling down
I can't even breathe
What about nature's worth
It's our planet's womb
EARTH SONG (Michael Jackson)

I. Introducción

1.1. Las aguas residuales

La Tierra, el Planeta Azul, contiene cerca de 1386 millones de km³ de agua, de los cuales el 97,5% es agua salada. Del total de agua dulce, el 68,9% se encuentra en los hielos polares y glaciares, el 30,8% es subterránea, y el 0,3% es superficial, la más accesible para su consumo. Esta falta de disponibilidad, sumada a la desigualdad en su distribución, hace necesaria una gestión adecuada del agua como recurso. En este sentido, resulta esencial un control preventivo en su aprovechamiento y un tratamiento después de su uso que reduzca al máximo la contaminación causada por su vertido al cauce natural. Esta contaminación puede ser de diferente naturaleza en función de la procedencia del vertido. Las **aguas residuales domésticas** suelen presentar un alto contenido en sólidos en suspensión, materia orgánica, nitrógeno amoniacal, fosfatos y tensioactivos iónicos debido al uso de detergentes. Las **aguas de origen agropecuario** contienen sólidos gruesos, materia orgánica, fosfatos, nitrógeno amoniacal, pesticidas y otras sustancias químicas. Las **aguas residuales industriales** presentan características muy diversas, variando el caudal y la composición en función de la industria que las genera, por lo que su tratamiento, en la mayoría de las ocasiones, no puede realizarse mediante tecnologías convencionales.

Durante décadas, la comunidad científica ha centrado sus esfuerzos en el estudio de contaminantes químicos con una extendida presencia en las aguas residuales industriales, desarrollando métodos efectivos para su eliminación. Los **fenoles** y

sus derivados clorados son probablemente los contaminantes orgánicos más importantes presentes en las aguas residuales de origen industrial, por lo que su presencia en el medio ambiente se ha regulado mediante diferentes disposiciones legislativas, y algunos de ellos (2-clorofenol, 2,4-diclorofenol, 2,4,6-triclorofenol, 2,4,5-triclorofenol, 2,3,4,6-tetraclorofenol) son contaminantes prioritarios según la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA) (Yuan et al. 2003). Sin embargo, en los últimos años, el desarrollo de técnicas analíticas más sensibles ha permitido alertar de la presencia de otros compuestos, potencialmente peligrosos, denominados **emergentes**. Estas sustancias se definen como contaminantes previamente desconocidos o no reconocidos como tales, cuya presencia en el medio ambiente no es necesariamente nueva, pero sí lo es la preocupación por las posibles consecuencias de la misma, ya que el conocimiento sobre su presencia e impacto en el medio ambiente es relativamente escaso. Además, se trata de compuestos cuya elevada producción y consumo provoca su continua introducción en el medio ambiente, por lo que no necesitan ser persistentes para ocasionar efectos negativos (Petrovic et al. 2003).

La lista de contaminantes emergentes incluye una amplia variedad de productos de uso diario con aplicaciones tanto industriales como domésticas. Algunos de ellos, como los **pesticidas**, ya estaban sujetos a legislación en el medio acuático, pero el descubrimiento de intermedios tóxicos de degradación en el medio natural ha renovado el interés por los mismos (Kolpin et al. 2000). En otros casos, como en el de los **fármacos**, la toma de conciencia del riesgo que ocasiona su presencia en el medio ambiente es relativamente reciente, y no se tienen aún datos suficientes para una valoración apropiada de su impacto.

1.1.1. Fenol y derivados clorados

El fenol es la unidad estructural básica para una amplia variedad de compuestos orgánicos sintéticos. Posee una gran relevancia en el campo de la investigación, puesto que se encuentra entre los contaminantes más comunes tanto en agua como en aire y, por ello, se ha elegido frecuentemente como modelo de estudio (Busca et al. 2008).

Anualmente se producen alrededor de 6 millones de toneladas de fenol en el mundo, con tendencia creciente (Jordan et al. 2002). Como sustancia pura, el fenol se utiliza como desinfectante, antiséptico interno y anestésico gástrico en veterinaria, agente peptizante en la fabricación de pegamento, solvente en refinería y producción de lubricante, reactivo en análisis químico e intermedio primario en petroquímica (Weber et al. 2004). Su uso más importante, en torno a un 35%, es para la producción de resinas fenólicas, utilizadas como resinas de termosellado en adhesivos de contrachapado, construcción, automoción e industrias de electrodomésticos (Busca et al. 2008). Puede transformarse en xilenoles, alquilfenoles, clorofenoles, anilina y otros intermedios secundarios en la producción de surfactantes, fertilizantes, explosivos, pinturas, tejidos, caucho, plásticos, etc. También se utiliza para la producción de ciclohexanona y mezclas de ciclohexanona y ciclohexanol mediante hidrogenación catalítica (Neri et al. 1994). La ciclohexanona se transforma posteriormente en ϵ -caprolactama, el monómero del nylon 6, lo cual supone un 16% de la producción de fenol. La mezcla ciclohexanona-ciclohexanol se oxida con ácido nítrico a ácido adípico, uno de los monómeros para la producción de nylon 66 (Busca et al. 2008).

La contaminación por fenol y sus derivados puede ser de procedencia natural o artificial, ya que se encuentran presentes en los efluentes de muchos procesos industriales como refinerías (Wake 2005), acerías (Bagg et al. 1995), producción de resinas fenólicas (Correia et al. 2003), explosivos (Rajagopal et al. 2001), pinturas y barnices (Korbahti et al. 2009), industrias textiles (Berryman et al. 2004), plantas de recuperación de caucho (Ozbelge et al. 2002), procesado de fibra de vidrio (Fletcher et al. 1972), destilerías de vino (Borja et al. 1993), extracción y tratamiento de aceite de oliva (Aggelis et al. 2002), producción de corcho (del Castillo et al. 2012) y café (Brand et al. 2000). Se trata de un compuesto tóxico incluso en bajas concentraciones y su presencia en el agua puede dar lugar a la formación de compuestos sustituidos durante procesos de desinfección y oxidación.

Los clorofenoles constituyen un grupo de particular interés, ya que algunos de ellos, como el pentaclorofenol, se encuentran incluidos en la lista de sustancias

prioritarias de la Unión Europea (UE) ([Directiva 2008/105/CE](#)) y la USEPA ([Keith et al. 1979](#), [Hayward 1998](#)). Estos compuestos se introducen en el medio ambiente como resultado de diversas actividades antropogénicas. Debido a sus propiedades antimicrobianas de amplio espectro, los clorofenoles se utilizan como agentes preservadores de madera, pinturas, fibras vegetales y cuero, y como desinfectantes. Además, se emplean en la industria como intermedios de síntesis o materias primas en la producción de pesticidas, fármacos y tintes. Pueden generarse durante la incineración de residuos, el blanqueo de pulpa de papel con cloro y la cloración del agua potable ([Ahlborg et al. 1980](#)). Además de actividad bactericida, los clorofenoles presentan fitotoxicidad y capacidad de bioacumularse en organismos debido a su lipofilicidad ([Pedroza et al. 2007](#)). Se califican como perjudiciales para la salud humana debido a su potencial actividad carcinogénica y mutagénica y su toxicidad ([ATSDR 2007](#)), y son recalcitrantes a la biodegradación, por lo que se consideran persistentes en el medio ambiente.

1.1.2. Pesticidas y herbicidas

Los pesticidas se emplean para el control de plagas en la agricultura intensiva desde los años 50 y su uso ha ido en aumento del 6-8% por año en los últimos años ([Sreenivasulu et al. 2001](#)). En concreto, la agricultura en invernaderos, que requiere aproximadamente 200 veces más cantidad de pesticidas que la agricultura tradicional, ha crecido de manera exponencial en los países del área Mediterránea en los últimos años. Diferentes estudios en países de la UE han mostrado la presencia de pesticidas en aguas superficiales, incluyendo desde acequias y arroyos adyacentes a campos de cultivo ([Liess et al. 2005](#)) hasta ríos y lagos ([Environmental Agency 2009](#)). Parte de la contaminación a gran escala resulta de fuentes puntuales y de usos no agrícolas de pesticidas ([Skark et al. 2004](#)), incluyendo el lavado de envases ($10-100 \text{ mg L}^{-1}$), efluentes de industrias agrícolas ($10-100 \text{ mg L}^{-1}$) y de plantas de fabricación ($1-1000 \text{ mg L}^{-1}$) ([Malato et al. 2001](#)). La contaminación difusa también es importante, procedente principalmente de la aplicación en forma de aerosol en los campos de cultivo, la escorrentía superficial y el filtrado a los colectores.

Los beneficios del uso de agroquímicos son evidentes en términos de incremento de la productividad agrícola y mejora de salud pública en el control de enfermedades (malaria, fiebre amarilla y dengue). Sin embargo, la presencia de residuos de pesticidas en suelo, agua y aire ha generado riesgos potenciales tanto para la salud humana como desde una perspectiva medioambiental, debido a que se trata de compuestos tóxicos y no biodegradables (DeLorenzo et al. 2001, Barron et al. 2003, Otto et al. 2007). Entre los posibles efectos crónicos de estos compuestos se encuentran la carcinogénesis, la neurotoxicidad, y los efectos en la reproducción y desarrollo celular, particularmente en los primeros años de vida (Jett 2011), daños que pueden producirse incluso a bajas concentraciones. Además, el uso indiscriminado de pesticidas ha generado problemas de resistencia y resurgimiento de antiguas plagas. A esto se suma la contaminación de las aguas subterráneas, grave problema ya que la vida media de estos compuestos suele ser de varios años, suponiendo una amenaza para la mitad de la población mundial, que se abastece del agua procedente de acuíferos (Pimentel 1996). Por todo ello, algunos pesticidas se encuentran incluidos en la lista de sustancias prioritarias de la UE (Directiva 2008/105/CE).

Los pesticidas pueden clasificarse como herbicidas, fungicidas, acaricidas e insecticidas, de acuerdo con la actividad biológica específica que desempeñan sobre la especie frente a la que actúan. También pueden clasificarse en función de su composición química distinguiéndose numerosos grupos, como fenilureas, amidas, triazinas, derivados del ácido fenoxiacético, sustancias clorofenólicas y carbamatos, entre otros.

Desde su descubrimiento en los años 50, los compuestos derivados de la fenilurea se han utilizado ampliamente para prevenir el crecimiento de plantas indeseadas. El **diurón** (3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea) es un inhibidor de la fotosíntesis que se emplea en baja concentración como herbicida selectivo para controlar la germinación de herbáceas y hierbas de hoja ancha en numerosos cultivos como caña de azúcar, piña, alfalfa, uvas, algodón y hierbabuena, mientras que a mayor concentración actúa de manera no selectiva. Está considerado como sustancia prioritaria por la UE (Directiva 2008/105/CE) y tiene una vida media de 300 días cuando se aplica en suelos (Malato et al. 2003).

Las anilinas se utilizan de manera generalizada para el control preventivo de hierbas en cultivos de maíz, soja y cacahuete. El **alacloro**, 2-cloro-2,6-dietil-*N*-metoximetil acetanilida, es una anilina clorada de uso extendido para el control de herbáceas anuales y hierbas de hoja ancha. Está clasificado como posible carcinogénico humano por la USEPA (Charizopoulos et al. 1999) y tiene un efecto altamente tóxico, siendo la concentración máxima permitida en el agua potable de $2 \mu\text{g L}^{-1}$. También está considerado como sustancia prioritaria por la UE (Directiva 2008/105/CE).

Las triazinas cloradas son herbicidas destinados al control selectivo de hierbas antes y después de su germinación. La **atrazina** es el principal representante de las s-triazinas, ya que ha sido uno de los herbicidas más empleados en todo el mundo en las últimas décadas (U.S. Department of Agriculture 1995) y es el segundo herbicida más empleado en Estados Unidos, el mayor consumidor de este tipo de plaguicidas del mundo (Figura 1.1). Se suele utilizar, en combinación con otros herbicidas, para combatir hierbas tipo césped o de hoja ancha en cultivos de maíz, sorgo y caña de azúcar. Pertenece a la lista de sustancias prioritarias de la UE (Directiva 2008/105/CE), dada su baja biodegradabilidad y su elevada vida media en agua (entre 30 y 100 días) (Balci et al. 2009) y está clasificada como posible carcinogénico humano por la USEPA.

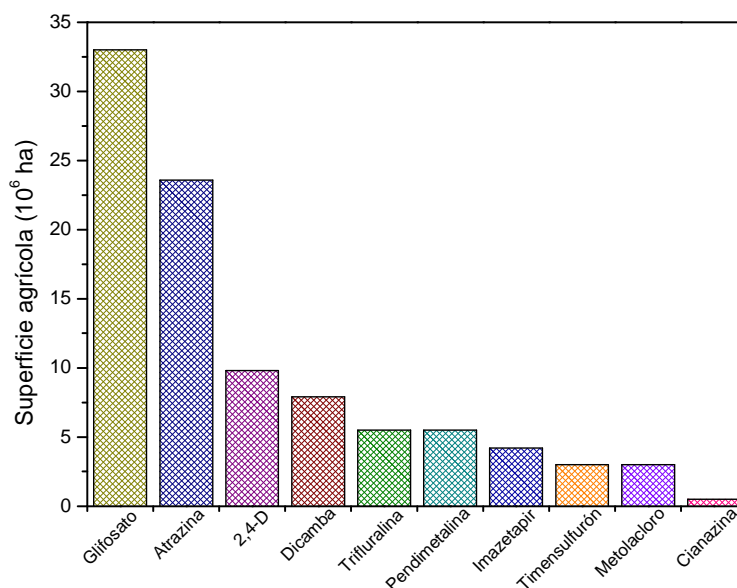


Fig. 1.1. Uso agrícola de herbicidas en Estados Unidos en 2001 (Fuente: USDA).

Los herbicidas de la familia de los ácidos clorofenoxi se han empleado desde mediados de los años 40 para erradicar las hierbas de hoja ancha de los campos de cereal en todo el mundo. Estos compuestos suelen aplicarse en fórmulas mixtas para optimizar su actividad frente a las hierbas más persistentes. Dentro de este grupo se encuentran el **MCPA** (ácido 4-cloro-2-metilfenoxiacético) y el **2,4-D** (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), siendo este último uno de los herbicidas más utilizados en el mundo. Por su modo de acción, se les incluye dentro de los herbicidas hormonales, pues actúan de manera similar a la auxina, una hormona natural de crecimiento de las plantas, pero que en su forma sintética y en una concentración mucho mayor provoca la muerte de la planta, ya que no encuentra un mecanismo de control interno. Estos herbicidas muestran una toxicidad moderada, aunque pueden provocar carcinoma de tejido blando en humanos (Lyngge 1985, Vineis et al. 1986) y embriotoxicidad en animales (Hood et al. 1979).

1.1.3. Fármacos

En la última década ha tenido lugar un aumento exponencial del número de estudios sobre los denominados PPCPs (fármacos y productos de cuidado personal) (Kolpin et al. 2002, Tixier et al. 2003, Ashton et al. 2004), que han suscitado un gran interés científico al revelar la presencia de estos compuestos tanto en aguas superficiales y subterráneas (Andreozzi et al. 2003a, Andreozzi et al. 2003b, Perez-Estrada et al. 2005), como en agua para consumo (Ternes et al. 2002, Buffle et al. 2006), agua de grifo (Halling-Sorensen et al. 1998, Doll et al. 2003), océanos, sedimentos y suelos (Halling-Sorensen et al. 1998).

Dentro del grupo de los PPCPs, los fármacos representan una fracción de especial interés dado que están diseñados para desempeñar, incluso en concentraciones traza, un determinado efecto fisiológico en seres humanos y animales. El elevado consumo mundial de estas sustancias supone una liberación continua tanto del propio compuesto como de sus metabolitos, principalmente a través de excreciones humanas o animales (Ashton et al. 2004). Los efluentes de industrias farmacéuticas y hospitales se suman a este problema, así como los fármacos de uso veterinario, que contaminan directamente el suelo a partir del estiércol y las aguas superficiales y subterráneas por lixiviación (Khetan et al. 2007). En una EDAR, los

fármacos pueden mineralizarse, no degradarse, retenerse parcialmente en el fango o metabolizarse en intermedios incluso más refractarios que acabarían liberándose a las aguas naturales.

La Tabla 1.1 establece una clasificación de los diferentes grupos de fármacos más comunes en función de su actividad terapéutica, así como el intervalo de concentración en el que suelen encontrarse en las aguas residuales.

Tabla 1.1. Fármacos detectados con mayor frecuencia en las aguas residuales (Al-Rifai et al. 2007, Gomez et al. 2007, Santos et al. 2007, Vieno et al. 2007).

Uso terapéutico		Fármaco (intervalo de concentración, $\mu\text{g L}^{-1}$)
Antibióticos		Sulfametoxazol (0,02-0,58), ofloxacina (0,006-0,052), ciprofloxacina (0,006-0,06), trimetoprima (0,11-0,37), penicilina (< 0,025)
Analgésicos / Antipiréticos	Analgésico, antipirético	Acetaminofeno (10-23,3)
	Antiinflamatorios no esteroideos	Diclofenaco (0,01-510), naproxeno (0,5-7,84), ibuprofeno (0,49-990), ketoprofeno (0,13-3),
Medicamentos que afectan al sistema nervioso central	Antiepilépticos	Carbamazepina (0,1-1,68)
	Estimulantes	Cafeína (3,2-11,4)
Medicamentos cardiovasculares	Beta-bloqueantes	Propranolol (0,05), atenolol (0,01-0,73), metoprolol (0,01-0,39)
	Reductores de colesterol y triglicéridos	Ácido clofibrato (0,47-170), gemfibrozilo (0,3-3), bezafibrato (0,1-7,60)
Tratamientos endocrinológicos	Hormonas esteroideas	17 α -etinilestradiol (0,001), estrona, 17 β -estradiol, estriol (<0,01)
Halógenos orgánicos	Contraste yodado de rayos-X	Iopromida (0,026-7,5), iomeprol (1,6)

Los fármacos están diseñados para ejercer su función sobre un organismo diana (humano o animal), pero pueden darse efectos secundarios en otros seres vivos. Aunque algunos estudios han mostrado el potencial tóxico de determinados compuestos farmacéuticos, el conocimiento en este campo es aún limitado, especialmente considerando que coexisten en mezclas junto con otros compuestos químicos, pudiendo desarrollarse efectos sinérgicos (Halling-Sorensen et al. 1998, Chatzitakis et al. 2008). Algunos de estos compuestos se consideran **disruptores endocrinos**, sustancias capaces de alterar el equilibrio hormonal, pudiendo desarrollar actividad estrogénica y antiestrogénica aún en concentraciones muy bajas. Además, dada su elevada lipofiliidad, pueden bioacumularse en los seres vivos (Tanabe 2005), siendo sus efectos particularmente alarmantes en organismos acuáticos, ya que se encuentran expuestos de manera multigeneracional (Halling-Sorensen et al. 1998). En humanos, se han detectado concentraciones de hasta 4,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ de galaxolida en sangre, una sustancia contenida en ciertos perfumes, cosméticos, jabones y detergentes, y otras fragancias (Hutter et al. 2005). En el caso de los antibióticos, su uso generalizado está ligado a un aumento de la resistencia bacteriana, con la reaparición de enfermedades previamente erradicadas, como la tuberculosis (Goebel et al. 2007). La presencia de estos microcontaminantes también afecta a la posible reutilización del agua residual tratada, una de las soluciones pretendidas para conseguir una gestión sostenible del ciclo del agua (Munoz et al. 2009).

1.2. Marco legislativo en materia de aguas residuales

El concepto de calidad de agua hace referencia a un conjunto de características físicas, químicas y biológicas, que la hacen adecuada para un uso determinado, por lo que no existe en España una única ley que indique una serie de parámetros y los valores a partir de los cuales un agua se consideraría contaminada. La normativa vigente en materia de aguas se encuentra dispersa en una amplia variedad de herramientas legislativas que presentan distintos niveles de competencia -europeo (directivas, decisiones), nacional (reales decretos, leyes) o autonómico (leyes, decretos legislativos)-, aspectos a regular (parámetros de calidad, frecuencias de

muestreo y análisis, etc.) y ámbitos de aplicación (aguas de consumo humano, aguas subterráneas, aguas destinadas a la producción de agua potable, etc.).

La política en materia de aguas se sustenta, con carácter general, en la Directiva Marco del Agua ([Directiva 2000/60/CE](#)), creada con el ambicioso objetivo de retornar los sistemas acuáticos a un estado ecológico adecuado y promover un uso sostenible del agua. Esta Directiva fue modificada por la [Decisión nº 2455/2001/CE](#), mediante la cual se aprobó la lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas.

La [Directiva 96/61/CE](#), traspuesta al ordenamiento jurídico español como la [Ley 16/2002](#), de prevención y control integrado de la contaminación, establece medidas para evitar las emisiones de actividades contaminantes en el agua con objeto de alcanzar un nivel elevado de protección del medio ambiente. En su Anexo III recoge una lista de las principales sustancias contaminantes tomadas en consideración, entre las que se incluyen los compuestos organohalogenados con una mención específica.

En materia de aguas residuales, la [Directiva 91/271/CEE](#), relativa al tratamiento de las aguas residuales urbanas, señala la necesidad de que los vertidos industriales que entren en los sistemas colectores e instalaciones de tratamiento de aguas residuales urbanas se sometan a un tratamiento previo para garantizar que no provoquen efectos nocivos sobre las personas y el medio ambiente. En este contexto, la Comunidad Autónoma de Madrid aprobó la [Ley 10/1993](#), que tiene por objeto regular los vertidos industriales al sistema integral de saneamiento, fijando límites de vertido de concentración de materia orgánica (1750 mg DQO L⁻¹), de determinados compuestos como fenoles (2 mg L⁻¹) y de toxicidad biológica, con un valor máximo de 25 unidades de toxicidad (UT). En el artículo 4 de esta Ley se establece la necesidad de tratar las aguas residuales procedentes de vertidos industriales que no se ajusten a las características recogidas antes de ser incorporadas a la red de alcantarillado o incluso la obligación de disminuir los procesos de fabricación si el tratamiento no consigue bajar los niveles de sustancias contaminantes hasta los límites establecidos.

1.3. El tratamiento de las aguas residuales industriales

Dada la gran variedad de aguas residuales, se hace necesario adecuar el tipo de tratamiento a las características del influente, teniendo en cuenta los parámetros establecidos en la legislación, como la demanda química de oxígeno (DQO), la demanda biológica de oxígeno (DBO), la ecotoxicidad, el pH, etc., buscando siempre la mayor eficiencia posible en términos económicos.

Los sistemas de tratamiento de aguas residuales industriales pueden clasificarse como **no destructivos**, o de separación, y **destructivos**, que engloban incineración, oxidación química, reducción catalítica y degradación biológica, entre otros. La principal desventaja de los métodos no destructivos es que requieren un tratamiento posterior para eliminar o recuperar el contaminante. En cuanto a los métodos térmicos de oxidación, como la combustión y la pirólisis, han sido desechados para el tratamiento de clorofenoles y otros compuestos clorados debido a que en estos procesos se generan dioxinas policloradas.

1.3.1. Tratamientos de oxidación química

Los procesos de oxidación química se clasifican en función del tipo de agente oxidante utilizado y las condiciones de presión y temperatura a las que operan. Los procesos de **oxidación húmeda** (WAO) emplean una fuente gaseosa de oxígeno, ya sea aire u oxígeno puro, en elevadas condiciones de presión (0,5-20 MPa) y temperatura (125-300°C) (Mishra et al. 1995), basándose en el aumento de la reactividad del oxígeno o de su capacidad oxidante a elevadas temperaturas. En condiciones de presión y temperatura cercanas al punto crítico del agua (374°C, 22 MPa), el proceso se conoce como **oxidación húmeda supercrítica**, y tanto el gas como el líquido forman una única fase homogénea. Este sistema puede ser de interés en el tratamiento de aguas industriales con una carga orgánica moderada o alta (10-100 g DQO L⁻¹) (Levec et al. 2007). Sin embargo, las condiciones de elevada presión y temperatura hacen que estos procesos no sean, por lo general, una opción económicamente viable. La introducción de un metal noble como catalizador permite utilizar condiciones de presión y temperatura significativamente menores, en un proceso conocido como **oxidación húmeda catalítica** (CWAO) (Qin et al. 2001, Santos et al. 2004). Las tecnologías basadas en

oxidación húmeda (Quintanilla et al. 2006, Garcia-Molina et al. 2007) y catalítica (Qin et al. 2001, Suarez-Ojeda et al. 2005, Quintanilla et al. 2007) se han estudiado en profundidad para el tratamiento de fenol y diversos derivados fenólicos, como 2 y 4-clorofenol, o-cresol y p-nitrofenol.

Los **procesos de oxidación avanzada** (AOPs) están basados en la utilización de oxidantes fuertes, que permiten llevar a cabo el tratamiento en condiciones de temperatura y presión cercanas a las ambientales. Gran parte de los AOPs emplean radicales hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), dado que se trata de oxidantes muy reactivos ($E^0 = 2,8 \text{ V}$) y no selectivos, lo cual es útil para el tratamiento de aguas residuales que contienen contaminantes orgánicos muy variados. Los radicales hidroxilo reaccionan rápidamente mediante la adición a un doble enlace o por sustracción de un átomo de hidrógeno de la cadena alifática de la molécula (Buxton et al. 1988), y los radicales orgánicos resultantes inician a su vez series de reacciones de oxidación que dan lugar a la mineralización de los compuestos orgánicos, produciendo finalmente CO_2 y H_2O (Legrini et al. 1993). Debido a su extremada reactividad, los radicales hidroxilo son muy inestables y deben generarse de manera continua, produciéndose *in situ* mediante reacciones químicas o fotoquímicas.

El uso de reactivo **Fenton** es uno de los mecanismos más efectivos para la generación de radicales hidroxilo. El proceso, que se ha estudiado extensamente (Chen et al. 1997, De Laat et al. 1999, Kang et al. 2002, Neyens et al. 2003), consiste en la descomposición catalítica del H_2O_2 por medio de Fe^{2+} a pH ácido, de acuerdo con la ecuación 1.1. El Fe^{3+} puede reaccionar con el H_2O_2 , también a pH ácido, regenerando el catalizador (ecuación 1.2).



La eficiencia del proceso Fenton depende de las condiciones de temperatura, pH, concentración de peróxido de hidrógeno y catalizador, y de la reducción del Fe^{3+} a Fe^{2+} . Existen intermedios de reacción capaces de reducir el Fe^{3+} y regenerar el catalizador, pero también los hay que secuestran el Fe^{3+} , generando complejos y retrasando o inhibiendo el proceso de oxidación. El proceso Fenton presenta su

máxima actividad catalítica a pH 2,8-3,0, disminuyendo drásticamente al alejarse de este intervalo. A pH mayor que 3, el Fe^{3+} comienza a precipitar en forma de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ y la molécula de H_2O_2 se transforma preferentemente en O_2 y H_2O en vez de en radicales hidroxilo (Szpyrkowicz et al. 2001). Además, la formación de complejos de Fe^{2+} a pH alto provoca una disminución del catalizador disponible (Benitez et al. 2001). Por otra parte, a pH demasiado ácido se inhibe la regeneración del Fe^{2+} mediante la reacción de Fe^{3+} con H_2O_2 (Pignatello 1992). La temperatura de la reacción es otro parámetro crucial en el proceso Fenton ya que, en principio, un aumento de ésta mejora la cinética del proceso, pero también favorece la descomposición del H_2O_2 en O_2 y H_2O a razón de 2,2 veces cada 10°C en el intervalo de $20\text{-}100^\circ\text{C}$ (Jones 1999).

Las concentraciones iniciales de H_2O_2 y Fe^{2+} son dos factores relevantes que afectan al proceso Fenton y que se encuentran relacionados. La dosis de peróxido de hidrógeno debe establecerse de acuerdo con la concentración inicial de contaminante, siendo frecuente utilizar la dosis correspondiente a la cantidad estequiométrica teórica para la demanda química de oxígeno (Bautista et al. 2008), aunque depende de la respuesta de cada compuesto a la oxidación y el objetivo de reducción de la carga de contaminante.

Una de las ventajas del proceso Fenton frente a otros tratamientos de oxidación es que no se necesita una fuente de energía externa para activar la descomposición del H_2O_2 . Además, requiere tiempos de reacción relativamente cortos y utiliza reactivos fáciles de manejar. Las principales desventajas son el alto coste del peróxido de hidrógeno y que el catalizador, en fase homogénea añadido como sal de hierro, no puede retenerse en el proceso, requiriendo una separación posterior o bien el empleo de un soporte para introducir el catalizador en fase heterogénea.

La eficiencia del proceso Fenton puede mejorarse si la reacción tiene lugar bajo irradiación UV, en un proceso conocido como **foto-Fenton** (Shemer et al. 2006, Rizzo et al. 2008, Kusic et al. 2009). Bajo irradiación a una longitud de onda superior a 300 nm en el intervalo ultravioleta-visible (Andreozzi et al. 1999), el Fe^{3+} producto de la reacción Fenton puede reducirse a Fe^{2+} regenerando el catalizador sin consumo de peróxido de hidrógeno y originando $\text{OH}\cdot$ de manera

adicional (ecuación 1.3). El proceso foto-Fenton puede llevarse a cabo bajo radiación solar, lo que supone una significativa reducción de costes.



La oxidación de compuestos orgánicos mediante **ozonización** puede ocurrir vía ozono, radicales hidroxilo o la combinación de ambos (Von Gunten 2003). La ruta de oxidación viene determinada por la relación $\text{O}_3/\text{OH}\cdot$ y las cinéticas correspondientes. En condiciones ácidas se favorecen las reacciones de ozono, mientras que a pH básicos la formación de radicales hidroxilo aumenta, influyendo positivamente en la eficiencia del proceso (Beltran et al. 2001, Muthukumar et al. 2004, Coca et al. 2005). El tratamiento puede mejorarse mediante la combinación con luz UV (Amat et al. 2005, Rivas et al. 2009) y peróxido de hidrógeno (Balcioglu et al. 2003, Rosal et al. 2008).

La **fotocatálisis** consiste en la aceleración de la reacción fotoquímica mediante la adición de un catalizador. Cuando éste es irradiado por un flujo de luz cuya energía es igual o mayor que la energía de banda del fotocatalizador, los electrones se mueven de la banda de valencia a la banda de conducción, creándose vacantes o huecos de electrones en la banda de valencia. Los pares electrón/hueco ($e^- - h^+$) creados migran a la superficie del catalizador, donde se recombinan o participan en reacciones redox (Ohtani 2010). Por lo general, el catalizador empleado se encuentra en una fase diferente que el medio de reacción, por lo que se conoce como fotocatalisis heterogénea. Aunque se han investigado diferentes catalizadores en la aplicación de estos procesos en el tratamiento de aguas residuales (ZnO, ZrO₂, CdS, MoS₂, Fe₂O₃, WO₃, entre otros), el TiO₂ es el más utilizado debido a su fotoactividad, capacidad para utilizar radiación visible o UV cercano, resistencia a la fotocorrosión, estabilidad química y biológica, toxicidad reducida y bajo coste (Agrios et al. 2005).

La degradación mediante **ultrasonidos** (US) o sonolisis se basa en la aplicación de ondas acústicas de elevada intensidad a frecuencias que provocan cavitación en líquidos (típicamente en el intervalo de 20-1000 Hz). La cavitación consiste en la formación, crecimiento y subsecuente colapso de microburbujas en intervalos de tiempo extremadamente pequeños, generando una gran cantidad de energía y

radicales reactivos (Gogate 2002). La degradación u oxidación de contaminantes mediante cavitación se ve afectada por diferentes factores, como la frecuencia e intensidad del ultrasonido, geometría del reactor, tipo y naturaleza del compuesto y temperatura (Gogate et al. 2004a). La utilización de peróxido de hidrógeno u ozono puede mejorar el proceso a través de la generación adicional de radicales libres, la mejora en la difusión del ozono gracias al ultrasonido y la lisis de H_2O_2 mediante ultrasonido para producir radicales hidroxilo (Gogate et al. 2004b, Tezcanli-Guyer et al. 2004, Kidak et al. 2007).

Los procesos de **oxidación electroquímica**, que consisten en la formación de radicales hidroxilo en los sitios activos del ánodo, se han utilizado para la eliminación de diversos contaminantes, tanto orgánicos como inorgánicos (Comninellis et al. 2008, Matilainen et al. 2010). La eficiencia del proceso electroquímico depende del electrodo y el electrolito, la corriente aplicada, el pH y la naturaleza y concentración del contaminante. Se han investigado diferentes materiales que actúan como ánodo en presencia de un electrolito adecuado, normalmente NaCl, como grafito, Pt, TiO_2 , IrO_2 , PbO_2 , diamante dopado con boro, entre otros (Comninellis et al. 2008).

Los AOPs suelen utilizarse para el tratamiento de aguas residuales industriales con una DQO relativamente baja ($< 5 \text{ g L}^{-1}$), ya que cargas mayores requieren un consumo de reactivos demasiado alto (Andreozzi et al. 1999). Pueden distinguirse diferentes áreas de aplicación de los AOPs para el tratamiento de aguas residuales (Comninellis et al. 2008):

- Tratamiento de efluentes industriales incluyendo, entre otros, de destilerías, agroquímicas, blanqueamiento de papel, colorantes textiles, aceites, metales...
- Tratamiento de efluentes peligrosos como los de hospitales y mataderos.
- Eliminación de patógenos y residuos persistentes, disruptores endocrinos y fármacos en las plantas de tratamiento de aguas municipales.
- Eliminación de microcontaminantes como pesticidas y metales pesados (As, Cr, entre otros).

Los AOPs se han aplicado satisfactoriamente para la eliminación de clorofenoles en agua empleando diferentes técnicas, como reactivo Fenton (Chamarro et al. 2001, Munoz et al. 2011), foto-Fenton (Al Momani et al. 2006), H₂O₂/UV (Ghaly et al. 2001, Pouloupoulos et al. 2008), O₃ (Boncz et al. 1997), O₃/H₂O₂ (Pi et al. 2007), O₃/UV (Benoit-Guyod et al. 1994) y fotocátalisis heterogénea (Vijayan et al. 2009). De entre estas técnicas, la ozonización parece ser la más eficaz en la eliminación de clorofenoles en agua, aunque los procesos basados en peróxido de hidrógeno (Fenton, foto-Fenton y H₂O₂/UV) también consiguen degradar estos compuestos en un corto período de tiempo y con un menor coste que la ozonización (Pera-Titus et al. 2004). Aunque los procesos de oxidación química se han convertido en tecnologías prometedoras para el tratamiento de clorofenoles, la oxidación parcial de los compuestos fenólicos puede generar intermedios de toxicidad más elevada, como hidroquinona y p-benzoquinona (Zazo et al. 2007, Suarez-Ojeda et al. 2010), por lo que deben vigilarse las condiciones bajo las que se llevan a cabo.

Entre los diferentes métodos de eliminación de pesticidas en aguas residuales basados en AOPs, se incluyen los procesos de degradación fotoquímica (O₃/UV y H₂O₂/UV) (Andreozzi et al. 2003a, Chelme-Ayala et al. 2010), fotocátalisis (TiO₂/UV), Fenton y foto-Fenton (Legrini et al. 1993, Fallmann et al. 1999, Kitsiou et al. 2009), ozonización (Ternes et al. 2003, Cokgor et al. 2004, Andreozzi et al. 2005, Deborde et al. 2005, Dantas et al. 2008), oxidación con ultrasonidos (Stavarache et al. 2002, Abu-Hassan et al. 2006, Jiang et al. 2006, Naddeo et al. 2010) y procesos de oxidación electroquímica (Brillas et al. 2003).

La utilización de AOPs en la eliminación de compuestos farmacéuticos se ha desarrollado de manera exponencial en la última década, siendo los métodos más utilizados la fotocátalisis heterogénea empleando semiconductores, ozonización, oxidación Fenton y foto-Fenton (Figura 1.2).

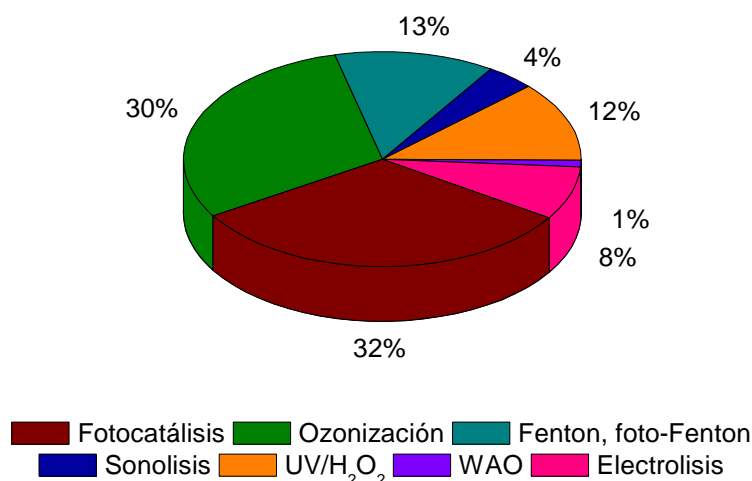


Fig. 1.2. Distribución de los AOPs empleados para la degradación de compuestos farmacéuticos (Klavarioti et al. 2009).

1.3.2. Tratamientos de reducción catalítica

Estos procesos se basan en el empleo de un agente reductor en presencia de un catalizador, normalmente en condiciones de presión y temperatura moderadas. La hidrogenación, que utiliza hidrógeno como agente reductor, es el tratamiento de reducción más utilizado en la eliminación de compuestos xenobióticos halogenados en aguas residuales. Dentro de los procesos de hidrogenación, la hidrodecloración consiste en la rotura de enlaces carbono-cloro de moléculas orgánicas mediante una fuente de hidrógeno en presencia de un catalizador, siendo los más utilizados los de metales nobles (Pd, Pt, Rh) (Urbano et al. 2001, Calvo et al. 2006, Diaz et al. 2008). Los tratamientos de hidrogenación no buscan la mineralización final sino que dan lugar a intermedios generalmente menos tóxicos y más biodegradables. Una de las ventajas más significativas de estos procesos es su elevada selectividad hacia compuestos clorados. Sin embargo, cuentan con importantes desventajas, como el empleo de hidrógeno como agente reductor, lo que exige tomar medidas de seguridad especiales, y la pérdida de actividad progresiva que suelen sufrir los catalizadores, lo que aumenta de manera significativa los costes del proceso (Felis et al. 1999, Keane 2005, Padilla et al. 2005).

Los procesos de reducción catalítica se han empleado principalmente utilizando hidrógeno como agente reductor del enlace carbono-cloro de clorofenoles en presencia de diferentes catalizadores, sobre todo metales nobles como Pd (Hoke et al. 1992, Calvo et al. 2004), Rh (Diaz et al. 2009) o Pt (Molina et al. 2009). La liberación de los átomos de cloro mediante la ruptura del enlace origina fenol, que a su vez se hidrogena produciendo ciclohexanol y ciclohexanona. La distribución de los productos depende del catalizador empleado y de las condiciones de reacción, empleándose generalmente aquéllos que presentan elevada selectividad hacia ciclohexanol, ya que es el menos tóxico de los tres productos principales de la reacción (Diaz et al. 2007). En cuanto al tratamiento de aguas residuales con pesticidas, aunque por lo general se ha centrado en procesos de oxidación, la hidrodechloración catalítica se perfila como una buena alternativa, especialmente en el caso de herbicidas clorados como alacloro (Calvo et al. 2008), diurón (Calvo et al. 2010) y clorofenoxi-herbicidas (Zinovyev et al. 2005).

1.3.3. Tratamientos biológicos

Los tratamientos biológicos engloban todas las tecnologías que utilizan seres vivos, principalmente bacterias, para la depuración de las aguas residuales. Se caracterizan por un bajo coste de aplicación y operación, además de una gran versatilidad tanto por el caudal como por la concentración de materia orgánica que pueden tratar.

El metabolismo microbiano es un proceso de conversión de energía sustentado por reacciones redox, entre las cuales se pueden distinguir, en función del aceptor de electrones, la **respiración aerobia**, que emplea oxígeno, la **respiración anaerobia**, en la que se utiliza un compuesto inorgánico diferente al oxígeno, como nitrato o sulfato, y la **fermentación**, si se trata de un compuesto orgánico. De esta forma, pueden diferenciarse los **tratamientos aerobios**, en los que los microorganismos transforman la materia orgánica a biomasa y CO₂, de los **tratamientos anaerobios**, en los que los compuestos orgánicos se degradan a metano, CO₂ y H₂O a través de tres pasos básicos (hidrólisis, acidogénesis y metanogénesis) en ausencia de oxígeno (Chan et al. 2009).

La Tabla 1.2 establece una comparación de diferentes aspectos de los tratamientos biológicos aerobios y anaerobios. En general, los sistemas aerobios son adecuados para el tratamiento de aguas residuales con DQO por debajo de 1 g L^{-1} , mientras que los anaerobios son capaces de tratar concentraciones incluso por encima de los 4 g L^{-1} (Chan et al. 2009). Los reactores anaerobios suelen ser más apropiados para el tratamiento de aguas residuales industriales altamente contaminadas, debido al alto nivel de DQO, el potencial de recuperación de energía y la menor producción de fango. Sin embargo, en la aplicación práctica, los tratamientos anaerobios presentan una baja velocidad de crecimiento de microorganismos, una pobre sedimentación, elevada inestabilidad y suelen necesitar un tratamiento posterior. Los sistemas aerobios consiguen una mayor eliminación de la materia orgánica biodegradable y suelen producir una biomasa bien floculada, lo que resulta en una calidad del efluente mayor que en los sistemas anaerobios.

Una de las desventajas de los tratamientos biológicos, generalmente más común en los tratamientos aerobios, es la resistencia de ciertos compuestos a la biodegradación. Se conoce una amplia variedad de microorganismos capaces de metabolizar muchos de los contaminantes orgánicos generados en los procesos industriales (Koboyashi et al. 1982, Wu et al. 2012), pero aunque una especie determinada sea capaz de mineralizar un compuesto específico, a veces la degradación cuenta con limitaciones como pueden ser:

- Inhibición por sustrato. A partir de una determinada concentración del compuesto, su velocidad de degradación disminuye pudiendo aparecer incluso efectos tóxicos.
- Período de aclimatación. Es el tiempo que transcurre desde que se pone en contacto una población microbiana con un compuesto orgánico hasta que comienza la degradación.
- Crecimiento diáuxico. Ante varias fuentes de carbono, una población microbiana no suele degradarlas de forma simultánea, sino que emplea en primer lugar la que más velocidad de crecimiento le aporte y, tras una fase estacionaria, consume el sustrato adicional.

- Biodegradabilidad. Puede ocurrir que la degradación de algunos compuestos orgánicos no sea completa y el compuesto se transforme en intermedios no biodegradables, al menos, mediante el mismo organismo.

Tabla 1.2. Comparación de tratamientos aerobios y anaerobios (Yeoh 1995, Grady et al. 1999).

	Aerobios	Anaerobios
<i>Eficiencia en la eliminación de compuestos orgánicos</i>	Alta	Alta
<i>Calidad del efluente</i>	Excelente	De moderada a pobre
<i>Carga orgánica</i>	Moderada	Alta
<i>Producción de fangos</i>	Alta	Baja
<i>Requerimiento de nutrientes</i>	Alto	Bajo
<i>Requerimiento de alcalinidad</i>	Bajo	Alto para ciertas ARI
<i>Requerimiento de energía</i>	Alto	De bajo a moderado
<i>Sensibilidad a la temperatura</i>	Baja	Alta
<i>Tiempo de puesta en marcha</i>	2-4 semanas	2-4 meses
<i>Olor</i>	Nivel bajo	Problemas de olor potenciales
<i>Recuperación de energía y nutrientes</i>	No	Sí
<i>Modalidad de tratamiento</i>	Total	Esencialmente como pre-tratamiento

A pesar de estas limitaciones, ciertos microorganismos expuestos a compuestos en principio recalcitrantes pueden desarrollar la habilidad de degradarlos promoviendo transformaciones fisiológicas en el metabolismo microbiano, como mutaciones y cambios en los niveles, regulación y producción de enzimas, por los cuales se selecciona y multiplica una población especializada (Wiggings et al. 1987). Gracias a este hecho, aunque el tratamiento biológico se vea dificultado por el efecto inhibitorio de un compuesto sobre la población microbiana, la biodegradación se puede mejorar mediante una correcta estrategia de aclimatación (Buitron et al. 1998, Kim et al. 2002). En este contexto, los

denominados sistemas biológicos avanzados, como los reactores secuenciales discontinuos (SBR) y los reactores biológicos de membrana (MBR), han mostrado una importante capacidad para llevar a cabo la eliminación de compuestos resistentes a la biodegradación.

1.3.3.1. Reactor secuencial discontinuo

Un SBR es un sistema de crecimiento suspendido en el que el agua residual se mezcla con un lodo biológico existente en un medio aireado. A diferencia de los sistemas de fangos activos convencionales, en los que se requieren distintos tanques para realizar cada una de las etapas de tratamiento de forma simultánea y en continuo, en los SBR todas las operaciones tienen lugar en un solo tanque modificando las condiciones de operación (Mace et al. 2002). Los sistemas SBR tienen en común cinco etapas que se realizan de forma secuencial: llenado, reacción, sedimentación, vaciado y reposo, tal y como se recoge en la Figura 1.3.

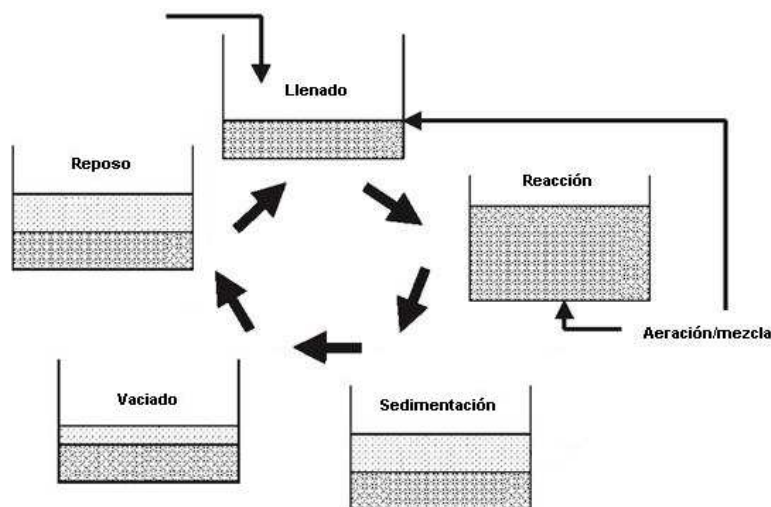


Fig. 1.3. Etapas del proceso SBR.

Durante la etapa de **llenado** se introduce el influente en el reactor, estableciendo contacto con la biomasa que permanece del ciclo anterior, pudiendo ser anóxico (sin oxígeno y con agitación) o dinámico (con oxígeno y agitación). En la fase de **reacción** se lleva a cabo la eliminación de la materia orgánica mediante la introducción de aire y la mezcla continua del medio de reacción. Tras la parada del sistema de aereación y agitación, el fango activo comienza a **sedimentar** por gravedad, separándose del agua clarificada, que se extrae durante la etapa de

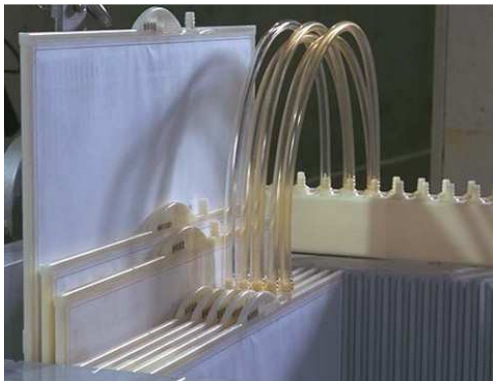
vaciado. La purga del fango es otro paso importante en el funcionamiento de los SBR, ya que es necesario controlar la concentración de microorganismos que permanecen en el reactor así como la edad del fango, factores que afectan de manera importante a la eficacia del tratamiento.

La flexibilidad en cuanto a la elección de una estrategia determinada de aereación-anoxia-anaerobiosis, así como la duración de cada una de las fases, es una de las grandes ventajas de los SBR, ya que la combinación de etapas aereadas con etapas de sólo agitación permite lograr la eliminación de nitrógeno y fósforo (Kuba et al. 1993, Tora et al. 2011). Sin embargo, los SBR también cuentan con desventajas tales como la necesidad de un alto nivel de sofisticación y mantenimiento, y problemas como el envejecimiento de los lodos, la carga excesiva del influente, el *bulking* (o esponjamiento de fangos), o el *foaming* (elevada espumosis superficial). En la actualidad, las mejoras en los dispositivos de aereación y control han permitido el desarrollo de este tipo de sistemas hasta alcanzar un mayor nivel de eficacia, que permite que la tecnología de los SBR compita con éxito con los sistemas convencionales.

1.3.3.2. Reactor biológico de membrana

El MBR combina la oxidación biológica con la filtración, de modo que en un solo reactor se produce la biodegradación de los contaminantes y la extracción del agua tratada a través de una membrana, obteniéndose un efluente ausente de sólidos suspendidos. Los tipos de membranas más empleadas en los MBR son las de placa plana y fibra hueca (Figura 1.4), y presentan un tamaño de poro entre 0,03 y 0,5 μm , por lo que se sitúan entre los intervalos de micro y ultrafiltración. Este tipo de reactores opera con concentraciones elevadas de biomasa, de 4 a 15 g L^{-1} , permitiendo un aumento significativo en la capacidad de tratamiento. El aporte de aire en los MBR se hace necesario no solamente para cubrir las necesidades de oxígeno de los microorganismos, sino también por las ventajas que se obtienen en la limpieza de la superficie de la membrana. El ensuciamiento de la membrana o *fouling*, el mayor problema al que se enfrenta la implantación de estos reactores, viene determinado por las condiciones hidrodinámicas de operación del sistema,

que obliga a la limpieza periódica de la membrana para desprender los sólidos adheridos mediante retrolavados con agua filtrada, lavado químico, o ambos.



(a) Módulo de placa plana



(b) Módulo tubular de fibra hueca

Fig. 1.4. Módulos de membrana para MBR.

Los sistemas biológicos se han utilizado ampliamente en el tratamiento de fenoles y clorofenoles en agua, a pesar de ser compuestos que presentan cierta toxicidad y resistencia a la biodegradación. Mediante la tecnología SBR se han logrado rendimientos elevados (>90%) en el tratamiento de clorofenoles en concentraciones por debajo del intervalo 0,1-0,2 g L⁻¹ para evitar problemas de toxicidad e inhibición (Moreno-Andrade et al. 2004, Martin-Hernandez et al. 2009, Monsalvo et al. 2009). Utilizando la tecnología MBR se han conseguido eficiencias de eliminación superiores al 95% en el tratamiento biológico de elevadas concentraciones de fenol (4,9-8,5 g L⁻¹) (Marrot et al. 2008). Vargas et al. (2008) observaron un aumento del 50% de la capacidad degradativa en el tratamiento de 4-clorofenol tras la incorporación de un sistema de membranas a un reactor biológico.

Los tratamientos biológicos también se han empleado en el tratamiento de aguas residuales con pesticidas. Se ha observado la eliminación completa de 2,4-D, hasta 500 mg L⁻¹, después de un período de aclimatación de 30 días en un SBR (Celis et al. 2008). Además, la biomasa aclimatada a este compuesto puede utilizarlo como única fuente de carbono (Mangat et al. 1999). Sin embargo, la degradación de pesticidas mediante métodos biológicos suele ser complicada, requiriéndose técnicas como la bioaugmentación, que consiste en la introducción en el reactor de

una determinada especie bacteriana capaz de degradar el compuesto a tratar con el objetivo de transmitir al sistema la información genética necesaria para aumentar la capacidad de degradación. Mediante esta técnica se ha logrado eliminar pesticidas derivados de la s-triazina, consiguiéndose un 53% y 58% de degradación de atrazina y simazina, respectivamente, mediante la inoculación de *Rhodococcus rhodochrous* y *Acinetobacter junii* en reactores de lecho fijo con carbón activo granular (Feakin et al. 1995a).

1.3.4. Acoplamiento de sistemas

Los diferentes sistemas de tratamiento de aguas residuales industriales presentan ciertas limitaciones, ya sean económicas o bien porque determinados compuestos o sus intermedios de reacción resultan recalcitrantes al proceso. En este contexto, en los últimos años ha surgido la necesidad de acoplar diferentes tipos de tratamiento buscando la mayor eficiencia posible, tal y como refleja el número de artículos publicados en este campo (Figura 1.5).

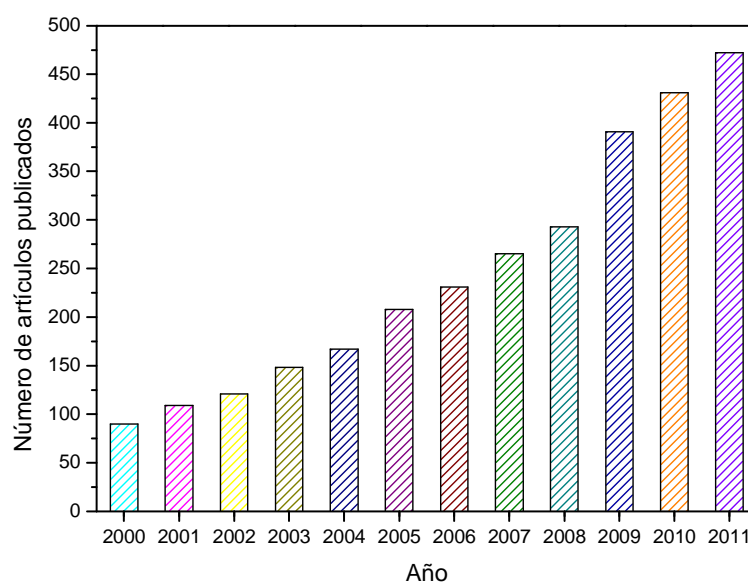


Fig. 1.5. Artículos publicados en la última década sobre el tratamiento combinado de aguas residuales industriales (Fuente: [Isi Web of Knowledge](#)).

Los procesos más empleados en el acoplamiento de sistemas para el tratamiento de aguas residuales han sido los AOPs, aunque las estrategias utilizadas son variables en función del influente a tratar y el tipo de tratamiento requerido. La aplicación de diferentes AOPs de manera simultánea tiene por objetivo aumentar

la velocidad de oxidación, ya que de este modo se promueve la generación de una mayor cantidad de especies reactivas en comparación con el uso del proceso individual. En este sentido, pueden emplearse diferentes combinaciones, como $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, O_3/UV , $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3$, $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{TiO}_2$, US/Fenton, UV/Fenton, electrolisis/Fenton y oxidación húmeda catalítica con peróxido de hidrógeno (CWPO), lográndose, por lo general, una eficacia mayor mediante el uso combinado de estos tratamientos que a partir de la suma de las obtenidas aplicando los tratamientos por separado (Comninellis et al. 2008). Un ejemplo de esta relación sinérgica es el acoplamiento de ultrasonidos con fotocatalisis empleando TiO_2 como catalizador (proceso conocido como sonofotocatalisis). La aplicación de ultrasonidos genera un aumento en la producción de radicales hidroxilo mediante la sonolisis del agua y un incremento en el área superficial del catalizador, acelerando la transferencia de materia de los reactivos sobre la superficie del TiO_2 y eliminando impurezas de dicha superficie, lo cual aumenta su capacidad de degradación (Berberidou et al. 2007, Kaur et al. 2007).

La aplicación de diferentes AOPs puede realizarse de manera secuencial si el objetivo es aumentar la selectividad, lo cual puede ser conveniente en el tratamiento de efluentes industriales que contienen diferentes clases de compuestos orgánicos más o menos fáciles de oxidar. Un ejemplo de esta combinación es el tratamiento de alpechines mediante oxidación Fenton seguido de un proceso electroquímico utilizando electrodos de diamante dopado con boro (Canizares et al. 2006). Los radicales hidroxilo generados mediante el proceso Fenton redujeron la DQO del influente a 1 g L^{-1} . Esta fracción refractaria pudo ser mineralizada mediante oxidación sobre la superficie del electrodo de diamante por medio de reacciones secundarias inducidas por otros compuestos generados electroquímicamente.

Los métodos de separación también se han aplicado como tratamiento previo a un proceso de oxidación química o biológica con el fin de transferir contaminantes a una nueva fase, de manera que puedan eliminarse más fácilmente y no interfieran en el tratamiento posterior. Los efluentes con compuestos orgánicos volátiles o sólidos pueden someterse a procesos de desorción, coagulación, floculación,

sedimentación o filtración para eliminar estas sustancias antes de llevar a cabo el tratamiento. Además, la filtración por membranas y las técnicas de adsorción pueden emplearse también para separar contaminantes que necesitan tratarse de manera individual o que pueden recuperarse para su valorización.

Otra potencial alternativa es aplicar el proceso de oxidación química como tratamiento previo para convertir los compuestos orgánicos persistentes en intermedios más biodegradables para que puedan ser mineralizados empleando un sistema biológico, con un coste considerablemente menor (Mantzavinos et al. 1999, Pulgarin et al. 1999, Parra et al. 2000, Sarria et al. 2003, Khare et al. 2007). Sin embargo, si el tratamiento químico es insuficiente, los intermedios generados podrían ser aún estructuralmente similares a los compuestos originales, pudiendo resultar tóxicos y no biodegradables. Por otra parte, la oxidación química orientada a la completa mineralización puede llevar consigo un coste extremadamente alto, ya que los intermedios cada vez más oxidados tienden a ser más refractarios al tratamiento, por lo que consumen más energía (radiación, ozono, etc.) o reactivos (catalizadores, oxidantes) y aumentan el tiempo de reacción (Munoz et al. 2005). Teniendo en cuenta la facilidad de escisión del enlace C-C mediante oxidación química y biológica, existe un punto de inflexión en el cual el tratamiento biológico es más eficiente en términos de oxidación que el tratamiento químico (Figura 1.6).

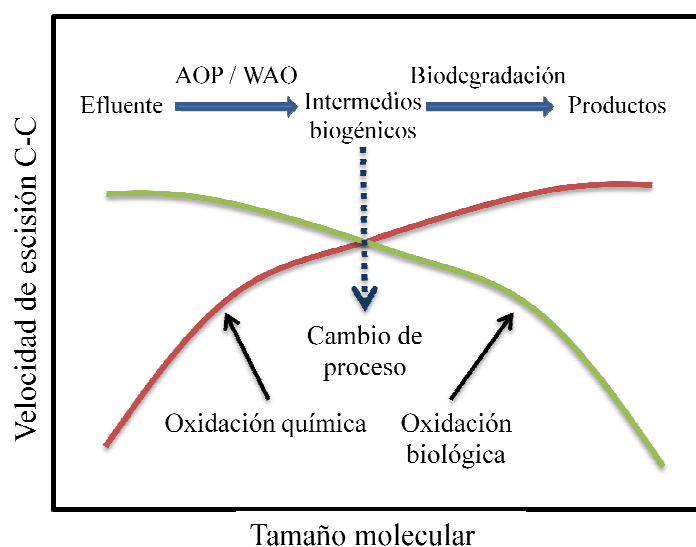


Fig. 1.6. Concepto de integración de tratamientos AOPs y sistemas biológicos (Fuente: Mantzavinos et al. 2004).

La Figura 1.7 recoge las diferentes posibilidades de acoplamiento de AOPs y sistemas biológicos en el tratamiento de aguas residuales industriales basándose en análisis biológicos (toxicidad y biodegradabilidad) y químicos (DQO, COT y concentración de compuestos no volátiles). La elección de la combinación más favorable debe resolverse teniendo en cuenta los límites de descarga y realizarse a un coste razonable, lo cual viene determinado por el tipo de efluente a tratar, su composición, concentración de materia orgánica, biodegradabilidad y toxicidad. Si el agua residual es biodegradable, debe aplicarse un tratamiento biológico, ya que es la opción más económica y compatible con el medio ambiente. Si no es biodegradable y su contenido en carbono es alto ($COT > 0,1 \text{ g L}^{-1}$), debería llevarse a cabo un AOP seguido de un tratamiento biológico. Si el agua residual no es biodegradable y su contenido orgánico es bajo ($COT < 0,1 \text{ g L}^{-1}$) pero su toxicidad es elevada, debe diseñarse un AOP destinado a reducir esa toxicidad. En este caso, el tratamiento biológico no tiene por qué ser siempre necesario si se cumplen los límites de vertido. Por último, si el agua residual no es biodegradable, su contenido orgánico y toxicidad son bajos, pero no se cumplen determinados requerimientos fisicoquímicos (por ejemplo si el efluente tiene color), puede aplicarse un AOP sin tratamiento biológico, revisando la calidad del efluente antes de verter a cauce.

La combinación de AOPs y sistemas biológicos se ha empleado en el tratamiento de cuatro tipos de aguas residuales (Oller et al. 2011):

- Aguas residuales que contienen compuestos recalcitrantes, como grandes macromoléculas, que no son biodegradables debido a su gran tamaño y ausencia de centros activos (Somich et al. 1990, Kiwi et al. 1993).
- Efluentes industriales con una fracción biodegradable que requieren un tratamiento terciario, pues están formadas por una cierta cantidad de compuestos orgánicos biodegradables y pequeñas concentraciones de compuestos recalcitrantes (Adams et al. 1994, Sierka et al. 1994).
- Aguas residuales con compuestos inhibitorios, que pueden ser tóxicos para un cierto porcentaje de biomasa (Manilal et al. 1992).
- Aguas residuales con intermedios inertes, como metabolitos específicos, que no se degradan de manera efectiva y se acumulan en el medio inhibiendo el crecimiento de los microorganismos (Hapeman et al. 1994).

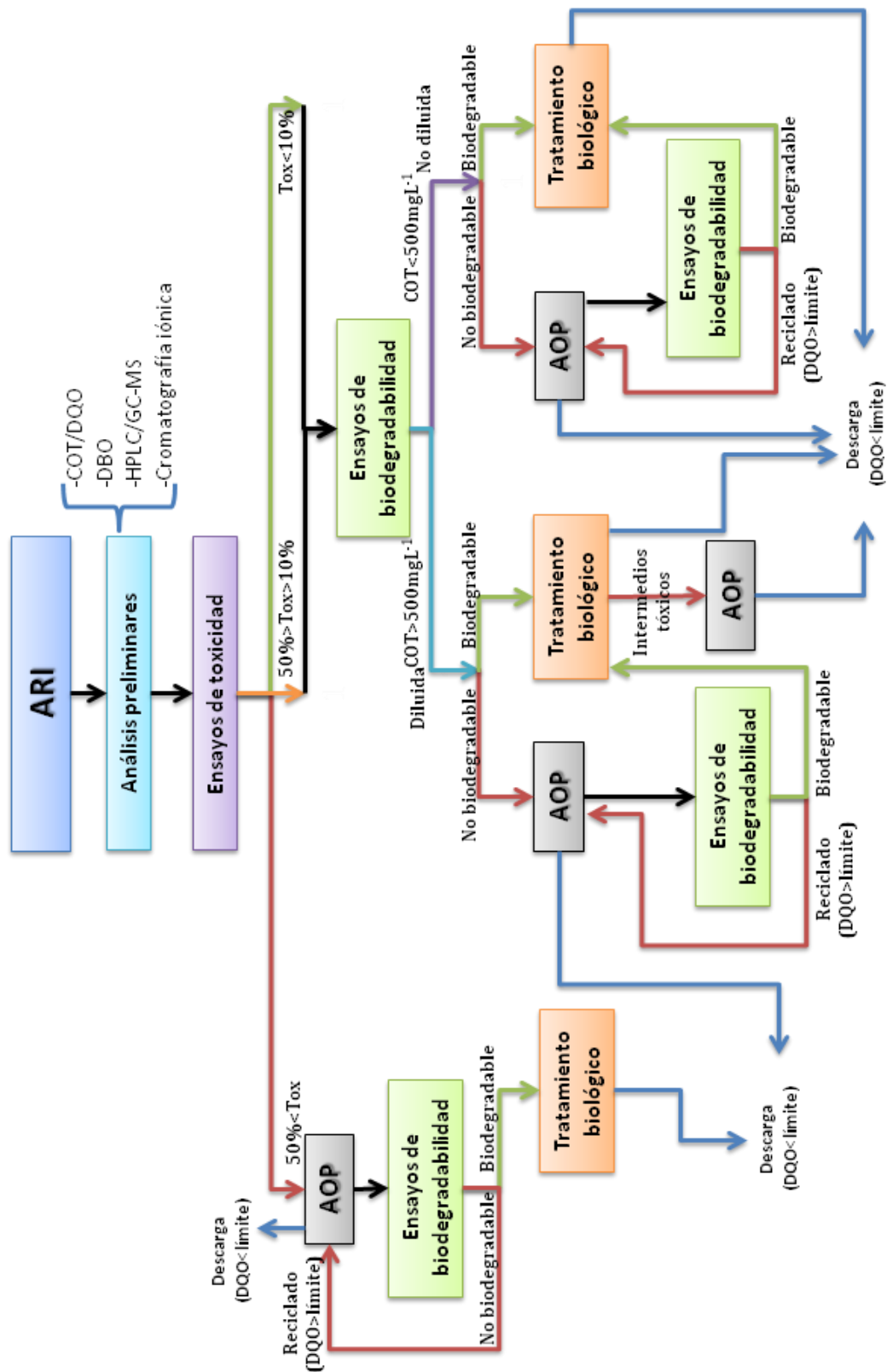


Fig. 1.7. Estrategia para la optimización del tratamiento combinado AOPs/biológico para un agua residual específica (Fuente: Oller et al. 2011)

La combinación de procesos de oxidación y sistemas biológicos se ha empleado en el tratamiento de fenoles y sus derivados obteniendo resultados satisfactorios. La oxidación húmeda como tratamiento previo a un sistema biológico para la eliminación de elevadas concentraciones de fenol en aguas residuales permitió obtener efluentes con un 25% de fracción orgánica rápidamente biodegradable (Suarez-Ojeda et al. 2008). El empleo de procesos de CWAO en combinación con sistemas biológicos permitió aumentar la biodegradabilidad de un agua residual contaminada con elevadas concentraciones de para p-nitrofenol en un 50% (Martin-Hernandez et al. 2012). Goel et al. (2010) lograron un 96% de mineralización de 4-clorofenol tratando una concentración inicial de 400 mg L⁻¹ mediante fotocatalisis con TiO₂ seguida de un tratamiento biológico aerobio. Este mismo compuesto también pudo eliminarse empleando reactivo Fenton como pre-tratamiento (Kastanek et al. 2007). Molina et al. (2010) estudiaron la optimización del tratamiento combinado CWPO-biológico para la eliminación de 4-clorofenol. El empleo de un 30% de la cantidad estequiométrica de peróxido de hidrógeno permitió un 30% de eliminación de COT en el proceso químico y la transformación del 4-clorofenol en ácidos de cadena corta, eliminando posteriormente el 99,8% del COT mediante tratamiento biológico.

La eliminación de fenol en elevadas concentraciones se ha estudiado empleando AOPs en combinación con procesos biológicos. Edalatmanesh et al. (2008) aplicaron un pre-tratamiento mediante H₂O₂/UV, logrando la mayor optimización de costes al emplear un tiempo de retención de 15,5 h en el proceso fotoquímico y de 90 h en el reactor biológico. Martin et al. (2011) estudiaron la optimización del tratamiento de elevadas concentraciones de fenol mediante la aplicación de reactivo Fenton con oro soportado en diamante seguido de un sistema biológico, de manera que la aplicación de condiciones suaves en el pre-tratamiento permitió la completa detoxificación de la solución inicial. Rubalcaba et al. (2007), estudiaron diferentes procesos de oxidación (WAO, CWAO, CWPO y Fenton) como tratamiento previo a la oxidación biológica de efluentes industriales contaminados con fenol. Los efluentes obtenidos mediante oxidación CWAO y CWPO estuvieron compuestos entre un 5 y un 36% por una fracción fácilmente biodegradable, mientras que la

biodegradabilidad de aquéllos obtenidos mediante WAO y oxidación Fenton en las condiciones seleccionadas resultó inferior al 4%.

Los AOPs se han empleado en numerosos estudios como tratamiento preliminar con el objetivo de aumentar la biodegradabilidad de aguas residuales contaminadas con pesticidas. La Figura 1.8 muestra la distribución de los diferentes tipos de AOPs utilizados en combinación con sistemas biológicos para el tratamiento de estos contaminantes. La mayoría de los estudios se basan en procesos Fenton y foto-Fenton, especialmente en este último. Farre et al. (2006) llevaron a cabo el tratamiento de los herbicidas diurón y linurón, transformándolos en intermedios biodegradables y no tóxicos aplicando un proceso foto-Fenton, para posteriormente aplicar la tecnología SBR. El mismo tratamiento de oxidación química se utilizó para tratar una mezcla de 5 pesticidas (alacloro, atrazina, clorfenvinfos, diurón e isoproturón) empleando posteriormente un biorreactor de lecho fijo, en el cual se logró el 50% de reducción de COT (Lapertot et al. 2007). También se han llevado a cabo estudios con altas concentraciones de pesticidas (200-500 mg DQO L⁻¹) integrando foto-Fenton y SBR (Ballesteros Martin et al. 2009a) o bien reactores con biomasa inmovilizada (Zapata et al. 2010).

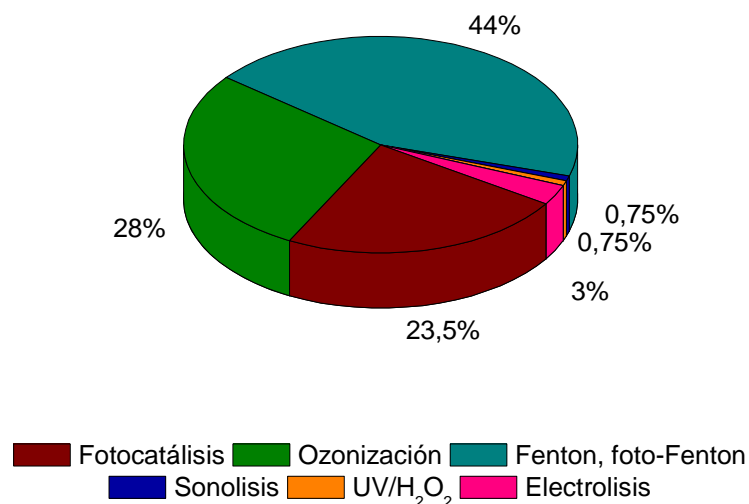


Fig. 1.8. Empleo de diferentes AOPs en combinación con sistemas biológicos para el tratamiento de pesticidas (Fuente: [Isi Web of Knowledge](#)).

La oxidación foto-Fenton también se ha utilizado como tratamiento inicial para la eliminación de PPCPs. Serra et al. (2007) emplearon un tratamiento combinado mediante un sistema fotocatalítico solar y un reactor biológico a escala piloto para la degradación de α -metilfenilglicina (500 mg L^{-1}), un precursor farmacéutico común, logrando una eliminación del 95% de COT. Esta misma tecnología combinada se utilizó en el tratamiento de un agua residual procedente de una industria farmacéutica, consiguiendo una eliminación del 33% del COT en el tratamiento fotoquímico y del 62% en el biológico (Sirtori et al. 2009). La ozonización también se ha aplicado como tratamiento previo en la eliminación de microcontaminantes, acoplada a un biorreactor de lecho fluidizado para el tratamiento de sustancias estrogénicas (Gunnarsson et al. 2009). La combinación inversa (biológico-ozonización) se ha empleado para la eliminación de 84 contaminantes emergentes (entre ellos atenolol, eritromicina, diclofenaco, omeprazol y cafeína) en concentraciones de 20 ppb (Rosal et al. 2010). Los valores de conversión alcanzados para los fármacos en el tratamiento por fangos activos se encontraron por debajo del 20%, lográndose la completa eliminación de la mayoría de los compuestos mediante el proceso de ozonización empleando dosis de O_3 por debajo de 90 mM.

El acoplamiento de sistemas de tratamiento químico y biológico requiere llevar a cabo estudios previos de viabilidad que permitan no sólo determinar la posibilidad del tratamiento combinado sino también su optimización. Estos estudios de viabilidad deben incluir ensayos de toxicidad y biodegradabilidad para determinar la influencia de la composición de los efluentes obtenidos en el tratamiento preliminar sobre el sistema biológico que intensificará su degradación.

1.4. Toxicidad y biodegradabilidad


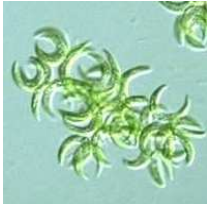


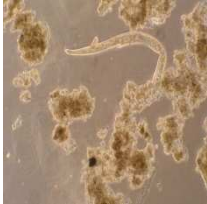

La población microbiana de un fango activo es una comunidad heterogénea aparentemente en equilibrio que permite, dentro de unos límites, cierta flexibilidad frente a cambios operacionales y de temperatura, y variaciones en el caudal y la composición del agua residual. Sin embargo, la presencia de compuestos tóxicos en el influente de un reactor biológico puede originar la

inhibición del fango activo, disminuyendo la eficiencia del tratamiento e incluso paralizando el proceso (Meric et al. 2003, Tamer et al. 2006). En Europa, este problema es especialmente relevante porque a partir de la promulgación de la Directiva de tratamiento de aguas residuales urbanas (Directiva 91/271/CEE) se permite la descarga de efluentes industriales que cumplan determinadas condiciones dentro del sistema colector urbano, por lo que las EDAR suelen recibir mezclas de descargas urbanas e industriales. Por ello, es necesario determinar el impacto potencial de un agua residual a través de su caracterización fisicoquímica, de ensayos ecotoxicológicos y de inhibición de fango activo (Gutierrez et al. 2002).

Estos bioensayos tienen en cuenta diferentes criterios como muerte, inmovilización, reproducción, crecimiento, funciones fisiológicas, comportamiento, genotoxicidad, etc. El objetivo principal es determinar un valor numérico que proporcione información sobre el efecto inhibitorio, utilizándolo a modo de índice para predecir el impacto esperado de la sustancia sobre el medio natural en el caso de descargas al medio ambiente o sobre fango activo en el caso del influente de un reactor biológico.

La Tabla 1.3 recoge los grupos de organismos empleados con mayor frecuencia en los bioensayos de caracterización de **toxicidad** de aguas residuales, los principales organismos de cada grupo, los métodos estandarizados y algunas aplicaciones (Rizzo 2011). Organismos de niveles tróficos diferentes (Ribo 1997, Shoji et al. 2000) e incluso dentro del mismo nivel trófico (Codina et al. 1993) presentan respuestas diferentes frente a un tóxico individual o a mezclas complejas, por lo que el organismo debe elegirse de acuerdo con el uso final de la matriz de agua tratada. Los test de inhibición con *Daphnia magna* pueden ser aptos para evaluar la toxicidad del efluente de una planta de tratamiento de aguas residuales antes de su descarga al medio natural. Los bioensayos con plantas pueden ser válidos para caracterizar la toxicidad del efluente de una planta de tratamiento de aguas residuales antes de su reutilización agrícola. En el tratamiento biológico de aguas residuales, los microorganismos son diferentes a los que se encuentran en el medio natural, por lo que el bioensayo debería llevarse a cabo empleando fango activo.

Tabla 1.3. Ensayos de toxicidad habitualmente empleados después del tratamiento del agua residual.

Grupo	Organismos	Método	Aplicaciones
Invertebrados	 <i>Daphnia magna</i>	USEPA (2002), ISO 6341 (1996)	Tratamiento de lixiviados de vertederos (Marttinen et al. 2002), aguas residuales urbanas (Hernando et al. 2005), industriales (Oral et al. 2007) y agua potable (Rizzo et al. 2005).
Algas	 <i>Selenastrum capricornutum</i>	ISO 8692 (1989)	Tratamiento de aguas residuales industriales (Walsh et al. 1980, Tisler et al. 2004, Oral et al. 2007)
Plantas	 Semillas de lechuga (<i>Latuca sativa</i>)	OECD 208 (1984), USEPA (1989)	Tratamiento de aguas residuales industriales (Palacio et al. 2009)
Microorganismos	 <i>Vibrio fischeri</i>	ISO 11348 (1998)	Tratamiento de aguas residuales urbanas (Hernando et al. 2005) e industriales (Tisler et al. 2004)
	 Fango activo	ISO 8192 (2007), OECD 209 (1984)	Tratamiento de aguas residuales urbanas (Dalzell et al. 2002a, Pagga et al. 2006) e industriales (Burgess et al. 1999, Mert et al. 2010)
Peces	 Trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	OECD 203 (1992)	Efluentes de tratamiento de aguas residuales urbanas (Gagne et al. 2006) y tratamientos avanzados de aguas residuales urbanas (Stalter et al. 2010)

Los ensayos basados en microorganismos se han utilizado ampliamente en la evaluación de la toxicidad debido a factores como el corto tiempo de exposición, la facilidad del manejo y la reproducibilidad de los resultados. Se han desarrollado una serie de ensayos basados en diferentes variables indicativas de la actividad microbiana (Ricco et al. 2004): velocidad de crecimiento (viabilidad de células, consumo de sustrato), actividad enzimática (deshidrogenasa, ATP), luminiscencia bacteriana (Microtox®), producción de calor metabólico (técnicas microcalorimétricas) y velocidad de respiración. El test de inhibición de la bioluminiscencia de *V. fischeri* es uno de los métodos más utilizados debido a que es rápido, simple, conlleva un gasto relativamente bajo (Giesy et al. 1989), requiere una cantidad pequeña de muestra (Kaiser et al. 1991) y puede llevarse a cabo para una gran variedad de sustancias (Ribo et al. 1987). Sin embargo, algunos autores han cuestionado este método a la hora de determinar el impacto de un compuesto sobre el fango activo de una planta de tratamiento de aguas residuales, puesto que la interpretación de los resultados generalmente sobreestima el posible impacto sobre la biomasa (Ricco et al. 2004).

La clave para la determinación del efecto tóxico en una planta de tratamiento de aguas residuales es el comportamiento de los microorganismos, por lo que la adecuada estimación del efecto tóxico de un influente sobre el fango activo debe incorporar un sistema que imite las condiciones de la planta de tratamiento. Esto se debe a que la respuesta de los microorganismos cambia en función de las condiciones ambientales y es altamente dependiente del estado fisiológico de la biomasa. En la evaluación del impacto de un compuesto sobre la biomasa de un reactor biológico deben tenerse en cuenta no sólo las condiciones de operación, sino también la precisión y repetitividad de los resultados, tiempo de ensayo, robustez, coste y mantenimiento del equipo, así como la capacidad de detectar una gran variedad de compuestos de manera que la respuesta sea concreta para cada uno.

La evaluación del impacto potencial de un agua residual sobre la biomasa de un reactor biológico debe incluir no sólo estudios de toxicidad sino también de **biodegradabilidad**, puesto que una toxicidad baja no está necesariamente ligada a

una biodegradabilidad elevada (Oller et al. 2007, Lapertot et al. 2008), y la acumulación de compuestos no biodegradables puede generar la desestabilización del sistema biológico. Sin embargo, biodegradabilidad y toxicidad son términos considerados equivalentes con frecuencia en la literatura, de manera que en muchos estudios sobre el tratamiento de aguas residuales la calidad del efluente se evalúa únicamente a través de estudios de toxicidad, los cuales, para resultar útiles, deben utilizarse como una técnica complementaria a los ensayos de biodegradabilidad.

Los ensayos de biodegradabilidad deben tener en cuenta diferentes factores que influyen en la degradación biológica, como la concentración de la sustancia objeto de estudio. Ésta debe ser lo suficientemente elevada como para permitir su análisis cuantitativo, pero lo suficientemente baja en el caso de sustancias tóxicas para que no ejerza efectos negativos sobre la biomasa. Se ha observado que compuestos inhibitorios que no se degradan en una concentración determinada pueden eliminarse utilizando una concentración menor que no ejerza un efecto tóxico sobre la biomasa (Pagga 1997). Los ensayos de biodegradabilidad también deben tener en cuenta las propiedades fisicoquímicas de los xenobióticos, como su volatilidad o solubilidad en agua, que determinan su biodisponibilidad. Además, deben analizar la posible eliminación abiótica y la presencia de otras sustancias biodegradables que puedan dar lugar a procesos cometabólicos. Otras características a tener en cuenta son la composición y concentración de nutrientes inorgánicos en el medio de ensayo, especialmente de nitrógeno y fósforo, el volumen de muestra, la utilización de botellas abiertas o cerradas, la temperatura, la homogeneización de la mezcla, la fuente de oxígeno y la duración del ensayo.

Las condiciones en las que se llevan a cabo los análisis de biodegradabilidad deben estandarizarse en lo posible, siendo específicos para cada test en función de su objetivo. Sin embargo, existen factores que no pueden estandarizarse, como la fuente de inóculo. Éste se define por su origen y la posibilidad de exposición previa a la sustancia estudiada para conseguir una mejor respuesta. Los ensayos de biodegradación que utilizan cepas puras sólo tienen sentido en casos especiales, como el estudio de rutas metabólicas, pero la mayoría de procesos de degradación

biológica se llevan a cabo por poblaciones mixtas de microorganismos. Los ensayos estandarizados normalmente emplean fango activo procedente de una planta de tratamiento de aguas residuales urbanas, no de plantas industriales, ya que en ellas la biomasa se encuentra especializada, y de esta forma se evita cualquier aclimatación previa a la sustancia objeto de estudio.

Existen tres tipos de ensayos estandarizados de biodegradabilidad según la clasificación establecida por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD): biodegradabilidad inmediata, biodegradabilidad inherente y tests de simulación. Los ensayos de **biodegradabilidad inmediata** (OECD 301 1993) son los más restrictivos, ya que su objetivo es determinar si un compuesto es biodegradable en el medio natural. Existen seis métodos diferentes para determinar la biodegradabilidad inmediata en medio aerobio: evolución de CO₂, respirometría manométrica, botellas cerradas, MITI (Ministerio internacional de comercio e industria, Japón), disminución de carbono orgánico disuelto, y una modificación de éste último. Por lo general, estos ensayos pueden servir a efectos comparativos entre diferentes xenobióticos, pero tienden a subestimar el potencial de degradación de los sistemas medioambientales. Una sustancia que no presenta biodegradabilidad inmediata puede, sin embargo, presentar **biodegradabilidad inherente**, pudiendo eliminarse en el medio ambiente a largo plazo (Pagga 1997). Por ello, cuando el resultado de un ensayo de biodegradabilidad inmediata es negativo, se requiere estudiar la biodegradabilidad inherente o potencial mediante ensayos como el test Zahn Wellens (OECD 302 B 1992), que emplean una mayor concentración de biomasa para favorecer el proceso de aclimatación. Por último, los **tests de simulación** (OECD 303 1993) se llevan a cabo en régimen continuo durante 12 semanas, estudiando la capacidad de degradación de la biomasa aclimatada.

Los ensayos de biodegradabilidad y toxicidad sobre fango activo suelen basarse en el análisis de mecanismos microbianos como el metabolismo. El efecto de una sustancia inhibitoria suele expresarse como una acción represiva sobre el metabolismo de la biomasa. Asimismo, si una sustancia presenta biodegradabilidad, puede observarse un aumento en la actividad metabólica

microbiana. En el caso de un fango activo aerobio, ambos fenómenos quedan reflejados en el consumo de oxígeno por parte de los microorganismos, variable que puede analizarse fácilmente mediante respirometría.

1.5. La respirometría

La respirometría consiste en la evaluación del consumo de oxígeno por parte de microorganismos que degradan un sustrato orgánico. Esta técnica se basa en la relación directa que existe entre el crecimiento de biomasa, degradación de sustrato y consumo de oxígeno (Gaudy et al. 1988, Smets et al. 1996), y resulta de gran utilidad para el estudio y control de procesos con fango activo.

La variable más común de medida de la respiración bacteriana es la velocidad de consumo de oxígeno (VCO), que se obtiene a partir de la disminución de la concentración de oxígeno disuelto con el tiempo. A partir de los valores de VCO y concentración de biomasa como sólidos en suspensión volátiles (SSV), puede determinarse la **velocidad específica de consumo de oxígeno (VECO)**. En ausencia de sustrato externo, la VECO se denomina **endógena**, y es indicativa de la concentración de biomasa activa. La presencia de una fuente de carbono externa resulta en un aumento de la VECO y en crecimiento de la biomasa. Esta nueva velocidad de consumo de oxígeno engloba la respiración endógena y **exógena** y es función de la concentración de materia orgánica biodegradable. Si ésta es lo suficientemente elevada y no existe inhibición, la velocidad de consumo de oxígeno alcanzará un valor máximo, conocido como **VECO_{max}**.

La VECO es, por tanto, una expresión visual y directa de la actividad de la biomasa, por lo que la respirometría tiene aplicaciones tanto en el campo de la **cinética** de los procesos de tratamiento biológico de aguas contaminadas como en el estudio de la **toxicidad** y **biodegradabilidad** de los influentes introducidos al reactor. En concreto, la respirometría se ha empleado en las siguientes áreas:

- Determinación de la influencia tóxica y el poder inhibitorio de algunos vertidos sobre las poblaciones microbiológicas en plantas de tratamiento de

- aguas residuales (Ren 2004, Ricco et al. 2004, Batista et al. 2005, Suarez-Ojeda et al. 2007).
- Análisis de las características de biodegradación de compuestos químicos específicos (Tomei et al. 2003).
 - Evaluación de la efectividad de la degradación biológica de altas concentraciones de fenol en un SBR (Yoong et al. 2000).
 - Estudio de la cinética de degradación biológica de fangos activos (Goi et al. 2006, Pramparo et al. 2012).
 - Evaluación de la influencia de la temperatura en la cinética de biodegradación de un efluente industrial (Tremier et al. 2005).
 - Análisis de la influencia del pH sobre la cinética de degradación biológica aerobia de p-nitrofenol (Carrera et al. 2011).
 - Cálculo de los parámetros cinéticos de las reacciones de biodegradación para el control de biorreactores aerobios en el tratamiento de aguas residuales industriales (Moreno et al. 1998).
 - Control de la puesta en marcha de reactores biológicos aerobios para el tratamiento de aguas residuales con un elevado contenido en amonio (Jubany et al. 2008).
 - Estudio de la biodegradabilidad y cinética de biodegradación de contaminantes orgánicos en suelos para su biorremediación *in situ* (Tabak et al. 1997, Fiuza et al. 2005).
 - Medida de la actividad de bacterias nitrificantes (Jubany et al. 2005).
 - Seguimiento de la estabilidad en procesos de compostaje (Dios et al. 2009, Sanchez Arias et al. 2012).
 - Caracterización de la composición orgánica de efluentes industriales (Tremier et al. 2005).
 - Estudio de los procesos de degradación aerobia de compuestos carbonados y su almacenamiento por parte de los microorganismos (Pratt et al. 2004).
 - Estudio de la viabilidad del tratamiento acoplado de sistemas biológicos con procesos de oxidación química (Suarez-Ojeda et al. 2007, Ballesteros-Martin et al. 2010).

Existen diferentes tipos de respirómetro según la clasificación establecida por la IWA (*International Water Association*) en función de tres parámetros, que se designan mediante tres letras. La primera indica la fase en la que se realiza la medida de oxígeno (Gas o Líquido). Las otras dos letras indican la introducción en continuo (F) o de manera estática (S) del gas o la fase líquida, respectivamente.

En un respirómetro continuo (GFS) se mide caudal y concentración de oxígeno en el aire a la entrada y salida, determinando por diferencia el consumo de oxígeno. En un respirómetro discontinuo (LSS), el aporte de oxígeno depende de dos valores, máximo y mínimo, de concentración de oxígeno en el medio de reacción. Habitualmente, se inyecta aire hasta alcanzar el valor máximo, analizándose la disminución de la concentración de oxígeno en el medio de reacción hasta llegar al valor mínimo, a partir del cual vuelve a comenzar la aereación. Por último, el respirómetro manométrico o de Warburg (GSS) determina la VECO a partir de la disminución de presión en el recipiente donde se lleva a cabo la respirometría, a temperatura y volumen constante.

Un sistema respirométrico permite obtener datos de gran calidad con un input de esfuerzo experimental y analítico relativamente pequeño. Su principal ventaja, además de su sencillez y robustez operacional, es que aporta gran información para la caracterización del proceso de degradación biológica. Sin embargo, para la validación del método respirométrico es necesario que las condiciones ambientales (temperatura, mezcla, etc.) sean constantes y tan homogéneas como sea posible, ya que afectan directamente a la velocidad de consumo de sustrato.

1.6. Objetivos y alcance del trabajo

La presencia de **contaminantes emergentes** en las aguas residuales constituye un problema cuya relevancia se ha puesto de manifiesto de manera reciente, ya que bajo esta denominación se engloba una infinidad de compuestos de uso común y ampliamente extendido, cuyo efecto sobre el ser humano y el medio natural aún no es del todo conocido. En este sentido, resulta necesario el desarrollo de

tratamientos eficaces para su eliminación, que deben diseñarse teniendo en cuenta las condiciones en las que estas sustancias se encuentran en las aguas residuales.

Las aguas residuales producidas en el lavado de tanques de fabricación y envases de **pesticidas** contienen elevadas concentraciones de estos compuestos, generalmente cercanas a su límite de solubilidad en agua. Estos efluentes suponen una seria amenaza para el medio ambiente, y deben tratarse mediante sistemas avanzados antes de descargarse a cauce ([Directiva 91/271/CEE](#)), o bien al influente de una EDAR, de acuerdo con la [Ley 10/1993](#) de la Comunidad de Madrid. Entre las diferentes estrategias que pueden emplearse para el tratamiento de estos compuestos, se encuentra la aclimatación de biomasa para su eliminación mediante sistemas biológicos ([Chong et al. 2007](#), [Stasinakis et al. 2009](#)), o bien el acoplamiento de procesos de oxidación avanzada y biológicos ([Mantzavinos et al. 2004](#), [Oller et al. 2011](#)).

Los **fármacos** y sus metabolitos se liberan a la red de alcantarillado urbano, con lo que las depuradoras reciben una gran cantidad de materia orgánica biodegradable en presencia de trazas de estos compuestos, que suelen ser recalcitrantes a los tratamientos convencionales de fangos activos. La completa eliminación de este tipo de contaminantes requiere una mejora sustancial de la eficacia del proceso biológico. Una posibilidad para su eliminación puede ser la aplicación de un tratamiento terciario mediante oxidación química antes de verter a cauce ([Ternes et al. 2003](#), [Rosal et al. 2010](#)).

Existen otros contaminantes, entre los que destacan **fenoles** y **clorofenoles**, que se han estudiado en mayor profundidad debido a su extendida presencia en las aguas residuales. En este sentido, se han desarrollado métodos eficaces para su eliminación, empleando tanto procesos químicos de oxidación ([Pera-Titus et al. 2004](#)) o reducción catalítica ([Hoke et al. 1992](#)) como sistemas biológicos ([Moreno-Andrade et al. 2004](#), [Monsalvo et al. 2009](#), [Tobajas et al. 2012](#)). Dadas las limitaciones económicas de los tratamientos químicos, la utilización de reactores biológicos para la degradación de estos compuestos resulta de gran interés. Sin embargo, al tratarse de compuestos con baja biodegradabilidad, es esencial el

empleo de biomasa aclimatada, así como llevar a cabo el tratamiento en condiciones que favorezcan el proceso biológico.

El objetivo del presente trabajo es el estudio de diferentes tratamientos para la eliminación de una serie de contaminantes presentes en las aguas residuales, tanto de origen industrial (compuestos fenólicos y herbicidas) como urbano (fármacos). La evaluación de la toxicidad y biodegradabilidad de los compuestos estudiados permitirá determinar si pueden eliminarse a través de un proceso biológico empleando fango activo aclimatado, o si es necesario llevar a cabo un tratamiento previo mediante oxidación química. Este objetivo principal se particulariza en los siguientes objetivos concretos:

- Estudio de la viabilidad de emplear tratamientos biológicos para la eliminación de compuestos fenólicos y contaminantes emergentes (herbicidas y fármacos). El análisis comprenderá la evaluación del **efecto inhibitorio**, determinando la EC_{50} de los compuestos estudiados mediante medidas respirométricas utilizando fango activo no aclimatado, y de su **biodegradabilidad** a través de ensayos respirométricos (biodegradabilidad rápida) y el test Zahn-Wellens (biodegradabilidad inherente).
- Estudio de la **cinética** de degradación biológica de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona a diferentes temperaturas para un fango activo aclimatado, determinando los parámetros cinéticos mediante el empleo de técnicas respirométricas, así como la concentración máxima a tratar para evitar la aparición de efectos inhibitorios en la biomasa.
- Evaluación de la **degradación biológica** de herbicidas (diurón, atrazina, 2,4-D y MCPA) empleando reactores avanzados como los reactores secuenciales discontinuos (SBR) y los reactores biológicos secuenciales de membrana (SB-MBR).
- Aplicación de la **oxidación Fenton** en combinación con sistemas biológicos avanzados para la eliminación de compuestos emergentes (herbicidas y fármacos). Se optimizará la dosificación de reactivo Fenton, analizando los

intermedios principales de oxidación química, así como la toxicidad y biodegradabilidad de los efluentes obtenidos, que se someterán a **tratamiento biológico** empleando un SBR.

- Tratamiento de **aguas residuales** procedentes de la fabricación de productos fitosanitarios mediante el acoplamiento de un proceso de adsorción con bentonita y un sistema biológico avanzado (SBR). Se evaluará la composición, toxicidad y biodegradabilidad de los efluentes resultantes del proceso de adsorción y se determinará la viabilidad del tratamiento combinado.

Biodegradabilidad
Diurón
Inhibición
MCPA
Atenolol
Fenol
Biodegradabilidad
Inherente
Rápida
Alacloro
Eco toxicidad
Respirometro
Hexanona
Ciclohexanol
4-D
Cafeína
Clorofenoles
Atrazina

II. Determinación del efecto inhibitorio y la biodegradabilidad de compuestos xenobióticos

I'm addicted to you
Don't you know that you're toxic
And I love what you do
Don't you know that you're toxic

TOXIC (Britney Spears)

II. Determinación del efecto inhibitorio y la biodegradabilidad de compuestos xenobióticos

2.1. Introducción

La Directiva de tratamiento de aguas residuales urbanas ([Directiva 91/271/CEE](#)) permite la descarga de efluentes industriales que cumplan determinadas condiciones dentro del sistema integral de saneamiento, por lo que las plantas de tratamiento de aguas residuales suelen recibir influentes complejos en los cuales coexisten compuestos recalcitrantes y biogénicos. La presencia de determinados compuestos en el influente de un sistema biológico puede inhibir la actividad del fango activo, disminuyendo la eficiencia del tratamiento e incluso paralizando el proceso ([Meric et al. 2003](#), [Tamer et al. 2006](#)). En este sentido, resulta necesario conocer cómo afecta la presencia y concentración de ciertos compuestos en la eliminación de la materia orgánica biodegradable que recibe una planta de tratamiento biológico de aguas residuales.

El efecto de una sustancia tóxica sobre la degradación biológica en sistemas de fangos activos suele expresarse como una acción represiva sobre diferentes mecanismos microbianos, pudiendo afectar a la reproducción, crecimiento y funciones metabólicas, llegando incluso a causar un daño irreparable en la biomasa. La medida de la **toxicidad** suele expresarse en términos de EC_{50} , definida como la concentración de compuesto capaz de generar el 50% de efecto tóxico sobre un determinado organismo. Existen una serie de bioensayos para determinar la toxicidad de compuestos químicos sobre diferentes tipos de

microorganismos, como el test de inhibición del crecimiento de *Pseudomonas* (ISO 10712 1995) o fango activo (ISO 15522 1995), inhibición de enzimas (McNicholl et al. 2007), luminiscencia ligada al ATP (Dalzell et al. 2002b), tests de toxicidad aguda (*Daphnia magna* y *Vibrio fischeri*) o ensayos de inhibición de consumo de oxígeno (OECD 209 1984, ISO 8192 1986). Uno de los más usados, debido a su elevada sensibilidad, repetitividad y precisión es el test Microtox® (Dalzell et al. 2002a), que determina la toxicidad a partir de la reducción de la bioluminiscencia de la bacteria marina *Vibrio fischeri*. Sin embargo, el valor de EC₅₀ establecido mediante este método no tiene relevancia real en términos del efecto que pueda tener un compuesto sobre la biomasa de un sistema biológico en una planta de tratamiento de aguas. Para conocer este efecto, la toxicidad debería determinarse a través de la **inhibición** de la biomasa del reactor biológico (Rizzo 2011), mediante el análisis de la velocidad de crecimiento, degradación de sustrato o, en un sistema aerobio, consumo de oxígeno mediante técnicas respirométricas, ya que las tres variables están directamente relacionadas (Gaudy et al. 1988, Grady et al. 1999, Smets et al. 1996).

La valoración del impacto potencial de un compuesto en un reactor biológico debe incluir no sólo el estudio de la inhibición de la actividad de la biomasa, sino también la evaluación de la **biodegradabilidad**, ya que una baja toxicidad no tiene porqué conllevar una elevada biodegradabilidad (Oller et al. 2007, Lapertot et al. 2008) y la acumulación de compuestos no biodegradables puede provocar la desestabilización del reactor biológico. La OECD ha publicado una serie de tests de biodegradabilidad estandarizados, basados en la evolución de parámetros globales como demanda química de oxígeno (DQO), carbono orgánico total (COT) y demanda biológica de oxígeno (DBO). Pueden distinguirse tres tipos de test en función del objetivo para el cual se han diseñado: tests de biodegradabilidad inmediata (OECD 301 1993), test Zahn Wellens de biodegradabilidad inherente (OECD 302 B 1992) y tests de simulación (OECD 303 1993). Tanto los ensayos de biodegradabilidad inmediata como el de biodegradabilidad inherente tienen una duración de 28 días, difiriendo en la concentración de inóculo empleada (Pagga 1997). Los tests de biodegradabilidad inmediata son más restrictivos, ya que utilizan una menor relación biomasa/sustrato (Reuschenbach et al. 2003), al ser

empleados normalmente para predecir el riesgo potencial de un compuesto químico en el cauce receptor. El test Zahn Wellens de biodegradabilidad inherente es menos restrictivo, ya que su objetivo es determinar la posibilidad de aclimatación de un fango activo a un compuesto determinado de manera que su eliminación pueda llevarse cabo mediante procesos biológicos (Pagga 1997). Sin embargo, este tipo de test no resulta útil a la hora de predecir el comportamiento en una planta de tratamiento biológico, ya que conlleva demasiado tiempo, al igual que los tests de simulación, que se llevan a cabo en régimen continuo normalmente durante 12 semanas, con el objetivo de estudiar la capacidad de biodegradación de biomasa aclimatada.

En el presente capítulo se pretende estudiar el efecto inhibitorio y la biodegradabilidad de diversos grupos de contaminantes, clorofenoles y algunos de sus productos de degradación, por considerarse compuestos modelo, y contaminantes emergentes, que se han estudiado en menor medida ya que su potencial peligrosidad se ha descubierto de manera reciente. Los **clorofenoles** son conocidos por su toxicidad y persistencia en el medio ambiente, que suele aumentar con el número de sustituciones cloradas de la molécula. El tratamiento de estos compuestos suele conducir a la obtención de compuestos menos inhibitorios al eliminar átomos de cloro de la molécula original. Así, el tratamiento de fenoles policlorados mediante hidrodecloración catalítica suele generar efluentes con diferentes concentraciones de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona. Hoke et al. (1992) llevaron a cabo un estudio sobre la hidrodecloración de diferentes clorofenoles utilizando hidrógeno como agente reductor y catalizadores de Pd soportado en carbón activo, obteniendo elevadas conversiones a fenol bajo condiciones suaves de presión y temperatura. El empleo de catalizadores de Pd sobre carbón activo (Calvo et al. 2006) y Pd, Pt y Rh sobre alúmina (Diaz et al. 2008) para el tratamiento de 4-clorofenol mediante hidrodecloración permitió obtener diferente selectividad a fenol, ciclohexanona y ciclohexanol en función del catalizador utilizado.

Los procesos de oxidación química de fenol y clorofenoles pueden generar intermedios de reacción en diferentes estados de oxidación, lo cual implica la obtención de efluentes con una mayor o menor toxicidad. Hidroquinona y p-

benzoquinona, que aparecen como productos de la oxidación incompleta de 4-clorofenol (Munoz et al. 2011) y fenol (Zazo et al. 2005) utilizando reactivo Fenton o bien mediante procesos de oxidación húmeda (WAO) (Suarez-Ojeda et al. 2008), son intermedios con un particular interés ambiental ya que su toxicidad es significativamente mayor que la del compuesto de partida. El catecol, que aparece tanto en los efluentes tratados empleando reactivo Fenton (Zazo et al. 2005) como por WAO (Suarez-Ojeda et al. 2008) y oxidación electroquímica (Iniesta et al. 2001), resulta más inocuo.

Entre los compuestos emergentes, los **fármacos** han suscitado gran interés por sus posibles efectos sobre los seres vivos y porque se vierten continuamente al sistema de alcantarillado a través de la orina y las heces, siendo en su mayoría no biodegradables, por lo que no pueden eliminarse de manera efectiva mediante los procesos biológicos convencionales utilizados normalmente en las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR). La cafeína, un conocido estimulante, se ha detectado en diversas corrientes acuosas en concentraciones de hasta 23 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Ternes et al. 2001, Heberer 2002) y es uno de los contaminantes emergentes con mayor presencia en las aguas residuales urbanas (Wilcox et al. 2009). El atenolol, un medicamento utilizado como betabloqueante para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, también es uno de los fármacos más detectados en las aguas residuales, apareciendo en concentraciones variables de 10 hasta 730 ng L^{-1} (Klavarioti et al. 2009).

Los **herbicidas** utilizados comúnmente en la agricultura pueden alcanzar el medio acuático a través de diferentes rutas, incluyendo vertidos de los campos de cultivo, lixiviación, almacenamiento incontrolado de contenedores o lavado de envases y equipos. Alacloro, atrazina y diurón se encuentran dentro de la lista de sustancias prioritarias de la UE (Directiva 2008/105/CE), por lo que su uso está siendo reemplazado por otros compuestos, como clorofenoxi-herbicidas, entre los cuales el MCPA y el 2,4-D son los más representativos, a pesar de su potencial toxicidad hacia humanos y animales (Hoar et al. 1986).

Los métodos utilizados normalmente para la eliminación de este tipo de compuestos se basan principalmente en procesos de oxidación, tal y como se

recoge en los trabajos de Pera-Titus et al. (2004) para clorofenoles, Chiron et al. (2000) para pesticidas y Klavarioti et al. (2009) para fármacos. Sin embargo, estos tratamientos suelen llevar asociado un alto coste, por lo que determinados autores han empleado procesos biológicos para su eliminación. Las estrategias a seguir son variadas, desde la bioaugmentación con cepas especialistas como *Rhodococcus rhodochrous* y *Acinetobacter junii* para la eliminación de atrazina (Feakin et al. 1995b, Quan et al. 2004), al empleo de reactores de alta eficacia a través de la introducción de módulos de membrana en el tratamiento biológico en EDAR (Abegglen et al. 2009). Una de las estrategias más exitosas en el tratamiento biológico de xenobióticos es la aclimatación de la biomasa, como demuestran los trabajos de Buitron et al. (1998) para compuestos fenólicos y de Mangat et al. (1999), Gonzalez et al. (2006) y Celis et al. (2008) para la eliminación de 2,4-D y otros herbicidas.

En el presente capítulo se estudia el efecto inhibitorio y la biodegradabilidad de diferentes grupos de contaminantes empleando métodos respirométricos con el objetivo de evaluar el efecto que tendrían sobre el sistema biológico de una EDAR. Se propone un procedimiento de evaluación de biodegradabilidad rápida, en el que se emplea fango activo como organismo diana, en una relación biomasa/sustrato cercana a la carga másica que suele recibir un reactor biológico, adaptando el tiempo de ensayo al tiempo de retención hidráulico habitual en este tipo de tratamiento. Los procedimientos desarrollados en el presente trabajo pretenden determinar la viabilidad del empleo de sistemas biológicos convencionales para la eliminación de compuestos rápidamente biodegradables o técnicas de aclimatación de biomasa para el tratamiento de compuestos con biodegradabilidad inherente.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Reactor secuencial discontinuo

El mantenimiento de la biomasa utilizada como inóculo en los ensayos de inhibición y biodegradabilidad se llevó a cabo empleando un reactor de sección

rectangular con fondo inclinado de 15 L construido en polimetacrilato de metilo, aereado mediante compresores y difusores cerámicos, agitado mecánicamente mediante rotores tipo hélice y equipado con toma de muestras y llave inferior de purga de lodos. La alimentación y extracción de influente y efluente del reactor, así como la adición de NaOH (12 M) para controlar el pH, se realizó mediante bombas peristálticas (Seko PR4). Se trabajó a temperatura ambiente, con un tiempo de retención hidráulico (t_{RH}) de 5 d y un tiempo de retención celular (t_{RC}) de 20 d. La concentración de biomasa se mantuvo entre 3 y 4 g SSV L⁻¹.

El SBR se programó en ciclos de 12 h, con las siguientes cuatro etapas: llenado anóxico (1 h), reacción aerobia (9,5 h), decantación (1 h) y vaciado (0,5 h). El reactor operó ininterrumpidamente llevando a cabo cíclicamente las etapas establecidas gracias a la automatización de los diferentes componentes mediante el empleo de programadores con temporizador (Bricolux).

La disolución alimentada al reactor de mantenimiento de biomasa contenía acetato sódico y glucosa como fuentes de carbono en relación 1:1 de DQO teórica (calculada conforme a lo establecido en el Anexo IV del método OECD 301 (1993)), junto con una fuente de nitrógeno, fósforo y otros micronutrientes necesarios para llevar a cabo eficientemente el proceso biológico de degradación. Se estableció una relación óptima en términos de DQO:N:P:micronutrientes de 100:5:1:0,05. En la Tabla 2.1 se recoge la composición en nutrientes del influente alimentado.

Tabla 2.1. Composición en nutrientes del influente del SBR.

Compuesto	Concentración en influente
Sulfato amónico	100:5 (DQO:N)
Ácido fosfórico, 85%	100:1 (DQO:P)
Cloruro de hierro (III) 6-hidrato	
Cloruro cálcico anhidro	100:0,05 (DQO:cación)
Cloruro potásico	
Sulfato magnésico	
pH	7-8

2.2.2. Inóculo

El inóculo empleado en el SBR se tomó del reactor biológico de fangos activos de una planta de tratamiento de aguas residuales urbanas.

2.2.3. Respirómetro

Los ensayos de inhibición de biomasa y biodegradabilidad rápida se llevaron a cabo utilizando un respirómetro discontinuo de medida en fase líquida (LSS) (Chica et al. 2007). El aporte de aire en el sistema depende de dos valores, máximo y mínimo, de concentración de oxígeno disuelto en el medio de reacción, que deben establecerse lo suficientemente elevados para impedir limitación de oxígeno en el mismo. Se inyecta aire hasta llegar al valor máximo, y una vez alcanzado, se detiene la aereación y se registra la disminución de la concentración de oxígeno disuelto debida al metabolismo microbiano, hasta llegar al valor mínimo, a partir del cual comienza de nuevo la aereación en un proceso cíclico (Figura 2.1).

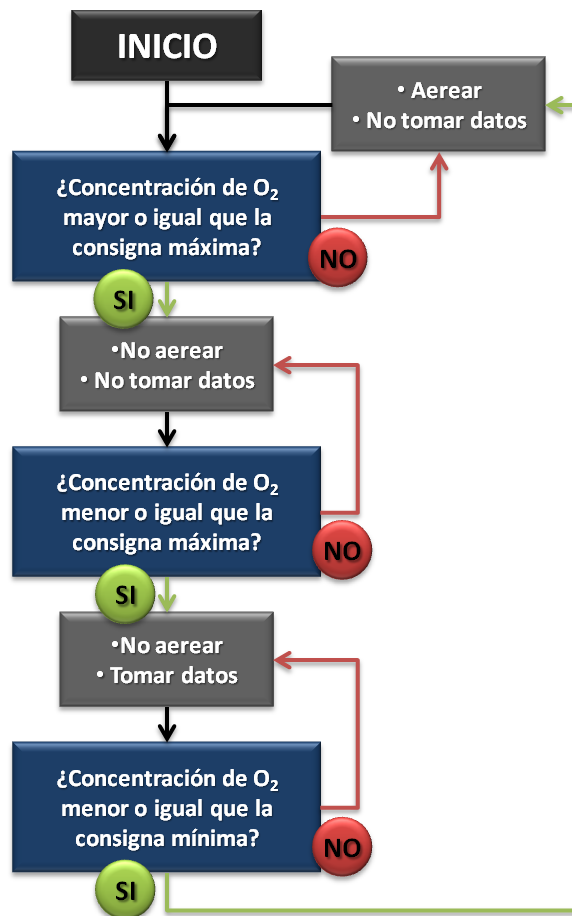


Fig. 2.1. Diagrama de flujo básico del funcionamiento del respirómetro (Fuente: Dios 2008).

La disminución de oxígeno disuelto en el tiempo por unidad de biomasa determina la velocidad específica de consumo de oxígeno (VECO), de acuerdo con la ecuación 2.1.

$$VECO = -\frac{1}{SSV} \cdot \frac{dO_2}{dt} \quad (2.1)$$

El respirómetro utilizado consta de dos reactores independientes para operar de manera simultánea y garantizar la reproducibilidad de los resultados a través de ensayos por duplicado (Figura 2.2), realizados a temperatura fija y constante empleando un baño termostatzado. Los recipientes de reacción de vidrio de 1 L se encuentran cerrados herméticamente para poder descartar la transferencia de oxígeno del aire a la fase líquida, conteniendo en su interior las sondas de oxígeno y las conducciones de aire, ambas controladas mediante una interfase que registra la concentración de oxígeno a tiempo real, y un agitador magnético para homogeneizar el medio de reacción.



Fig. 2.2. Imagen del respirómetro.

2.2.4. Ensayos de inhibición

La inhibición del fango activo se determinó de acuerdo con el método OECD 209 (1984) y la modificación propuesta por Ricco et al. (2004), que evalúa la actividad de un fango no aclimatado (en términos de VECO) en contacto con un sustrato de referencia (acetato sódico) y en ausencia o presencia de diferentes concentraciones del compuesto a evaluar. El intervalo de concentraciones

estudiado varió para cada compuesto, en función de su efecto inhibitorio sobre el fango y su solubilidad. Los ensayos se llevaron a cabo a una temperatura controlada de 25°C y utilizando una concentración de biomasa de 350 mg SSV L⁻¹. La cantidad de biomasa se optimizó para evitar problemas de limitación de oxígeno.

El ensayo comienza con el registro del valor de VECO endógena de los microorganismos en ausencia de sustrato. La adición de una disolución de acetato sódico (100 mg DQO L⁻¹) provoca un aumento en la actividad de la biomasa, obteniéndose por corrección, teniendo en cuenta la respiración endógena, la velocidad exógena de consumo de oxígeno debida a la degradación del sustrato de referencia (**VECO_{exR}**). El experimento se repite añadiendo a la disolución de acetato concentraciones crecientes del compuesto a evaluar, obteniéndose un valor de VECO debida a la degradación del sustrato de referencia para cada concentración de tóxico (**VECO_{exT}**). La relación entre VECO_{exT} y VECO_{exR} permite determinar la inhibición de la biomasa para cada concentración de compuesto estudiada.

El proceso de nitrificación se inhibió mediante la adición de N-aliltiourea en concentración de 0,5 mg L⁻¹. Se determinó la concentración del compuesto al final de cada experimento para descartar la degradación biológica del mismo, asegurando de esta forma que el consumo de oxígeno sólo se debe a la degradación del sustrato de referencia. Además, en cada ensayo se renovó el fango para evitar una aclimatación parcial de los microorganismos al compuesto a evaluar, con la posible subestimación de los efectos tóxicos.

La inhibición se estimó en términos de **EC₅₀**, definida como la concentración de tóxico capaz de causar un 50% de reducción de la VECO_{exR}. El valor de la EC₅₀ se calculó empleando dos procedimientos matemáticos. El primero define el porcentaje de inhibición a partir de la relación establecida entre VECO_{exR} y VECO_{exT} mediante la ecuación 2.2. La representación gráfica de los valores del porcentaje de inhibición obtenidos a partir de los datos respirométricos frente al logaritmo neperiano de la concentración del compuesto a evaluar permite obtener el valor de la EC₅₀ mediante el ajuste de datos a un modelo logístico (Ricco et al. 2004),

definido por la ecuación 2.3, donde ω es un parámetro de ajuste sin sentido biológico.

$$\text{Inhibición (\%)} = \left(1 - \frac{VECO_{exT}}{VECO_{exR}}\right) \cdot 100 \quad (2.2)$$

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{100}{1 + e^{-\omega(\ln C - \ln EC_{50})}} \quad (2.3)$$

El método anterior requiere conocer la concentración de compuesto que ejerce un 100% de inhibición para poder calcular el valor de la EC_{50} , lo cual resulta imposible para ciertos compuestos, en los que a concentraciones próximas al límite de solubilidad no se observa inhibición total de la biomasa. Así, se empleó un método matemático basado en el procedimiento de cálculo habitualmente utilizado en el ensayo Microtox[®], en el que se definió un nuevo parámetro (γ), cuyo valor se obtiene a partir de los datos respirométricos de acuerdo con la ecuación 2.4.

$$\gamma = \frac{VECO_{exR}}{VECO_{exT}} - 1 \quad (2.4)$$

La representación gráfica del logaritmo neperiano de γ frente al logaritmo neperiano de la concentración de tóxico permite realizar un ajuste lineal de los datos, definido por la ecuación 2.5.

$$\text{Ln}\gamma = \alpha + \beta \cdot \text{Ln}C \quad (2.5)$$

Cuando la concentración de tóxico es igual a la EC_{50} , el valor de $VECO_{exT}$ es la mitad de la $VECO_{exR}$, y el parámetro γ toma el valor de 1. De esta forma, puede obtenerse la EC_{50} a partir de la pendiente de la recta de ajuste (β) y la ordenada en el origen (α) (ecuación 2.6):

$$EC_{50} = e^{-\left(\frac{\alpha}{\beta}\right)} \quad (2.6)$$

La validez del modelo propuesto se evaluó comparando los resultados obtenidos mediante los dos procedimientos de cálculo y se determinó la EC_{50} de un compuesto control, el 3,5-diclorofenol, comparándose su valor con el establecido en el test de inhibición de fango activo de la OECD (OECD 209 1984).

2.2.5. Ensayos de ecotoxicidad

La ecotoxicidad se determinó siguiendo el test Microtox® de toxicidad aguda (ISO 11348-3 1998), utilizando el analizador Microtox® M-500 de SDI. Este método calcula el efecto tóxico a través de la disminución de la emisión de luz de la bacteria marina *Vibrio fischeri* tras 5 y 15 min de incubación a 15°C. Los resultados se expresan en términos de EC₅₀, definida como la concentración de tóxico que causa un 50% de reducción de la bioluminiscencia.

2.2.6. Ensayos de biodegradabilidad rápida

La biodegradabilidad se determinó a partir del desarrollo de un procedimiento respirométrico basado en el empleo de condiciones de operación próximas a las utilizadas en los procesos de fangos activos, con la finalidad de determinar si el compuesto objeto de estudio podría eliminarse mediante un sistema biológico convencional. Una disolución de la sustancia test preparada en medio mineral (APHA 1992) y tampón fosfato se pone en contacto con el fango activo durante 24-48 h a una temperatura de 25°C. La concentración de compuesto utilizada debe ser menor a la EC₅₀ determinada previamente en los ensayos de inhibición, mientras que la concentración de biomasa se fijó en 350 mg L⁻¹, manteniendo una relación biomasa/sustrato en el intervalo de 50:1 a 100:1 mg⁻¹ SSV mg⁻¹ COT, mucho mayor que la empleada en los métodos estandarizados de biodegradabilidad (OECD 301 1993). La biodegradabilidad se determinó a partir de la evolución de la concentración del compuesto a evaluar, la eliminación de COT y el perfil de VECO obtenido a lo largo del experimento.

2.2.7. Ensayos de biodegradabilidad inherente

La biodegradabilidad inherente se evaluó mediante el test Zahn Wellens (OECD 302 B 1992), que consiste en la determinación de la evolución de la concentración de la sustancia objeto de estudio y el COT en una mezcla acuosa del compuesto, nutrientes y una cierta cantidad de fango activo no aclimatado. La concentración inicial del compuesto a evaluar debe ser menor a la EC₅₀ para evitar problemas de inhibición de la biomasa. El sistema se mantiene en aereación y agitación continua a temperatura ambiente y en oscuridad durante 28 días, debiéndose tomar una

muestra 3 h después de la adición de la sustancia test para estimar la posible adsorción por parte del fango activo, al menos en 4 ocasiones en el intervalo entre el inicio del ensayo y el día 27, y en el penúltimo y último día.

Los ensayos se llevaron a cabo por duplicado, añadiendo la cantidad apropiada de sustancia a evaluar e inóculo para lograr una relación biomasa/sustrato de 4/1 mg SSV mg⁻¹ COT y enrasando a un volumen final de 2 L con medio mineral, compuesto de tampón fosfato y CaCl₂, MgSO₄·7H₂O y FeCl₃·6H₂O en concentración de 27,5, 22,5 y 0,25 mg L⁻¹, respectivamente. Para obtener información sobre la degradación abiótica del compuesto, se preparó una solución estéril sin inóculo, añadiendo sólo la sustancia test en medio mineral. Paralelamente, se preparó un ensayo en blanco conteniendo sólo fango activo y medio mineral, y un ensayo control utilizando etilenglicol como compuesto de referencia en lugar de la sustancia test.

Los resultados se analizaron calculando el porcentaje de biodegradación tanto de sustrato como de COT (según la ecuación 2.7), representándose los valores obtenidos frente al tiempo para obtener la curva de biodegradación.

$$\text{Biodegradación (\%)} = \left(1 - \frac{C_t - C_{ab}}{C_{t0} - C_{ab0}}\right) \cdot 100 \quad (2.7)$$

Donde C_t la concentración media del compuesto a evaluar observada en los ensayos realizados con inóculo C_{ab} es la concentración en el ensayo abiótico y el subíndice "0" se refiere a los valores al inicio del test.

2.2.8. Compuestos químicos

En el estudio se seleccionaron los siguientes compuestos: 4-clorofenol (4CP), 4-clorocatecol (4CC), 2,4-diclorofenol (24DCP), 3,5-diclorofenol (35DCP), 2,4,6-triclorofenol (246TCP) y pentaclorofenol (PCP) como cloroaromáticos representativos; y fenol, catecol, hidroquinona (HQ), p-benzoquinona (BQ), ciclohexanol (C-OL) y ciclohexanona (C-ONA) como derivados procedentes de la oxidación e hidrogenación de fenol o clorofenoles. Como herbicidas se seleccionaron 3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea (diurón), 2-cloro-2',6'-dietil-N-(metoximetil)acetanilida (alacloro), 2-cloro-4-etilamina-6-isopropilamina-1,3,5-

triazina (atrazina), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y ácido (4-cloro-2-metilfenoxi)acético (MCPA); y como fármacos (RS)-2-[4-[2-hidroxi-3-[1-metiletilamino]propoxi]fenil]etanamida (atenolol) y 1,3,7-trimetilxantina (cafeína). La Tabla 2.2 recoge la fórmula y estructura molecular de cada uno ellos.

Tabla 2.2. Fórmula química y estructura molecular de los compuestos estudiados.

	Fórmula	Estructura		Fórmula	Estructura
4CC	$C_6H_5ClO_2$		35DCP	$C_6H_4Cl_2O$	
4CP	C_6H_5ClO		246TCP	$C_6H_3Cl_3O$	
24DCP	$C_6H_4Cl_2O$		PCP	C_6HCl_5O	
Fenol	C_6H_6O		BQ	$C_6H_4O_2$	
Catecol	$C_6H_6O_2$		C-OL	$C_6H_{12}O$	
HQ	$C_6H_6O_2$		C-ONA	$C_6H_{10}O$	
Diurón	$C_9H_{10}Cl_2N_2O$		2,4-D	$C_8H_6Cl_2O_3$	
Alacloro	$C_{14}H_{20}ClNO_2$		MCPA	$C_9H_9ClO_3$	
Atrazina	$C_8H_{14}ClN_5$				
Atenolol	$C_{14}H_{22}N_2O_3$		Cafeína	$C_8H_{10}N_2O_4$	

2.2.9. Métodos analíticos

Las muestras procedentes de los diferentes ensayos se filtraron previamente a su análisis utilizando filtros de fibra de vidrio (Albet FV-C).

La concentración de carbono orgánico total (COT) se cuantificó mediante un equipo COT-Vcsh, de Shimadzu, que permite determinar la concentración de carbono total (CT) y carbono inorgánico (CI), calculando por diferencia el carbono orgánico total de la muestra analizada. La determinación de la DQO se llevó a cabo siguiendo el protocolo 5220A (APHA 1992). La biomasa se analizó gravimétricamente midiendo los sólidos en suspensión volátiles, de acuerdo con lo establecido en el método 2540E (APHA 1992), empleando una estufa (GALLENKAMP, Hotbox Oven with Fan, size 1) para el secado hasta peso constante.

La cuantificación de fenol, C-OL y C-ONA se llevó a cabo mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC/FID), empleando un equipo Varian GC3900 y una columna CP-Wax 52 CB de 30 m x 0,25 mm. El método de análisis se detalla en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3. Método utilizado para el análisis de fenol, C-OL y C-ONA mediante GC/FID.

INYECTOR	Split: 10	T: 150°C	Caudal gas portador (N ₂): 25 mL min ⁻¹	
COLUMNA	T (°C)	Rampa (°C min ⁻¹)	t _{mantenimiento} (min)	t _{total} (min)
	130			1
	146	4	1	6
	170	12	1	9
	210	12	1	13
DETECTOR	T: 300°C	Caudal (H ₂): 30 mL min ⁻¹	Caudal (aire): 300 mL min ⁻¹	

El resto de compuestos se cuantificaron mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) utilizando un equipo Varian que dispone de un muestreador automático Prostar 410, un módulo interfase Star 800, un módulo de bombeo Prostar 230 y un detector UV-visible Prostar 325. La Tabla 2.4 recoge los métodos y columnas empleados para la determinación de los diferentes grupos de compuestos.

Tabla 2.4. Columnas y métodos de cuantificación de los diferentes grupos de compuestos analizados mediante HPLC.

Columna	Fase móvil	Caudal (mL min ⁻¹)	λ (nm)
Clorofenoles, clorocatecol y catecol			
Varian Microsorb C18 (250 x 4,6 mm, 5μm)	Acetonitrilo:Agua (1:1, v/v)	1	280
HQ y BQ			
Varian Microsorb C18 (250 x 4,6 mm, 5μm)	Ácido acético (75 mM)	1	289
Herbicidas			
Teknokroma Mediterranea Sea18 (250 x 4,6 mm, 5μm)	Acetonitrilo:Agua 80-65% (15 min)* 65-25% (15 min)*	0,60	264 280 (alacoloro)
Fármacos			
Phenomenex Luna C18 (150 x 3,0 mm, 5μm)	Ácido fórmico (0,1%): Ácido fórmico (0,1%) + Acetonitrilo (5%) 90 - 0% (40 min)**	0,35	270

* Los porcentajes se refieren a la proporción de acetonitrilo.

** Los porcentajes se refieren a la proporción de ácido fórmico (0,1%).

2.3. Resultados y discusión

2.3.1. Estudio de inhibición de compuestos puros

Los ensayos respirométricos permitieron obtener los perfiles de caída de concentración de oxígeno para la degradación de acetato sódico de manera individual y en presencia de diferentes concentraciones de cada compuesto a evaluar. Los perfiles de concentración de oxígeno disuelto obtenidos para cada compuesto estudiado se recogen en el Anexo I. A modo de ejemplo, la Figura 2.3 muestra los resultados obtenidos para 35DCP, seleccionado como compuesto control siguiendo la recomendación del protocolo 209 de la OECD (1984). La comparación entre la curva de referencia y la respuesta en presencia de tóxico muestra una progresiva disminución de la velocidad de consumo de oxígeno al aumentar la concentración de 35DCP, tendencia que evidencia el efecto inhibitorio sobre la actividad de la biomasa.

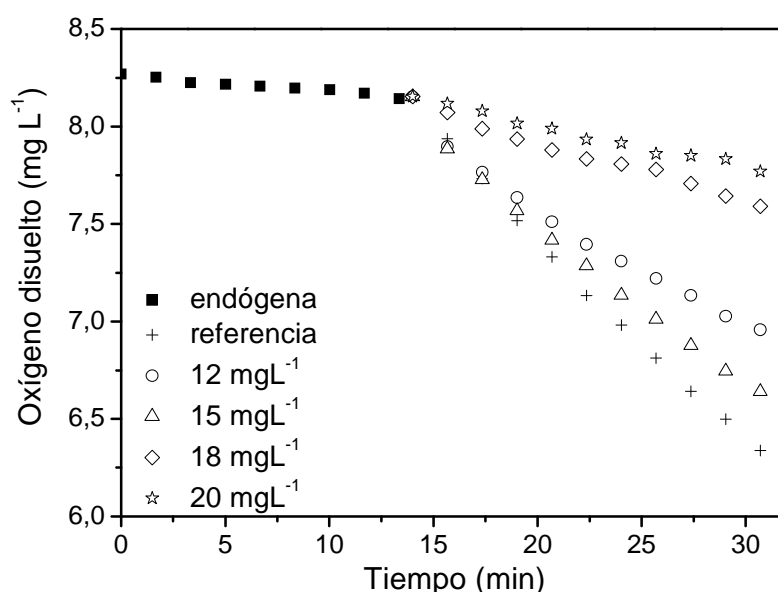


Fig. 2.3. Perfiles de concentración de oxígeno disuelto obtenidos para 35DCP.

La Figura 2.4 muestra la curva del ajuste logístico realizado a partir de la representación del porcentaje de inhibición frente al logaritmo neperiano de la concentración de 35DCP ($\ln C$) (Figura 2.4.a) y la correspondiente al ajuste lineal de los datos de \ln y frente a $\ln C$ (Figura 2.4.b). La curva de porcentajes de inhibición tiene forma de S, lo cual se corresponde con la distribución típica de la

respuesta de la respiración de los microorganismos a la variación de la concentración de tóxico (Ricco et al. 2004).

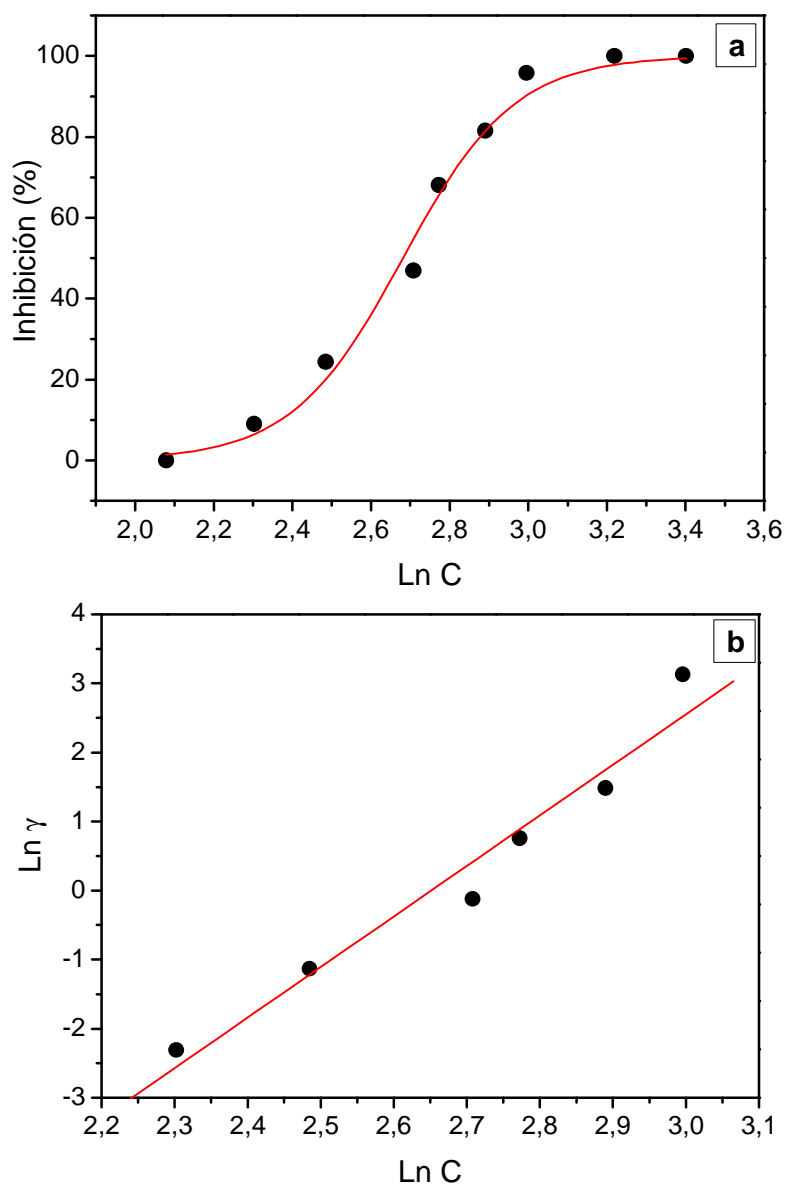


Fig. 2.4. Curvas de ajuste logístico (a) y lineal (b) obtenidas a partir de los valores de consumo de oxígeno hallados para 35DCP.

Los valores de EC_{50} obtenidos para los diferentes compuestos estudiados se muestran en la Tabla 2.5, así como el intervalo de concentraciones analizadas, en función de la solubilidad en agua a temperatura ambiente de cada sustancia y el efecto inhibitorio producido en la biomasa. Tanto la EC_{50} como los parámetros estadísticos obtenidos mediante ambos métodos de ajuste tomaron valores similares, lo que permitió validar el procedimiento desarrollado en el presente

estudio. El método de ajuste lineal no requiere una concentración de compuesto suficiente para conseguir un 100% de inhibición como valor límite superior, y puede llevarse a cabo empleando un menor número de datos. Este hecho resulta de gran utilidad en el estudio de la EC₅₀ de compuestos de reducida solubilidad o ligeramente inhibitorios, ya que los datos pueden ser extrapolados.

Tabla 2.5. Valores de EC₅₀ para hongos activos obtenidos a partir de las medidas respirométricas.

	Solubilidad (mg L ⁻¹)	Nº ensayos [concentr.] (mg L ⁻¹)	Ajuste Logístico		Ajuste Lineal	
			EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	R ²	EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	R ²
4CC	14000	8 [50-400]	118	0,957	111	0,999
4CP	27100	8 [25-500]	95,0	0,998	97,4	0,998
24DCP	4500	10 [5-330]	69,5	0,983	67,1	0,985
35DCP	2600	9 [8-30]	14,6	0,990	14,2	0,978
246TCP	800	9 [5-90]	27,9	0,828	30,5	0,984
PCP	14	7 [10-75]	21,1	0,956	21,3	0,982
Fenol	82800	9 [25-4000]	486	0,988	450	0,990
Catecol	461000	11 [100-4500]	718	0,977	711	0,985
BQ	11100	10 [0,02-0,5]	0,46	0,991	0,56	0,977
C-OL	42000	9 [400-20000]	4167	0,985	4243	0,976
C-ONA	25000	10 [500-1000]	1313	0,973	1377	0,941
Diurón	42	3 [10-35]	-	-	37,0	0,999
Alacloro	200	5 [15-200]	-	-	217	0,922
Atrazina	35	3 [5-35]	-	-	NI	-
2,4-D	350	8 [100-350]	208	0,969	213	0,982
MCPA	300	7 [5-275]	136	0,957	144	0,996
Atenolol	13300	5 [75-275]	150	0,973	145	0,971
Cafeína	21600	8 [25-500]	147	0,984	141	0,986

NI = No inhibitorio

Los valores de EC_{50} obtenidos para los clorofenoles permitieron verificar que un mayor número de átomos de cloro en la molécula se relaciona con una mayor inhibición. Ello es consecuencia de que el contenido en cloro aumenta la lipofilicidad, favoreciendo la penetración del compuesto en la membrana celular (Pera-Titus et al. 2004). Sin embargo, el 35DCP no sigue esta tendencia, resultando más inhibitorio que el 24DCP, el 246TCP e incluso que el PCP. Esto se debe a que el efecto de los clorofenoles sobre los microorganismos se ve reducido cuando el cloro ocupa las posiciones *orto*- frente a los sustituidos en *meta*- y *para*- (Liu et al. 1982), puesto que la presencia de cloro en posición *orto*- parece proteger el grupo fenol, que aparentemente interacciona con el sitio activo en organismos acuáticos (Grimwood et al. 1997). Esto ocurre no sólo en bacterias (Beltrame et al. 1984), sino también en zooplancton (*Daphnia magna*) y organismos superiores como las ratas (Pera-Titus et al. 2004).

El ensayo de inhibición por respirometría no pudo llevarse a cabo para la HQ, ya que la pendiente de caída de concentración de oxígeno no presentó linealidad (Figura 2.5). Durante los primeros minutos tras la adición de acetato sódico no se observó inhibición de la actividad microbiana, pero la VECO fue disminuyendo progresivamente hasta alcanzar un valor próximo a cero. La adición de la mezcla de HQ y acetato a la disolución de fango activo y tampón fosfato provocó su neutralización, ocasionando la transformación del compuesto analizado en BQ, lo cual aumentó significativamente la inhibición de la biomasa. La transformación de HQ en BQ se observó a través de un cambio en la coloración, de incoloro a amarillo en las etapas iniciales, debido a la formación de BQ, que contiene grupos cromóforos en el anillo bencénico. Posteriormente, la formación de quinhidronas, complejos orgánicos formados por HQ y BQ, otorgaron un color marrón oscuro a la disolución (Mijangos et al. 2006). Zazo et al. (2007) observaron este equilibrio químico dependiente del pH al neutralizar una disolución de HQ (50 mg L^{-1}) a pH 3 que no presentaba BQ, apareciendo, a pH de 6,5, una concentración de BQ de $5,2 \text{ mg L}^{-1}$. La elevada toxicidad de la BQ supone un riesgo a tener en cuenta en los procesos de oxidación de compuestos fenólicos, ya que una oxidación parcial de estas sustancias puede llevar a la aparición de HQ y BQ como intermedios, generando efluentes de toxicidad muy elevada (Santos et al. 2004, Zazo et al. 2007,

Suarez-Ojeda et al. 2010). La aparición de catecol en este tipo de muestras parece menos problemática, ya que resultó ser el menos inhibitorio para fango activo de los tres compuestos estudiados en el presente trabajo que pueden aparecer en los efluentes de oxidación de fenol. En cuanto a los intermedios de hidrogenación catalítica de dicho compuesto, se obtuvieron valores de EC_{50} tres y nueve veces superiores a la del fenol en el caso de C-ONA y C-OL, respectivamente.

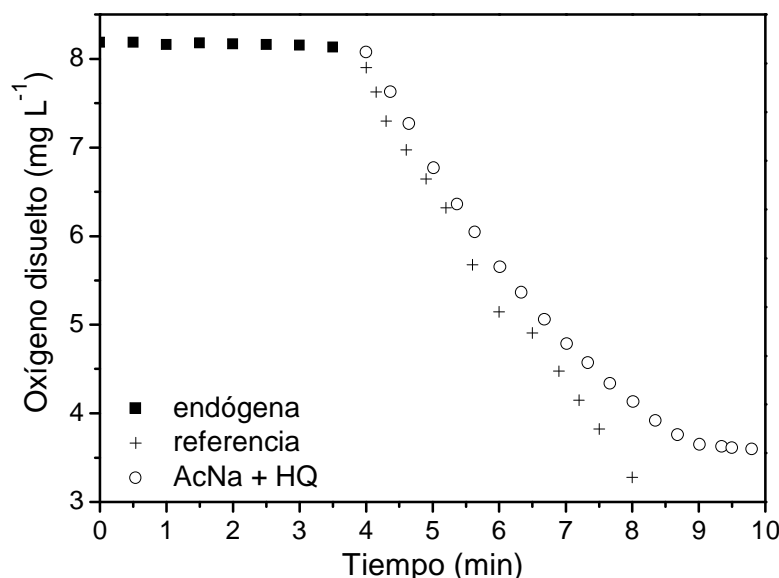


Fig. 2.5. Evolución temporal de la concentración de oxígeno disuelto durante el ensayo de inhibición realizado para HQ (2 g L⁻¹).

La determinación de la EC_{50} mediante el método de ajuste logístico no pudo llevarse a cabo para diurón, alacloro y atrazina, ya que para concentraciones próximas al límite de solubilidad no se alcanzó el 100% de inhibición. En el caso de la atrazina, pese a no poder establecerse un valor de EC_{50} , no se apreció disminución de la VECO a la máxima concentración soluble analizada (35 mg L⁻¹), por lo que se consideró no inhibitorio. Los herbicidas y fármacos estudiados, a excepción de diurón, mostraron un efecto inhibitorio significativamente bajo, por lo que, en principio, el tratamiento biológico de los contaminantes emergentes no se vería impedido por la inhibición del fango activo, ya que por lo general suelen encontrarse en concentraciones inferiores a la EC_{50} .

La Tabla 2.6 recoge los valores de EC_{50} sobre fango activo publicados en la literatura para los compuestos estudiados. La evaluación de la inhibición de fangos

activos suele llevarse a cabo siguiendo las directrices del test OECD 209 (1984), o su homólogo, el procedimiento ISO 8192 (1986), aunque ciertos autores han desarrollado métodos diferentes. Beltrame et al. (1984) estudiaron la inhibición de cloro y nitrofenoles sobre la degradación de fenol a través de ensayos cinéticos en discontinuo, mientras que Neumegen et al. (2005) emplearon como sustrato de referencia un agua sintética compuesta por lactosa y leche en polvo, analizando como variable la DBO₅ del fango activo en presencia de diferentes concentraciones de fenol.

Tabla 2.6. Valores de EC₅₀ recogidos en la literatura para los compuestos estudiados determinados a través de ensayos con fango activo.

	EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	Método empleado	Referencia
4CP	71,0	Medidas cinéticas en discontinuo	Beltrame et al. 1984
35DCP	13,3	ISO 8192	Gutierrez et al. 2002
	6,3	OECD 209 modificado	Gendig et al. 2003
	2,2	OECD 209 modificado	Ricco et al. 2004
PCP	0,8	ISO 8192	Gutierrez et al. 2002
Fenol	270	DBO	Neumegen et al. 2005

Los resultados obtenidos muestran una amplia divergencia con los valores publicados, especialmente significativa en el caso de PCP y fenol, por lo que incluso utilizando un método similar, los resultados son altamente dependientes de las condiciones en las que se llevan a cabo los análisis y del inóculo utilizado. Los valores de EC₅₀ publicados en la literatura para 35DCP varían de 2,2 a 13,3 mg L⁻¹, estando aceptados por la OECD los valores que se encuentren entre 5 y 30 mg L⁻¹. Este intervalo, significativamente amplio, asume las divergencias que puedan existir debido al origen del inóculo empleado.

La Tabla 2.7 muestra los resultados de EC₅₀ obtenidos mediante el ensayo Microtox® a 5 y 15 minutos, así como el intervalo de valores publicados en la literatura. Excepto para 2,4-D, MCPA y cafeína, los valores experimentales de EC₅₀ se encuentran en concordancia con los encontrados en la bibliografía, si bien es

cierto que dicho intervalo es bastante amplio en algunos casos. En la mayoría de los compuestos clorados, el valor de EC_{50} a los 15 min es menor que a los 5 min, lo cual refleja que el efecto provocado depende del tiempo de exposición de la bacteria al xenobiótico, siempre en términos de toxicidad aguda, ya que este tipo de test no predice efectos crónicos a largo plazo (Crane et al. 2006).

Los valores de EC_{50} obtenidos utilizando el método Microtox® resultaron notablemente inferiores a los observados para fango activo. Esta diferencia en la respuesta se debe al empleo de microorganismos distintos. *Vibrio fischeri* es una cepa pura de una bacteria marina, mientras que el fango activo es una comunidad heterogénea, lo que le confiere una mayor flexibilidad frente a variaciones ambientales y choques tóxicos (Gutierrez et al. 2002). La mayor sensibilidad de *V. fischeri*, observada también por otros autores (Gutierrez et al. 2002, Ricco et al. 2004), llevaría a la sobreestimación del efecto real de los compuestos estudiados en caso de que el agua residual se sometiera a un tratamiento biológico antes de su vertido a un cauce receptor.

La tendencia de los valores de EC_{50} obtenidos mediante Microtox® tampoco coincidió con la observada empleando fangos activos. Esto pudo deberse a diferencias en las membranas celulares, que pueden hacer que unos compuestos penetren en la célula más fácilmente que otros. La discrepancia resultó especialmente significativa en relación al número y posición de átomos de cloro en el anillo fenólico, ya que en el caso de *Vibrio fischeri*, la posición *para*- del cloro en el 4CP ejerció un efecto tóxico más importante que en fango activo, presentando un valor de EC_{50} menor que los clorofenoles con 2 y 3 átomos de cloro. Kaiser (1988) obtuvo valores de EC_{50} para 2CP, 3CP y 4CP de 39,7, 13,16 y 9,06 mg L⁻¹, respectivamente, lo que confirma que la posición *orto*- reduce considerablemente la toxicidad de los clorofenoles. Aunque algunos autores han encontrado una buena correlación entre la respuesta a diferentes xenobióticos de *V. fischeri* y otros microorganismos presentes en el agua, como *Ceriodaphnia dubia* (Doherty et al. 1999), *Daphnia magna* (Vasseur et al. 1984) y *Tetrahymena pyriformi* (Cronin et al. 1991), algunos otros han concluido que para ciertos grupos de compuestos, *V. fischeri* no representa un buen modelo para evaluar la inhibición de la biomasa (Dalzell et al. 2002a, Gutierrez et al. 2002, Ricco et al. 2004, Rizzo 2011).

Tabla 2.7. Resultados de EC₅₀ obtenidos por Microtox® en el presente trabajo y en la literatura.

	Microtox® 5min		Microtox® 15min		Otros autores	
	EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	R ²	EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	R ²	EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	Referencias
4CC	19,5	0,990	16,1	0,974		
4CP	2,1	0,990	1,9	0,983	1,1-9,1	Kaiser 1988, Jennings et al. 2001
24DCP	4,2	0,996	3,7	0,993	1,2-6,1	Kaiser 1988, Drzewicz et al. 2004
35DCP	6,8	0,993	6,0	0,999	2,8-4,1	Kaiser 1988, Jennings et al. 2001
246TCP	12,0	0,974	10,7	0,930	6,0-8,2	Kaiser 1988, Svenson et al. 1995
PCP	0,6	0,973	0,6	0,981	0,7-1,1	Kahru et al. 1996, Bogaerts et al. 2001
Fenol	24,5	0,966	17,6	0,970	16,0-42,0	Kaiser 1988, Zazo et al. 2007
Catecol	17,5	0,986	17,5	0,972	7,0-47,7	Kaiser 1988, Zazo et al. 2007
HQ	0,036	0,993	0,032	0,989	0,038-0,042	Kaiser 1988, Zazo et al. 2007
BQ	0,018	0,968	0,018	0,974	0,009-0,02	Kaiser 1988, Zazo et al. 2007
C-OL	124	0,985	122	0,954	115	Kaiser 1988
C-ONA	27,3	0,992	26,3	0,986	10,5-18,7	Kaiser 1988, Calvo et al. 2004
Diurón	54,1	0,997	42,7	0,973	58,0-86,0	Bogaerts et al. 2001, Lapertot et al. 2008
Alacloro	114	0,966	105	0,926	105-206	Bonnet et al. 2007, Lapertot et al. 2008
Atrazina	103	0,999	87,5	0,884	89,0-150	Bogaerts et al. 2001, Lapertot et al. 2008
2,4-D	20,5	0,995	21,1	0,999	59,0	Zona et al. 2003
MCPA	12,0	0,997	11,6	0,994	75,6-121	Vismara et al. 1997, Bojanowska-Czajka et al. 2006
Atenolol	36,8	0,987	38,1	0,998		
Cafeína	25,1	0,980	26,3	0,939	317	Jennings et al. 2001

El análisis de la toxicidad de un compuesto debe tener en cuenta la función celular sobre la que se ejerce el efecto. Los herbicidas provocan el bloqueo de la fotosíntesis y el transporte de electrones en los tilacoides, orgánulos propios de células vegetales. Por ello, ni el fango activo ni *V. fischeri* son sensibles en la determinación de la toxicidad de estos compuestos, lo cual se refleja en la obtención de valores de EC_{50} mucho mayores (en torno a tres órdenes de magnitud) que los alcanzados utilizando especies fotosintéticas como algas (Lapertot et al. 2008). Sin embargo, en el presente estudio, la toxicidad no se estudió como una característica intrínseca del compuesto sino como el impacto que pudiera tener sobre el sistema biológico de una planta de tratamiento de aguas residuales, por lo que el empleo de fango activo queda justificado, ya que se trata del organismo diana (Rizzo 2011). Los valores de EC_{50} determinados mediante el método Microtox® pueden ser válidos en el caso de que los compuestos fueran a verterse al medio natural. Además, el sistema Microtox® tiene la ventaja de estar estandarizado, por lo que es útil a modo comparativo, mientras que los métodos respirométricos no suelen llevarse a cabo en unas condiciones estándar, por lo que los resultados son muy dependientes de factores ambientales y del propio inóculo utilizado.

2.3.2. Estudio de biodegradabilidad rápida de compuestos puros

La evaluación de la biodegradabilidad de los compuestos estudiados se llevó a cabo mediante ensayos respirométricos, utilizando una concentración inicial de sustrato de 10 mg L^{-1} , siendo siempre inferior a la EC_{50} para fango activo determinada en los ensayos previos. El test no se llevó a cabo para HQ y BQ debido a la elevada toxicidad de ambos compuestos, ya que la concentración para la cual no presentaron efectos inhibitorios resultó ser demasiado baja.

El test de biodegradabilidad rápida resultó positivo para 4CP, 4CC, catecol, fenol, C-OL y C-ONA. La Figura 2.6 muestra los resultados obtenidos en los ensayos respirométricos de dichos compuestos, además del alacloro como ejemplo de compuesto no biodegradable.

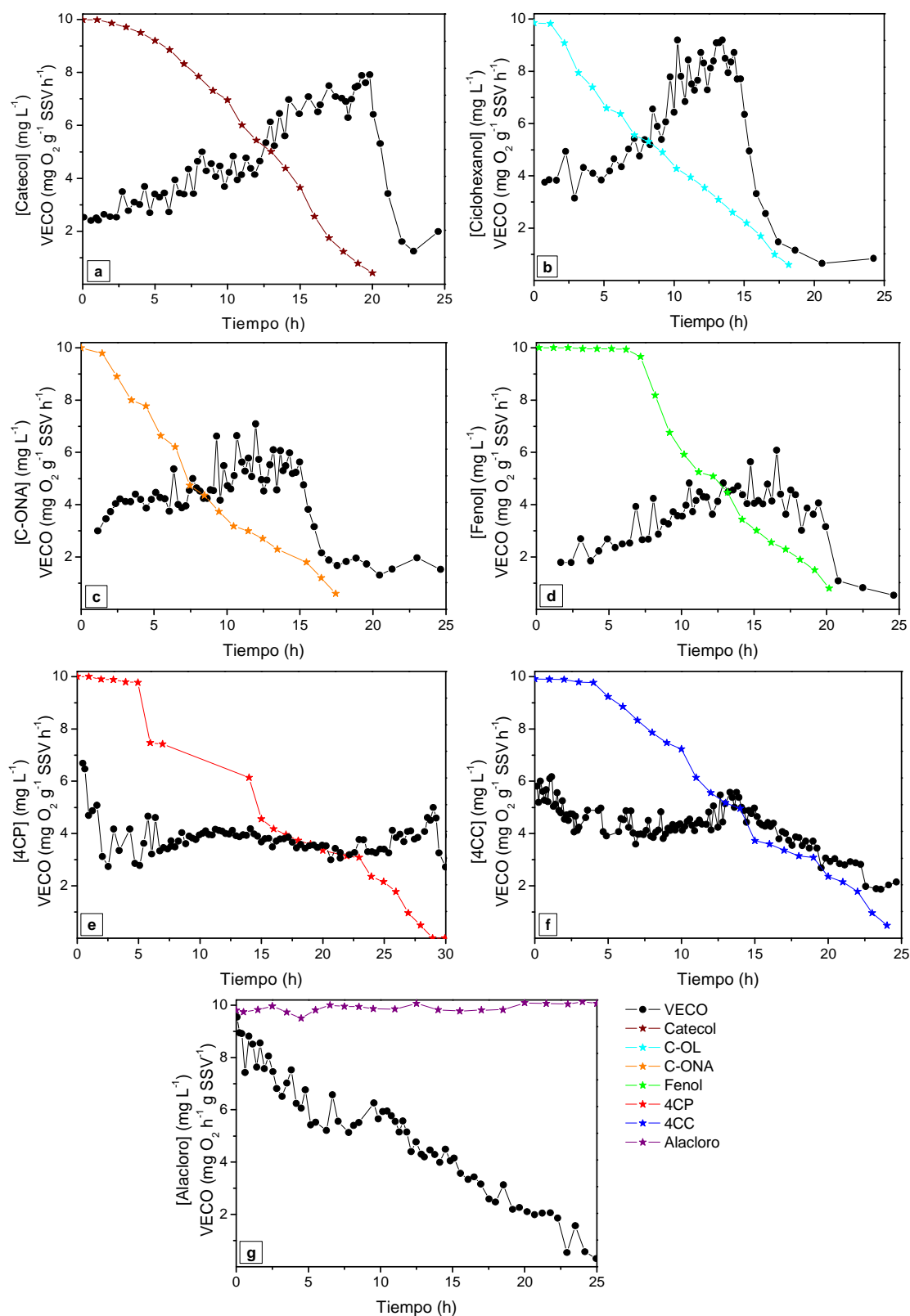


Fig. 2.6. Evolución de la concentración de compuesto y perfil respirométrico obtenidos en los ensayos de biodegradabilidad rápida para catecol (a), C-OL (b), C-ONA (c), fenol (d), 4CP (e), 4CC (f) y alacloro (g).

La degradación de los compuestos estudiados mostró tres tendencias diferentes. En los ensayos realizados con catecol (Figura 2.6.a), C-OL (Figura 2.6.b) y C-ONA (Figura 2.6.c) se observó una degradación progresiva desde el comienzo del ensayo, acompañada de un aumento gradual de la VECO, recuperando los valores basales una vez consumido el sustrato. En las figuras correspondientes a fenol (Figura 2.6.d), 4CP (Figura 2.6.e) y 4CC (Figura 2.6.f), pudo apreciarse una fase de latencia inicial, en los 3 casos con una duración aproximada de 5 h, en la que la biomasa experimentó un período de aclimatación previo a la degradación de sustrato.

El sustrato pudo eliminarse completamente tras 24 h en la mayoría de los ensayos anteriores, excepto en el caso de 4CP, que se prolongó hasta las 30 h. La conversión de COT para los compuestos no clorados alcanzó valores en el intervalo de 80 a 87%, mientras que la mineralización fue significativamente menor en los ensayos realizados con 4CC y 4CP, lográndose tan sólo un 47 y un 50%, respectivamente.

El ensayo realizado con alacloro (Figura 2.6.g) reveló la ausencia de degradación de sustrato tras 24 h, observándose una disminución progresiva de la VECO que puso de manifiesto que parte de la biomasa resultó afectada de manera irreversible por la presencia del compuesto a modo de toxicidad a largo plazo. Este efecto se observó también en los ensayos realizados con 24DCP, 246TCP, atrazina y diurón.

La biodegradabilidad de fenol y sus productos de hidrogenación, C-OL y C-ONA, se estudió, además, empleando una concentración de sustrato mayor (50 mg L^{-1}), con objeto de determinar cuál de ellos resultaría más factible tratar mediante un sistema biológico (Figura 2.7). Los resultados obtenidos empleando como sustrato C-OL (Figura 2.7.a) y C-ONA (Figura 2.7.b) presentaron una clara similitud en la evolución de la concentración y el perfil respirométrico con los ensayos realizados previamente utilizando una concentración inicial de sustrato de 10 mg L^{-1} . En el caso del fenol (Figura 2.7.c), pese a conservarse la etapa de aclimatación, la VECO alcanzó un valor máximo en torno a $75 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ SSV}$, más de dos veces superior al obtenido en los ensayos realizados con C-OL y C-ONA. Además, el perfil respirométrico mostró una inhibición por sustrato significativamente baja, ya que,

una vez iniciado el consumo de fenol, la VECO máxima se alcanzó en un corto intervalo de tiempo, lográndose la completa eliminación de fenol después de tan sólo 10 h de ensayo. Por tanto, la degradación biológica de fenol por un fango activo no aclimatado se vio favorecida con el incremento de la concentración inicial de sustrato hasta 50 mg L⁻¹, puesto que una dosis de 10 mg L⁻¹ resultó insuficiente para alcanzar la velocidad máxima de consumo.

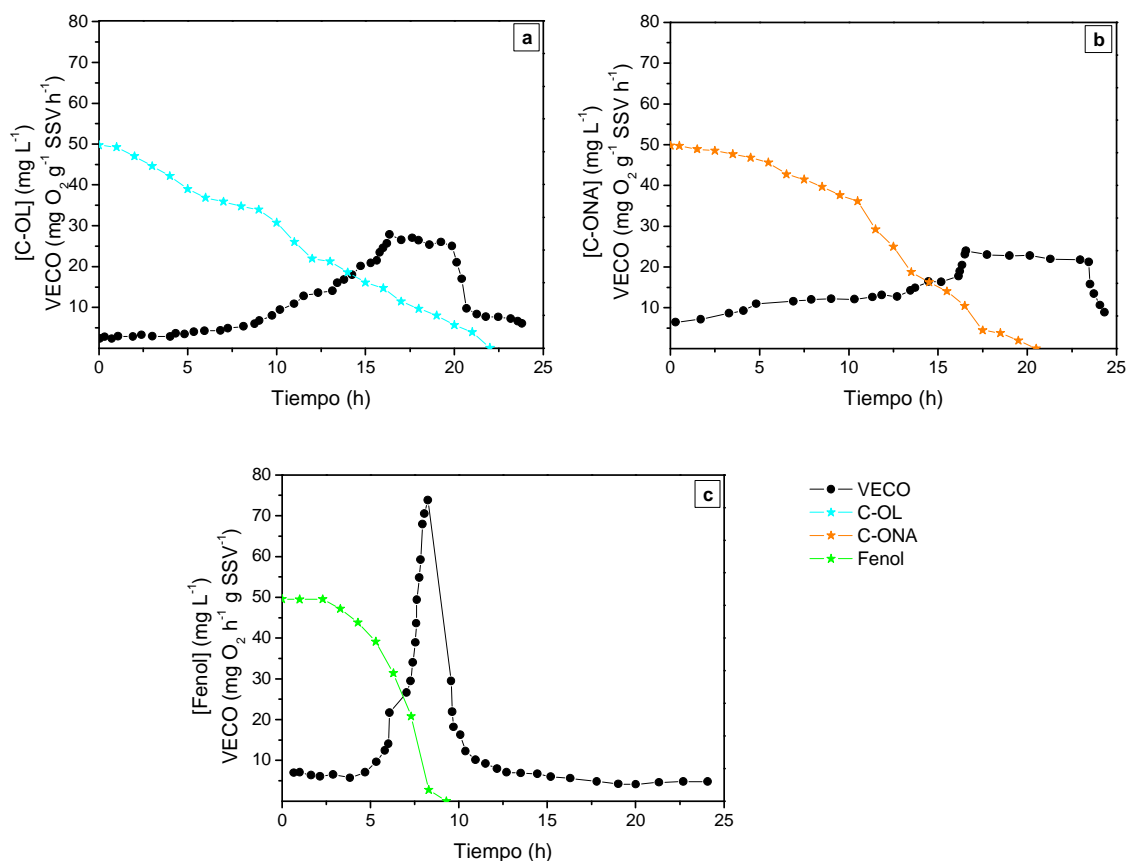


Fig. 2.7. Evolución de la concentración de compuesto y perfil respirométrico obtenidos en los ensayos de biodegradabilidad rápida realizados con C-OL (a), C-ONA (b) y fenol (c).

Los clorofenoles con más de un átomo de cloro, herbicidas y fármacos, no pudieron degradarse en las 24 h de duración del ensayo de biodegradabilidad rápida. Esto sugiere que dichos compuestos no podrían eliminarse empleando métodos biológicos convencionales, incluso en concentraciones bajas, ya que permanecerían en el efluente en el caso de un reactor en continuo o se

acumularían en un reactor discontinuo, pudiendo alcanzar concentraciones superiores a la EC_{50} , lo que desestabilizaría el sistema. Por ello, pese a que algunos de estos compuestos no resultaron significativamente inhibitorios, la única posibilidad de tratamiento biológico conllevaría previamente la aclimatación de la biomasa.

2.3.3. Estudio de biodegradabilidad inherente de compuestos puros

El test Zahn Wellens de biodegradabilidad inherente se llevó a cabo para todos los compuestos con resultado negativo en el ensayo de biodegradabilidad rápida, con la finalidad de determinar la posibilidad de aclimatación de la biomasa para llevar a cabo su tratamiento. La concentración inicial ensayada fue de 10 mg L^{-1} para los compuestos fenólicos policlorados y los fármacos estudiados, de 30 mg L^{-1} para diurón y atrazina y de 50 mg L^{-1} para los demás herbicidas. En el ensayo realizado con alacloro se observó la adsorción del herbicida a los difusores cerámicos empleados en la introducción de aire al sistema dentro de las 3 primeras horas de experimentación, por lo que se llevó a cabo un nuevo montaje introduciendo el aire a través de un tubo metálico perforado.

La Figura 2.8 recoge los resultados obtenidos para los herbicidas, en términos de conversión de sustrato (a) y COT (b). El 2,4-D y el MCPA mostraron una mayor biodegradabilidad inherente que los demás herbicidas estudiados, presentando un valor de conversión cercano al 100%. Sin embargo, la eliminación de COT fue diferente en ambos casos, resultando mucho mayor la alcanzada en el ensayo realizado con 2,4-D (79%). En el caso de los herbicidas que contenían nitrógeno en su composición (diurón, alacloro y atrazina), se obtuvieron valores de conversión en el intervalo del 20 al 30%, mientras que la eliminación de COT alcanzó el 10%. Lapertot et al. (2006a) estudiaron la biodegradabilidad de sustancias prioritarias mediante diferentes métodos, analizando, entre otros compuestos, diurón mediante el test Zahn-Wellens, alacloro según el método de respirometría manométrica y atrazina mediante el ensayo DBO_{28} o "Closed Bottle Test", ambos recogidos en el método (OECD 301 1993). Según estos autores, se consiguió eliminar la atrazina por completo tras 28 días, pero diurón y alacloro no pudieron degradarse por causas de lisis celular e inhibición de la biomasa, respectivamente.

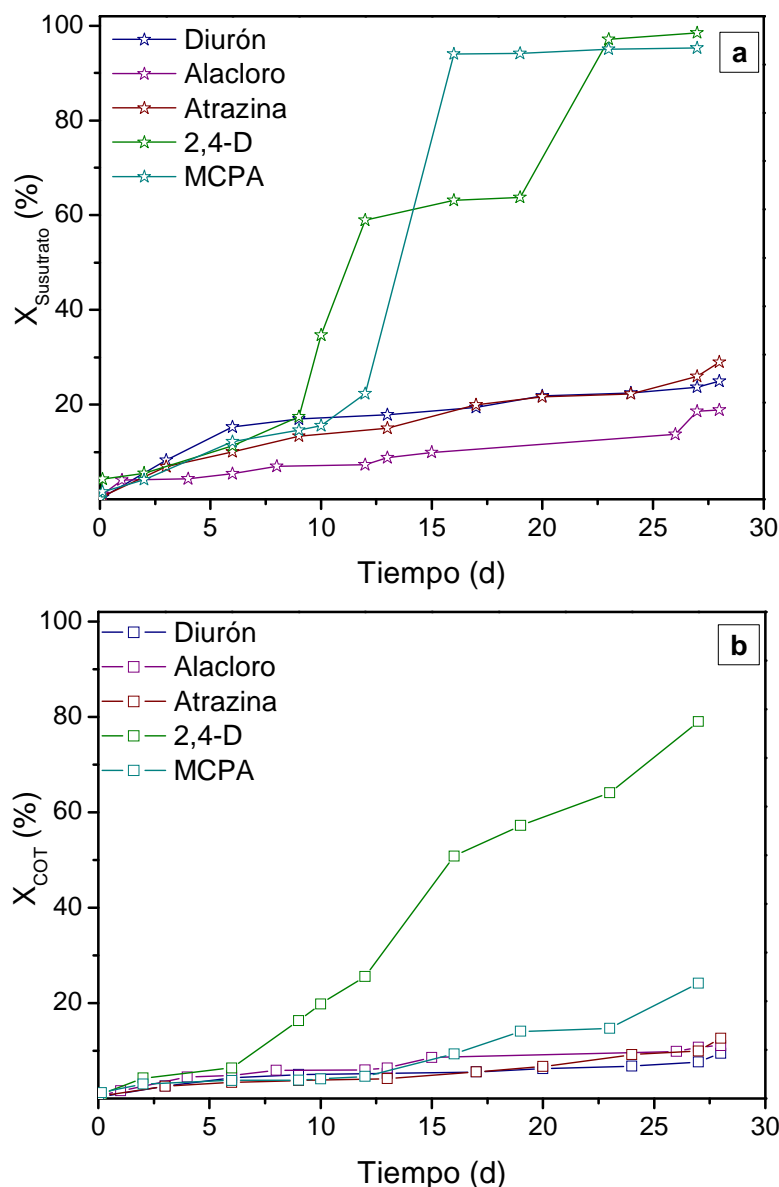


Fig. 2.8. Evolución de la conversión de compuesto (a) y COT (b) observada en el ensayo de biodegradabilidad inherente para los herbicidas.

La Figura 2.9 recoge los resultados obtenidos, en términos de conversión de sustrato (a) y COT (b), para los demás compuestos estudiados que mostraron una respuesta positiva al test. Sólo dos clorofenoles presentaron biodegradabilidad inherente, el 24DCP, que se eliminó de forma moderadamente rápida con una conversión final de COT del 38%, y el 246TCP, en el que la curva de degradación mostró una clara tendencia de adaptación del microorganismo hasta alcanzar una degradación total de compuesto, aunque tan sólo se eliminó un 35% de COT. Los demás clorofenoles (35DCP y PCP) se mostraron refractarios a un tratamiento

biológico aerobio. La cafeína se eliminó por completo, y el atenolol en un 78%, alcanzándose una conversión de COT del 70 y 40%, respectivamente. La concentración de cafeína fue indetectable a los 18 días de ensayo, lo cual se acerca al valor de 22 días establecido en la literatura (BASF AG 2000).

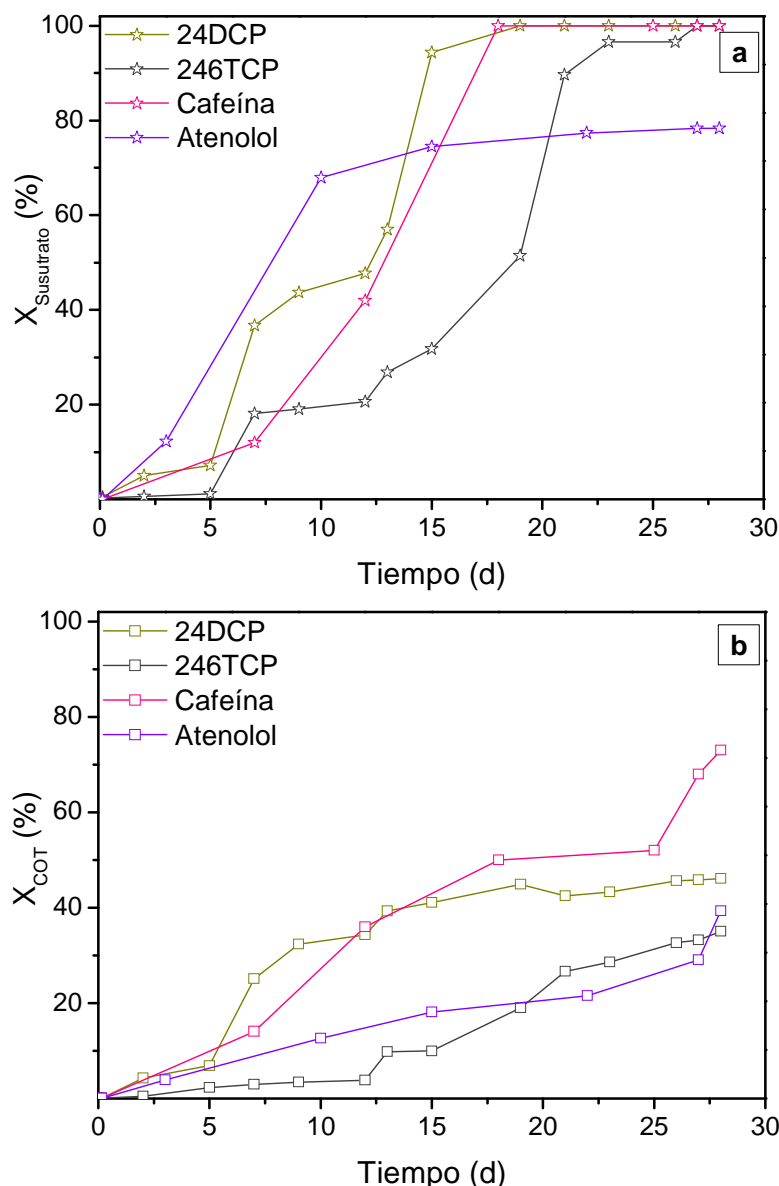


Fig. 2.9. Evolución de la conversión de compuesto (a) y COT (b) observada en el ensayo de biodegradabilidad inherente para 24DCP, 246TCP, cafeína y atenolol.

En la Tabla 2.8 se clasifican los compuestos estudiados en función de la inhibición que causan sobre fango activo como poco inhibitorios (PI) ($EC_{50} > 1000 \text{ mg L}^{-1}$), moderadamente inhibitorios (MI) ($100 \text{ mg L}^{-1} < EC_{50} < 1000 \text{ mg L}^{-1}$), inhibitorios

(I) ($10 \text{ mg L}^{-1} < EC_{50} < 100 \text{ mg L}^{-1}$) y extremadamente inhibitorios (EI) ($EC_{50} < 10 \text{ mg L}^{-1}$), y de su biodegradabilidad para una concentración inferior a la EC_{50} , como rápidamente biodegradables (RB), con biodegradabilidad inherente (BI) o no biodegradables (NB).

Tabla 2.8. Clasificación de los compuestos estudiados.

	Inhibición	Biodegr.		Inhibición	Biodegr.
4CC	MI	RB	35DCP	I	NB
4CP	I	RB	246TCP	I	BI
24DCP	I	BI	PCP	I	NB
Fenol	MI	RB	BQ	EI	-
Catecol	MI	RB	C-OL	PI	RB
HQ	EI	-	C-ONA	PI	RB
Diurón	I	BI	2,4-D	MI	BI
Alacloro	MI	BI	MCPA	MI	BI
Atrazina	PI	BI			
Atenolol	MI	BI	Cafeína	MI	BI

2.3.4. Estudio de inhibición y biodegradabilidad de mezclas de compuestos

Los métodos respirométricos de inhibición y biodegradabilidad rápida utilizados en el análisis de compuestos individuales se emplearon también para la evaluación de mezclas sintéticas de productos de hidrotalcloración catalítica de 4CP, con el objetivo de estudiar la posible ocurrencia de efectos sinérgicos o antagónicos cuando estos compuestos se encuentran formando parte de mezclas acuosas. Las disoluciones se prepararon de acuerdo con la composición de los efluentes obtenidos en el tratamiento de 100 mg L^{-1} de 4CP utilizando catalizadores de Pd y Rh soportados sobre alúmina y carbones activos de diferente procedencia (Diaz et al. 2009, Diaz et al. 2011).

La inhibición de las mezclas sintéticas se evaluó determinando la IC_{50} , definida como la dilución de la mezcla inicial capaz de provocar una disminución del 50% de la actividad del fango activo medida como VECO. El procedimiento para la

determinación de la IC_{50} fue el mismo que el utilizado en la ecuación 2.5, pero empleando el porcentaje de dilución de la muestra inicial en lugar de la concentración de compuesto como variable. Con el objetivo de llevar a cabo el menor número de determinaciones posibles, se utilizó el método de ajuste lineal, calculando el parámetro y a partir de los valores de VECO obtenidos en cuatro diluciones diferentes de la mezcla inicial (30:100, 50:100, 75:100 y 95:100). Los resultados se expresaron en unidades de toxicidad (UT), calculándose a partir de los valores obtenidos de IC_{50} , de acuerdo con la ecuación 2.8.

$$UT = \frac{100}{IC_{50}} \quad (2.8)$$

Los ensayos de biodegradabilidad rápida realizados con las mezclas de compuestos se prolongaron durante 70 h atendiendo al carácter recalcitrante de las muestras, analizándose evolución del COT y perfil respirométrico.

La Figura 2.10 muestra los resultados de inhibición (UT) y biodegradabilidad (conversión de COT) obtenidos en los ensayos realizados para los efluentes sintéticos de hidrodecoloración de 4CP, en función de su composición en 4CP, fenol, C-OL y C-ONA en forma de carbono.

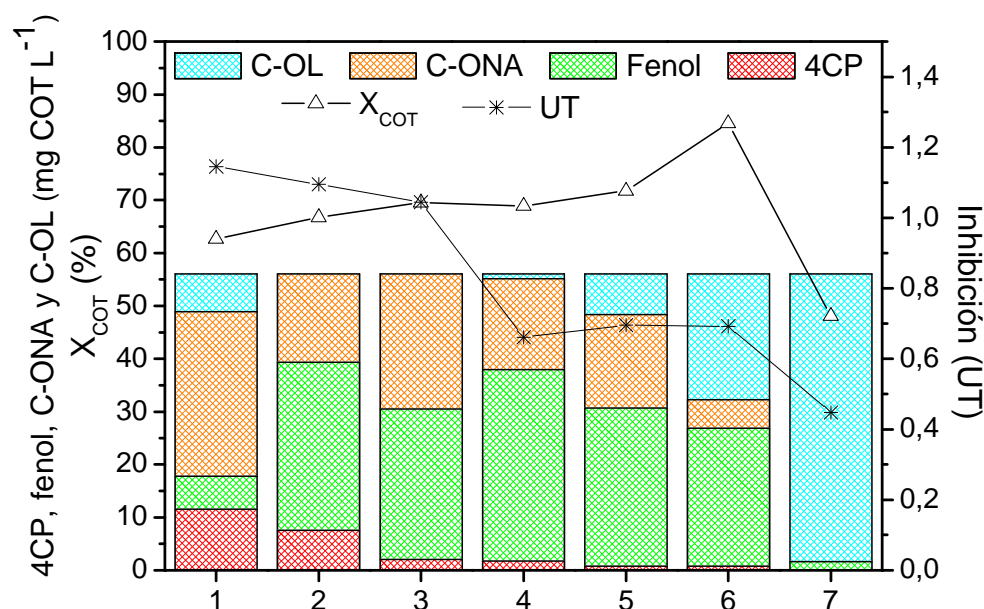


Fig. 2.10. Valores de inhibición (UT) y biodegradabilidad (X_{COT}) obtenidos para las mezclas de productos de hidrodecoloración de 4CP.

El incremento de la concentración de 4CP en la mezcla provocó, en general, un aumento de su efecto inhibitorio y una disminución de su biodegradabilidad. Estos resultados concuerdan con los obtenidos para compuestos individuales, ya que el 4CP fue el componente de la mezcla que presentó la EC_{50} más baja. La muestra compuesta principalmente por C-OL, si bien resultó ser la menos inhibitoria para la biomasa, fue la menos biodegradable, debido a que el fenol, que en los ensayos individuales mostró una mayor biodegradabilidad que el C-OL, estuvo presente en mayor proporción en el resto de efluentes analizados.

La Figura 2.11 muestra la relación entre la inhibición determinada experimentalmente para las mezclas de compuestos y la UT teórica calculada a partir de la suma de la inhibición causada de manera individual por los componentes de la mezcla, calculada según la ecuación 2.9. Puede apreciarse cierta relación entre ambas variables, ya que los valores de UT más altos determinados experimentalmente se correspondieron con una mayor inhibición teórica. Sin embargo, los valores calculados a partir de la suma de las EC_{50} individuales fueron en torno a tres veces menores que los hallados experimentalmente, lo cual indica la existencia de efectos sinérgicos cuando estos compuestos se encuentran formando mezclas. Este tipo de respuesta, bien sea en forma de interacciones sinérgicas o antagónicas, ha sido observada con anterioridad ([Nirmalakhandan et al. 1994](#), [Fernandez-Alba et al. 2002](#)) y pone de manifiesto que, aunque la información proporcionada por el efecto inhibitorio de los compuestos individuales es válida a efectos comparativos, el impacto real de un agua residual sobre el sistema biológico de una EDAR debe determinarse evaluando la inhibición sobre la biomasa con el propio agua residual. Por ello, el desarrollo de métodos sencillos y rápidos para el análisis *in situ*, como los empleados en el presente estudio, resulta de gran interés para la mejora de los procesos biológicos en el tratamiento de aguas residuales industriales.

$$UT_{teórica} = \sum \frac{C_i}{EC_{50i}} \quad (2.9)$$

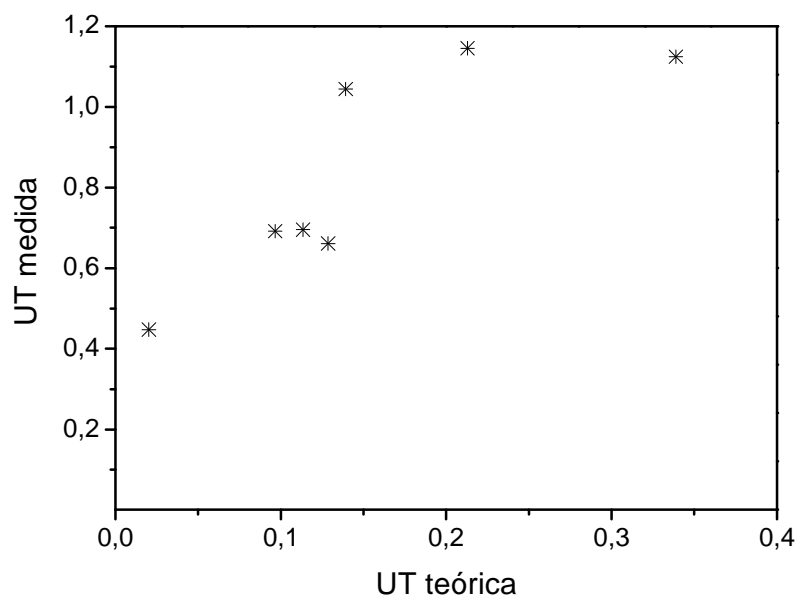


Fig. 2.11. Relación entre la UT medida experimentalmente y la esperada a partir de la suma de los valores de EC_{50} de los compuestos de la mezcla.

Los respirogramas obtenidos en los ensayos de biodegradabilidad rápida permitieron estudiar la actividad de la biomasa durante el proceso de degradación biológica de las diferentes mezclas de compuestos. La Figura 2.12 muestra la evolución de la VECO para dos disoluciones con diferente composición, una formada principalmente por fenol y C-ONA (mezcla 4) y otra con C-OL como componente mayoritario (mezcla 7). En el primer caso, pudo observarse un aumento progresivo de la VECO durante las 30 primeras horas, reflejo del consumo de fenol, apareciendo un segundo pico menos pronunciado a las 60 h debido a la degradación de C-ONA. El consumo preferente de fenol frente a C-ONA sugiere que en estas condiciones su degradación aporta más energía a los microorganismos, dando lugar al crecimiento diáuxico de la biomasa. En el ensayo realizado con el efluente compuesto principalmente por C-OL, el consumo de sustrato resultó más lento, dándose valores de VECO más bajos. Por lo tanto, de nuevo pudo apreciarse que, en estas concentraciones, el fenol se degrada a una mayor velocidad que C-OL y C-ONA, por lo que en el tratamiento de 4CP mediante hidrodechloración deberían utilizarse catalizadores con selectividad hacia fenol, en contradicción con los criterios de ecotoxicidad, que sugieren selectividad hacia C-OL como producto principal (Calvo et al. 2004, Diaz et al. 2008), siempre que los efluentes vayan a ser objeto de tratamiento biológico.

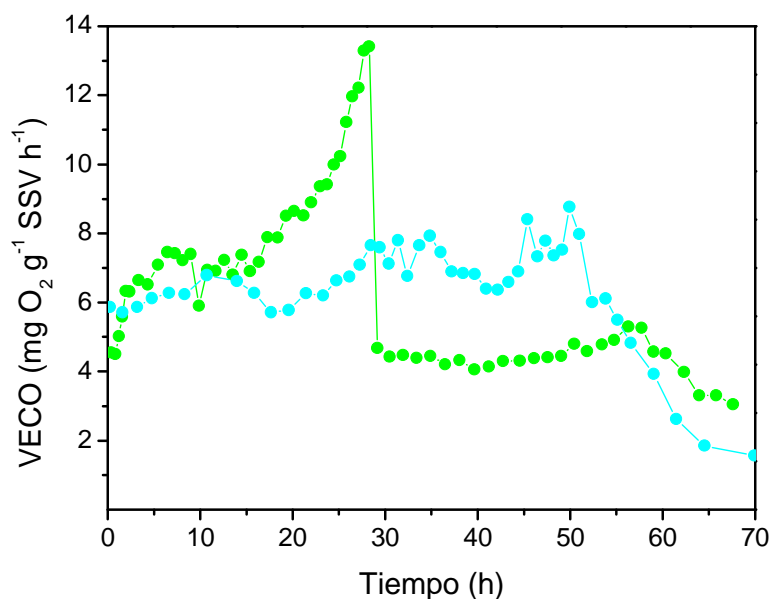


Fig. 2.12. Evolución de la VECO obtenida en los ensayos de biodegradabilidad realizados con productos de hidroclicloración de 4CP en distinta concentración, correspondientes a las mezclas 4 (color verde) y 7 (color cian).

2.4. Conclusiones

El estudio de inhibición y biodegradabilidad mediante respirometría permitió determinar la viabilidad de la eliminación de compuestos xenobióticos mediante un sistema de tratamiento biológico a través de métodos que por su sencillez, reproducibilidad y rapidez podrían emplearse para la evaluación *in situ* del impacto de un agua residual sobre el reactor biológico de una EDAR.

En concentraciones por debajo de su EC_{50} , 4CC, 4CP, fenol, catecol, C-OL y C-ONA podrían eliminarse empleando un tratamiento convencional de fangos activos. Los herbicidas y fármacos estudiados, 24DCP y 246TCP podrían a su vez degradarse en un sistema biológico empleando biomasa aclimatada. El tratamiento biológico aerobio resultó inviable en ausencia de un tratamiento previo que reduzca la toxicidad de BQ e HQ, o incremente la biodegradabilidad en el caso de 35DCP y PCP.

Haldane
Ciclohexanona
YXS
CAO
Ki
Monod
VECOMax
Ks Fenol
Ciclohexanol
Respirometría
AcNa

III. Estudio de la cinética de degradación biológica de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona mediante respirometría

Maybe we need some time alone
so we can just breathe
Let it breathe
BREATHE (Sean Paul feat. Blu Cantrell)

III. Estudio de la cinética de degradación biológica de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona mediante respirometría

3.1. Introducción

El fenol es la unidad estructural básica de numerosos compuestos químicos, por lo que representa uno de los contaminantes más importantes en aguas residuales industriales de diferente procedencia, desde refinerías a industrias farmacéuticas, fábricas de pintura y barnices, entre otros (Kumar et al. 2005). Se han estudiado una gran variedad de tratamientos para la eliminación de fenol y sus derivados de aguas residuales, pudiendo clasificarse en métodos no destructivos y métodos destructivos. Entre los métodos no destructivos destaca la adsorción, especialmente empleando carbón activo (Dabrowski et al. 2005), que además permite su recuperación posterior. Los métodos destructivos más utilizados para el tratamiento de fenol son la oxidación húmeda y su versión catalítica (Joglekar et al. 1991, Suarez-Ojeda et al. 2005), los procesos de oxidación avanzada como ozonización, Fenton o foto-Fenton (Esplugas et al. 2002), los tratamientos biológicos (Buitron et al. 1998) y la hidrogenación catalítica. Ésta última suele utilizarse no sólo para la transformación de fenol en compuestos más inocuos (Diaz et al. 2007), sino también para la producción de derivados hidrogenados, como ciclohexanol y ciclohexanona (Talukdar et al. 1993, Neri et al. 1994), para su utilización en procesos industriales como la síntesis de nylon.

La eliminación de compuestos fenólicos empleando sistemas biológicos suele ser la opción más económica y, además, conlleva un menor impacto ambiental frente al uso de procesos fisicoquímicos. Sin embargo, los tratamientos biológicos pueden resultar demasiado lentos en ciertas ocasiones, cuando se tratan de degradar sustancias refractarias, e incluso inhibitorias, si se encuentran en concentraciones elevadas. El empleo de biomasa aclimatada permite mitigar estas desventajas, aumentando considerablemente la eficacia del tratamiento (Buitron et al. 1995). La optimización del proceso biológico pasa por el estudio de la cinética de degradación microbiana para conocer las condiciones más favorables en las que llevar a cabo el tratamiento, evitando en la medida de lo posible la inhibición del metabolismo microbiano.

En la literatura existen numerosos trabajos centrados en el estudio de la degradación microbiana de fenol (Yang et al. 1975, Marrot et al. 2006, Nair et al. 2008) y evaluar su cinética de biotransformación (Agarry et al. 2008). La degradación biológica de sus principales productos de hidrogenación catalítica, ciclohexanol y ciclohexanona, se ha estudiado en menor medida (Babu et al. 1999, Iwaki et al. 2003) y su cinética aún no ha sido descrita. La mayoría de los estudios cinéticos de degradación biológica de fenol se basan en el análisis conjunto del crecimiento microbiano y la disminución de la concentración de sustrato utilizando cepas puras, generalmente bacterias del género *Pseudomonas* (Goudar et al. 2000, Monteiro et al. 2000, Reardon et al. 2000, Kumar et al. 2005, Oboirien et al. 2005). La cinética de degradación biológica de fenol también se ha estudiado empleando fangos activos (Nuhoglu et al. 2005), aunque sólo algunos autores han utilizado técnicas respirométricas para determinar los parámetros cinéticos (Orupold et al. 2001, Tomei et al. 2004, Contreras et al. 2008).

La respirometría permite utilizar el consumo de oxígeno como parámetro de descripción del crecimiento de la biomasa o la degradación de sustrato (Gaudy et al. 1989), ya que consumo de oxígeno y energía metabólica son conceptos directamente relacionados en sistemas biológicos aerobios (Gaudy et al. 1988). Este hecho ofrece la posibilidad de utilizar modelos de crecimiento de biomasa en el ajuste de datos respirométricos. El empleo de técnicas respirométricas permite

obtener coeficientes cinéticos como la velocidad máxima de crecimiento (Kappeler et al. 1992), la velocidad de consumo endógena (Avcioglu et al. 1998) o el rendimiento biomasa/sustrato (Dircks et al. 1999) de manera rápida y sencilla en comparación con el análisis de la concentración de sustrato o el crecimiento de biomasa, puesto que el proceso puede automatizarse y no necesita toma de muestra.

En el presente capítulo se evalúa el uso de la respirometría para el estudio de la cinética de degradación y el rendimiento biomasa/sustrato de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona, utilizando como compuesto de referencia acetato sódico y un fango activo previamente aclimatado. Los ensayos se realizaron a diferentes temperaturas para estudiar la influencia de dicha variable sobre la degradación biológica.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Reactores secuenciales discontinuos

La aclimatación y mantenimiento de la biomasa empleada en los ensayos respirométricos se llevó a cabo en reactores secuenciales discontinuos de 5 L contruidos en polimetacrilato de metilo, aereados mediante compresores y difusores mecánicos y agitados mecánicamente mediante rotores tipo hélice. Los reactores operaron a temperatura ambiente, con un tiempo de retención hidráulico (t_{RH}) de 5 días y un tiempo de retención celular (t_{RC}) de 15 días. La alimentación y extracción de influente y efluente, así como la adición de NaOH 12 M para controlar el pH, se realizó utilizando bombas peristálticas (Seko PR4). La concentración de biomasa se mantuvo entre 3 y 4 g SSV L⁻¹.

Los SBR operaron en secuencias de 8 h, con las siguientes cuatro etapas: llenado anóxico (0,5 h), reacción aerobia (6 h), sedimentación (1 h) y vaciado (0,5 h). Los reactores operaron ininterrumpidamente gracias a la automatización de los diferentes componentes mediante el empleo de programadores con temporizador (Bricolux).

3.2.2. Inóculo

El fango activo utilizado como inóculo se obtuvo a partir de una mezcla de lodos procedentes de los reactores biológicos de dos plantas de tratamiento de aguas residuales industriales (RECASA y Wyeth Pharma), y de la EDAR de Alcalá de Henares (Madrid).

3.2.3. Aclimatación del lodo

La aclimatación de la biomasa se llevó a cabo para cada uno de los compuestos estudiados, introduciéndolos en el reactor como única fuente de carbono y energía previamente a su empleo en los ensayos respirométricos. En el caso del acetato sódico (AcNa), el fango activo se mantuvo con la misma concentración de sustrato (300 mg L^{-1} en el interior del reactor) desde la puesta en marcha del reactor, puesto que no precisó de un período de aclimatación. En los demás compuestos, se empleó una estrategia de aclimatación, que consistió en el aumento progresivo de la concentración de fenol y ciclohexanol (C-OL) y ciclohexanona (C-ONA) hasta alcanzar 300 mg L^{-1} .

El influente se preparó disolviendo cada uno de los compuestos (AcNa, fenol, C-OL y C-ONA) en agua destilada, a la que se añadió una fuente de nitrógeno, fósforo y diversos micronutrientes (CaCl_2 , FeCl_3 , KCl y MgSO_4), empleando una proporción másica DQO:N:P:micronutrientes de 100:5:1:0,05.

3.2.4. Ensayos cinéticos

Los ensayos cinéticos se llevaron a cabo empleando un respirómetro discontinuo de tipo LSS, cuya composición y funcionamiento se detallaron en el capítulo II (apartado 2.2.3).

El estudio cinético mediante respirometría se basó en la determinación del perfil de velocidad específica de consumo de oxígeno (VECO) al añadir concentraciones crecientes de sustrato (de 5 a 300 mg L^{-1}) a diferentes temperaturas (de 15 a 35°C). La concentración de biomasa se fijó en $650 \text{ mg SSV L}^{-1}$, cuantificada utilizando el procedimiento estándar (APHA 1992), para evitar que el consumo de oxígeno debido a la actividad microbiana sobrepasara la velocidad de transferencia

de oxígeno a la disolución. Se añadió un medio nutritivo, tampón fosfato y N-alitiourea como inhibidor de la nitrificación a la disolución de partida, de acuerdo con lo establecido en el método estandarizado de determinación de la Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅) (APHA 1992).

Los experimentos comenzaron con el registro de la VECO endógena (en ausencia de sustrato), que se consideró constante a lo largo de la duración del ensayo y se utilizó para la corrección de los valores de VECO medidos al añadir el pulso de sustrato, obteniéndose la VECO exógena. Los parámetros cinéticos se determinaron a partir de los datos obtenidos de VECO exógena de acuerdo con el procedimiento descrito por Tomei et al. (2004), basado en el empleo de modelos de crecimiento de biomasa para el ajuste de datos respirométricos.

La relación entre la concentración de sustrato y la velocidad de crecimiento de los microorganismos se estableció mediante la ecuación de Monod (ecuación 3.1), donde μ_{max} es la velocidad máxima de crecimiento del microorganismo, S es la concentración de sustrato y K_S es la constante de saturación de Monod, que representa la concentración de sustrato para la cual la velocidad de crecimiento del microorganismo es la mitad de la máxima.

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S} \quad (3.1)$$

La Figura 3.1 muestra la influencia de la concentración de sustrato sobre la velocidad de crecimiento de los microorganismos. En ausencia de inhibición, la velocidad específica de crecimiento aumenta con la concentración de sustrato hasta llegar a un valor máximo constante. Cuando el sustrato es inhibitorio, la velocidad específica de crecimiento aumenta con la concentración de sustrato hasta alcanzar un umbral por encima del cual una mayor concentración de sustrato disminuye la velocidad de crecimiento (García 1999). Este tipo de cinética puede describirse mediante el modelo de Haldane (ecuación 3.2), que introduce un nuevo parámetro a la ecuación de Monod, K_i , conocida como constante de inhibición.

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}} \quad (3.2)$$

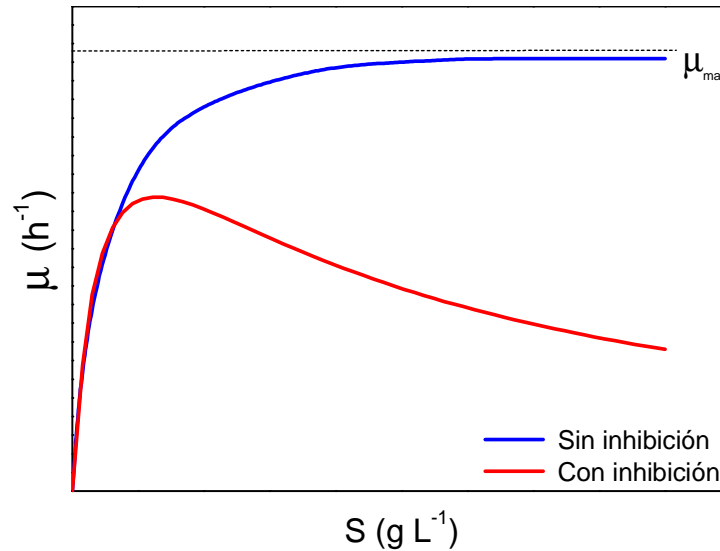


Fig. 3.1. Crecimiento microbiano en presencia de un sustrato inhibitorio y no inhibitorio.

La utilización de datos respirométricos para la estimación de la cinética de biodegradación es posible debido a que la degradación de sustrato, el crecimiento de la biomasa y el consumo de oxígeno están estequiométricamente ligados a través de la ecuación 3.3 (Gaudy et al. 1988, Smets et al. 1996), donde Y_{XS} es el rendimiento biomasa/sustrato, r_s la velocidad de consumo del sustrato y μ la velocidad de crecimiento de la biomasa.

$$-\frac{VECO}{(1 - Y_{XS})} = -r_s = \frac{\mu}{Y_{XS}} \quad (3.3)$$

Utilizando la relación entre el crecimiento de biomasa y el consumo de oxígeno, y asumiendo que la concentración de biomasa permanece constante a lo largo del experimento, se pueden obtener las ecuaciones de los modelos de Monod y Haldane adaptadas para llevar a cabo el ajuste de datos respirométricos (ecuaciones 3.4 y 3.5, respectivamente). La representación de los valores obtenidos de VECO inicial para cada concentración de sustrato empleada permite

obtener los parámetros cinéticos $VECO_{max}$, K_S y K_i empleando ambas ecuaciones en el ajuste de datos respirométricos.

$$VECO = \frac{(1 - Y_{XS})}{Y_{XS}} \mu = \frac{(1 - Y_{XS})}{Y_{XS}} \mu_{max} \frac{S}{K_S + S} = VECO_{max} \frac{S}{K_S + S} \quad (3.4)$$

$$VECO = \frac{(1 - Y_{XS})}{Y_{XS}} \mu = \frac{(1 - Y_{XS})}{Y_{XS}} \mu_{max} \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}} = VECO_{max} \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}} \quad (3.5)$$

El rendimiento biomasa/sustrato se determinó de acuerdo con el procedimiento descrito por Dircks et al. (1999), que consiste en el cálculo del consumo acumulado de oxígeno (CAO) a partir de la integración de la curva de VECO frente al tiempo. La representación de los datos de CAO exógeno para cada concentración inicial de sustrato permite obtener el valor de Y_{XS} a través de un ajuste lineal (ecuación 3.6):

$$CAO_{ex} = (1 - Y_{XS})S \quad (3.6)$$

3.2.5. Métodos analíticos

La cuantificación de fenol, C-OL y C-ONA se llevó a cabo mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC/FID, Varian) utilizando el método recogido en el apartado 2.2.9 del capítulo II.

3.3. Resultados y discusión

3.3.1. Cinética de la degradación biológica de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona

Los respirogramas obtenidos empleando concentraciones crecientes de los compuestos estudiados a las diferentes temperaturas ensayadas se recogen en el Anexo II. La Figura 3.2 muestra la evolución de la VECO observada para diferentes concentraciones de AcNa (a), fenol (b), C-OL (c) y C-ONA (d) a una temperatura de 20°C. A bajas concentraciones de sustrato o en ausencia de inhibición, la VECO tomó su valor máximo inmediatamente después de ponerse en contacto el sustrato con la biomasa. Una vez consumida la fuente de carbono, la VECO disminuyó,

volviendo a tomar valores basales correspondientes al metabolismo endógeno. En el caso de fenol, C-OL y C-ONA (Figura 3.2 b-d), una concentración de 200 mg L⁻¹ resultó inhibitoria, apreciándose en el respirograma una pendiente ascendente debida al aumento de VECO producido por la disminución de la concentración de sustrato en el medio de reacción. En el respirograma obtenido para C-OL y en menor medida en el de C-ONA, apareció un segundo pico después de haberse alcanzado la VECO_{max}, indicando la degradación de intermedios metabólicos.

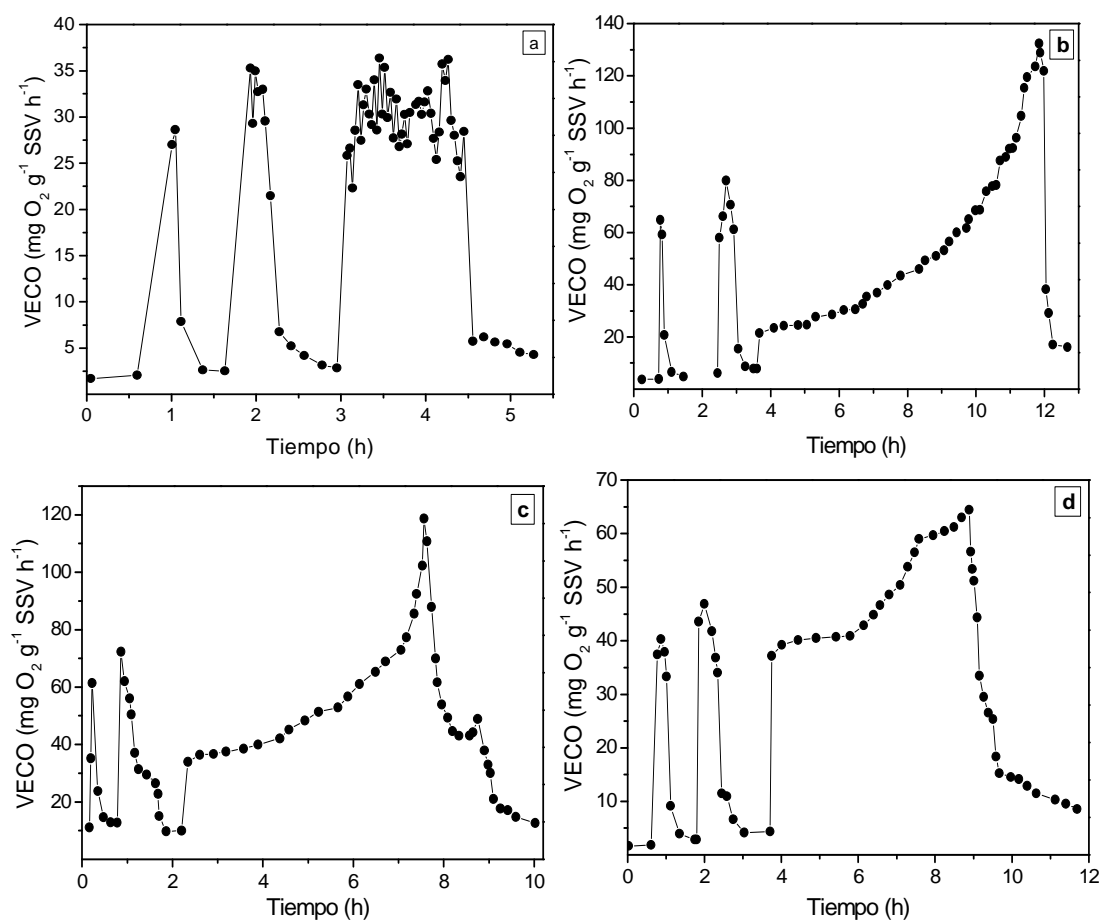


Fig. 3.2. Respirogramas obtenidos para AcNa (a), fenol (b), C-OL (c) y C-ONA (d) para concentraciones de sustrato de 5, 20 y 200 mg L⁻¹ a 20°C.

La evolución de la velocidad de consumo de oxígeno y la degradación de sustrato se estudió empleando una concentración inicial de compuesto de 200 mg L⁻¹ a una temperatura de 30°C. Los resultados obtenidos para fenol, C-OL y C-ONA se muestran en la Figura 3.3. En el ensayo realizado con fenol (Figura 3.3.a) no se observó fase de latencia, a diferencia de los experimentos realizados con fango

activo no aclimatado (capítulo II). Sin embargo, la degradación de sustrato mostró un claro perfil inhibitorio, con un aumento de la velocidad conforme disminuyó la concentración de fenol en el medio de reacción, alcanzándose la $VECO_{max}$ una vez se encontró por debajo de los 50 mg L^{-1} . La velocidad de degradación fue mayor en el ensayo realizado con C-OL (Figura 3.3.b), alcanzándose los valores más altos de VECO a pesar de que el perfil mostró una tendencia inhibitoria. Se detectaron en torno a 12 mg L^{-1} de C-ONA tras 1 h de ensayo, que no se eliminaron por completo hasta que la concentración de C-OL en el medio de reacción fue indetectable, correspondiéndose con el segundo pico de VECO observado en el respirograma. En la literatura existen referencias acerca de la aparición de C-ONA como intermedio de la transformación de C-OL en la ruta metabólica de degradación de ciclohexano por *Acinetobacter* (Cheng et al. 2000) y *Rhodococcus* (Yi et al. 2011).

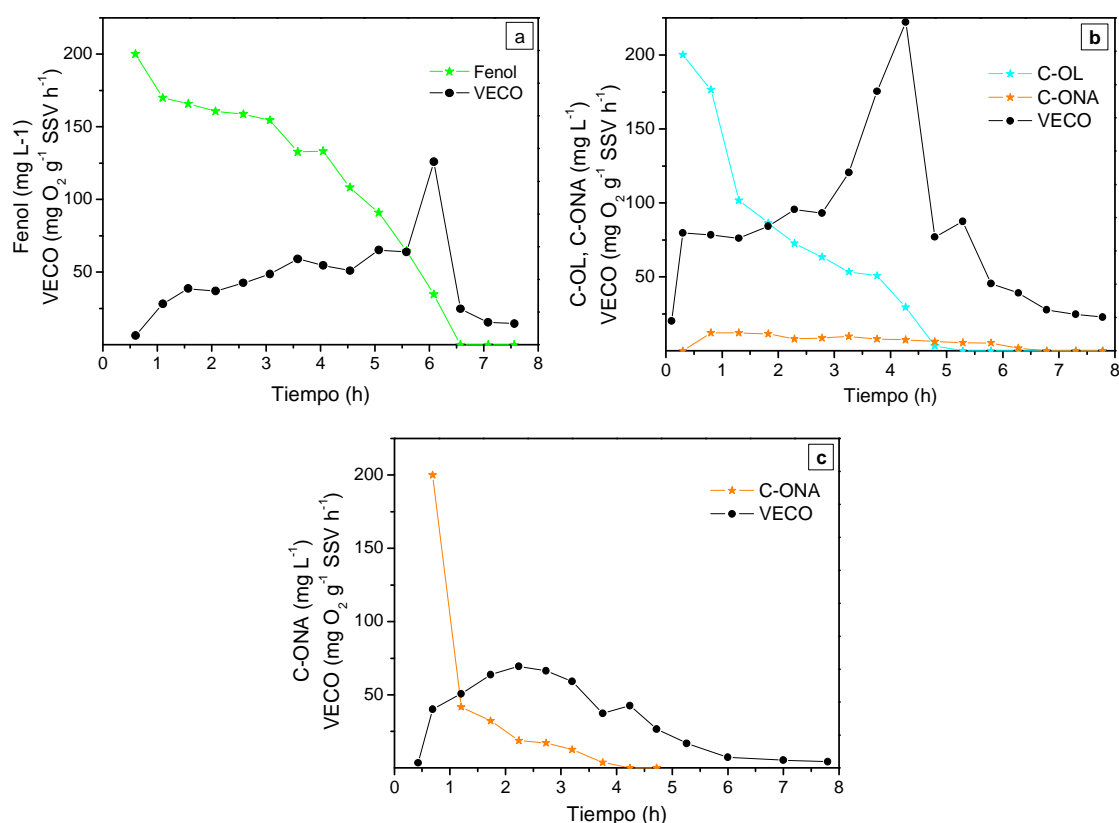


Fig. 3.3. Evolución de la VECO y concentración de sustrato e intermedios metabólicos detectados para una concentración inicial de 200 mg L^{-1} de fenol (a), C-OL (b) y C-ONA (c) a 30°C .

En la Figura 3.3.c, tanto el perfil respirométrico como la evolución de la concentración de C-ONA mostraron una inhibición casi inexistente de la biomasa en las condiciones de ensayo. El compuesto se eliminó en un 80% tras la primera hora, sin embargo, los valores de VECO alcanzados no resultaron significativamente elevados en comparación con los obtenidos en los ensayos realizados con los otros dos compuestos. Este hecho implica que la desaparición inicial de C-ONA fue debida a su transformación en intermedios metabólicos no identificados, que se degradaron posteriormente, manteniéndose la actividad de los microorganismos hasta las 6 h de ensayo pese a que el compuesto inicial no se detectó después de 4 h.

Los valores iniciales de VECO ($VECO_i$) obtenidos a partir del perfil respirométrico se representaron para cada una de las concentraciones de sustrato a cada temperatura ensayada. La Figura 3.4 muestra la representación de los resultados obtenidos para fenol, C-OL y C-ONA a 30°C.

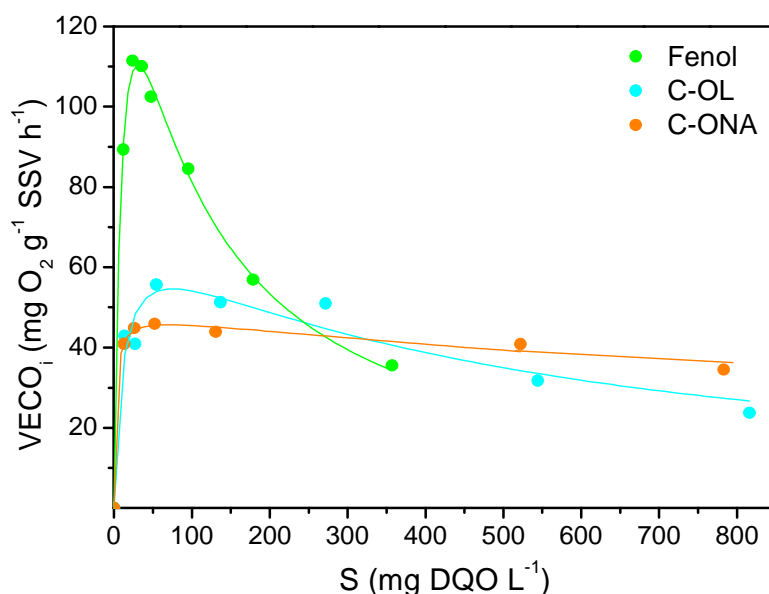


Fig. 3.4. Valores de VECO inicial obtenidos para cada concentración de sustrato a 30°C y ajuste de los datos respirométricos al modelo de Haldane.

La evolución de los valores de $VECO_i$ con la concentración de sustrato mostró una tendencia característica de inhibición, disminuyendo con la concentración de sustrato a partir de un valor determinado. Los valores más elevados de $VECO_i$ se obtuvieron en los ensayos realizados con concentraciones intermedias de fenol. Sin

III. Estudio de la cinética de degradación biológica de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona mediante respirometría

embargo, el aumento de la dosis de sustrato originó un fuerte efecto inhibitorio en la biomasa, significativamente superior al observado para C-OL y C-ONA. Los resultados se ajustaron a un modelo de crecimiento de biomasa en presencia de sustrato inhibitorio para la obtención de los parámetros cinéticos, seleccionándose el modelo de Haldane debido a su simplicidad matemática.

Los resultados de los ajustes realizados se recogen en la Tabla 3.1. A partir de los parámetros estadísticos obtenidos se comprobó que el modelo de Haldane se ajustó adecuadamente a los datos respirométricos obtenidos para fenol, C-OL y C-ONA. Los datos experimentales obtenidos con el sustrato de referencia se ajustaron adecuadamente al modelo de Monod.

Tabla 3.1. Parámetros cinéticos obtenidos para los compuestos estudiados a diferentes temperaturas.

T (°C)	VECO _{max} (mg O ₂ g ⁻¹ SSV h ⁻¹)	K _S (mg DQO L ⁻¹)	K _i (mg DQO L ⁻¹)	R ²
AcNa				
20	31,54	0,48	-	0,984
30	61,13	3,53	-	0,981
Fenol				
15	91,25	9,88	33,12	0,998
20	131,64	12,58	68,56	0,998
25	135,80	10,15	67,67	0,991
30	177,37	10,06	106,40	0,991
35	98,95	3,66	165,69	0,998
Ciclohexanol				
15	46,14	9,10	99,12	0,999
20	63,80	3,72	198,22	0,975
25	68,06	7,15	337,56	0,969
30	76,61	10,69	407,48	0,978
35	81,48	4,76	881,16	0,976
Ciclohexanona				
15	24,70	2,12	343,76	0,999
20	42,97	6,83	1320,72	0,993
25	44,12	3,76	1887,20	0,996
30	48,59	2,26	2163,31	0,996
35	70,77	0,55	3670,93	0,999

El aumento de la temperatura en el intervalo ensayado originó un aumento del valor de $VECO_{max}$, por lo que el tratamiento de los compuestos estudiados se ve favorecido a la temperatura más elevada ensayada, lográndose una mayor velocidad de degradación. En el caso del fenol, el aumento de la temperatura de 30 a 35°C ocasionó, sin embargo, una disminución de la velocidad máxima de consumo de oxígeno. El efecto inhibitorio disminuyó con la temperatura, favoreciendo a su vez la degradación biológica. El fenol resultó ser el compuesto más inhibitorio, mientras que los resultados obtenidos para la C-ONA mostraron un escaso efecto de inhibición por sustrato, especialmente a las temperaturas más elevadas. Sin embargo, el empleo del modelo de Monod proporcionó valores de los parámetros de ajuste menos satisfactorios que los obtenidos con el modelo de Haldane. Los valores obtenidos de K_s se encontraron en torno a 10, 7 y 3 mg DQO L⁻¹ para fenol, C-OL y C-ONA respectivamente, aunque el intervalo de variabilidad fue bastante amplio.

Las Tablas 3.2 y 3.3 recogen los parámetros cinéticos de la degradación aerobia de fenol publicados en la literatura. A pesar de que la cinética de degradación biológica de este compuesto se ha estudiado ampliamente, el empleo de técnicas respirométricas para la obtención de los parámetros cinéticos se encuentra poco extendido. Además, las condiciones en las que se llevan a cabo los ensayos, determinantes en los resultados obtenidos, no se encuentran estandarizadas, por lo que la variabilidad en los valores de los parámetros cinéticos es significativa.

Orupold et al. (2001) y Lepik et al. (2011) emplearon concentraciones iniciales de sustrato inferiores a 10 mg L⁻¹, por lo que los resultados obtenidos por ambos autores se corresponden con una cinética de degradación de fenol en ausencia de inhibición (Tabla 3.2). Contreras et al. (2008) llevaron a cabo estudios respirométricos de degradación de fenol empleando concentraciones iniciales de sustrato hasta 4000 mg L⁻¹. Sin embargo, los valores de velocidad máxima de consumo de oxígeno aportados no están referidos a la concentración de biomasa empleada, por lo que no puede establecerse una comparación con los resultados de $VECO_{max}$ obtenidos en el presente trabajo.

III. Estudio de la cinética de degradación biológica de fenol, ciclohexanol y ciclohexanona mediante respirometría

Tabla 3.2. Valores de los parámetros cinéticos obtenidos mediante respirometría para la degradación biológica de fenol empleando fangos activos.

T (°C)	[Fenol] _{max} (mg L ⁻¹)	VCO _{max} (mg O ₂ h ⁻¹)	K _S (mg DQO L ⁻¹)	K _i (mg DQO L ⁻¹)	Referencias
20	5	8,4*	0,3	-	Lepik et al. 2011
-	10	52,2-128,0	1,9-3,8	-	Orupold et al. 2001
30	4000	146,0	33,4	453	Contreras et al. 2008

* VECO_{max} (mg O₂ g⁻¹ SSV h⁻¹)

Tabla 3.3. Valores de los parámetros cinéticos para la degradación biológica de fenol empleando fangos activos y *Pseudomonas sp.*

T (°C)	[Fenol] _{max} (mg L ⁻¹)	μ _{max} (h ⁻¹)	K _S (mg DQO L ⁻¹)	K _i (mg DQO L ⁻¹)	Referencias
Fangos activos					
15	40	0,258	9,3	517	Buitron et al., 1998
30	500	0,359	72,4	870	Kumaran et al. 1997
30	500	0,418	70,0	882	Livingston et al. 1989
28	900	0,260	60,5	412	Palowsky et al.1973
30	1300	0,251	26,2	829	Goudar et al. 2000
25	1450	0,143	208,4	256	Nuhoglu et al. 2005
25	2000	0,177	174,0	250	Rozich et al. 1985
<i>Pseudomonas sp.</i>					
26	100	0,436	14,8	129	Monteiro et al. 2000
21	170	0,325	19,5	405	Okaygun et al. 1992
10	200	0,119	5,27	377	Kotturi et al. 1991
25	400	0,569	44,2	237	Seker et al. 1997
30	500	0,567	5,7	253	Yang et al. 1975
30	1000	0,305	86,6	309	Kumar et al. 2005

El estudio de la biodegradación de fenol se ha llevado a cabo principalmente mediante el análisis del crecimiento de biomasa, empleando fangos activos o bien cepas puras de *Pseudomonas putida* (Tabla 3.3) por ser la especie predominante en los sistemas biológicos aclimatados a fenol (Saravanan et al. 2008). Tanto en el caso de emplear fango activo como *P. putida*, la velocidad máxima de crecimiento de biomasa presentó una fuerte dependencia con la concentración inicial de fenol empleada, obteniéndose valores crecientes hasta 500 mg L⁻¹, y disminuyendo por encima de dicha dosis de sustrato. La temperatura también resultó ser un factor determinante sobre μ_{max} , observándose valores significativamente menores al llevar a cabo los ensayos por debajo del intervalo de 25-30°C.

El empleo de *P. putida* permitió obtener una mayor afinidad por el sustrato, aunque la degradación de fenol presentó un mayor efecto inhibitorio, gracias a la flexibilidad que aporta el empleo de comunidades mixtas frente a cepas puras. Los valores de K_s y K_i presentaron una amplia variabilidad, especialmente los obtenidos empleando fangos activos, ya que, pese a emplearse biomasa aclimatada, las diferentes condiciones en las que se llevó a cabo la aclimatación (concentración de fenol, empleo de cosustratos) influyeron de manera determinante en el comportamiento del fango activo (Moreno et al. 2004). A pesar de la variabilidad de los resultados publicados, el empleo de concentraciones iniciales de sustrato hasta 500 mg L⁻¹ y una temperatura de 30°C favorecen la degradación biológica de fenol.

3.3.2. Rendimiento biomasa/sustrato

Los valores de VECO obtenidos mediante respirometría se utilizaron, además, para evaluar el rendimiento biomasa/sustrato. La Figura 3.5 muestra los valores obtenidos de consumo acumulado de oxígeno exógeno (CAO_{ex}) para cada concentración inicial de sustrato a una temperatura de 30°C, así como el ajuste lineal realizado a partir de la representación de dichos datos.

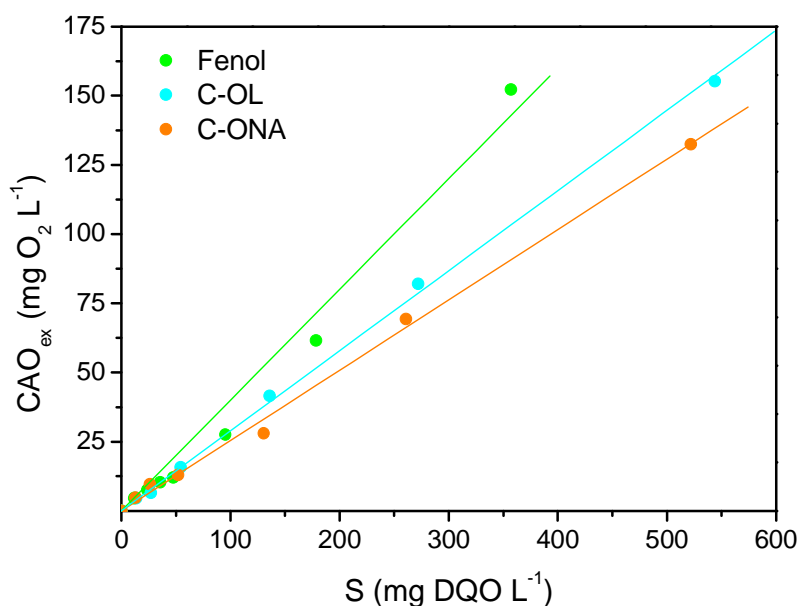


Fig. 3.5. Evolución del consumo acumulado de oxígeno en función de la concentración inicial de sustrato a 30°C.

Los valores del coeficiente Y_{XS} obtenidos para cada compuesto a las diferentes temperaturas ensayadas se recogen en la Tabla 3.4, junto con los parámetros de ajuste. El aumento de la temperatura hasta 30°C originó un aumento significativo del rendimiento biomasa/sustrato. Para una misma temperatura, el coeficiente Y_{XS} presentó el valor más bajo para el fenol, mientras que en el caso de la C-ONA se llegó a alcanzar un valor superior incluso al obtenido para el AcNa.

Tabla 3.4. Valores del rendimiento biomasa/sustrato para fenol, C-OL y C-ONA a diferentes temperaturas.

T (°C)	AcNa		Fenol		Ciclohexanol		Ciclohexanona	
	Y_{XS}	R^2	Y_{XS}	R^2	Y_{XS}	R^2	Y_{XS}	R^2
15			0,48	0,998	0,58	0,993	0,58	0,998
20	0,68	0,998	0,50	0,999	0,57	0,999	0,59	0,999
25			0,55	0,998	0,56	0,995	0,69	0,995
30	0,73	0,999	0,58	0,993	0,71	0,999	0,75	0,998
35			0,58	0,996	0,64	0,999	0,66	0,997

Los valores de rendimiento biomasa/sustrato obtenidos para fenol en el presente trabajo se encontraron en concordancia con los publicados en la literatura para fangos activos, que se encuentran entre 0,48 (Kumaran et al. 1997) y 0,60 (Nuhoglu et al. 2005). Diferentes autores han estudiado la influencia de la concentración inicial de fenol sobre el coeficiente Y_{XS} para *P. putida*, obteniendo valores entre 0,94 y 0,43 para concentraciones iniciales de fenol de 25 a 800 mg L⁻¹ (Wang et al. 1999) y en el intervalo de 0,80 a 0,52 al emplear de 54 a 700 mg L⁻¹ (Reardon et al. 2000).

3.4. Conclusiones

El estudio respirométrico de la cinética de degradación biológica de fenol, C-OL y C-ONA mostró que el fenol se degrada a una mayor velocidad que sus derivados hidrogenados, aunque se trata del compuesto más inhibitorio para la biomasa y presenta un menor rendimiento biomasa/sustrato. En general, el aumento de la temperatura permitió un aumento de la $VECO_{max}$ y el Y_{XS} , retrasando la aparición de efectos inhibitorios al emplear concentraciones iniciales de sustrato elevadas. Los ensayos realizados con C-ONA a las temperaturas más altas mostraron una inhibición de la biomasa notablemente baja, incluso empleando concentraciones elevadas. Aunque los tres compuestos estudiados pueden eliminarse de las aguas residuales en una concentración del orden de 300 mg L⁻¹ empleando un tratamiento biológico con biomasa aclimatada, puede ser recomendable llevar a cabo un tratamiento previo mediante hidrogenación para transformar el fenol a C-OL y C-ONA, que, al ser menos inhibitorios para la biomasa aclimatada, facilitarían el tratamiento biológico.

Diurón
Atrazina
SB-
SBR
MCPA
Glucosa

IV. Degradación de herbicidas mediante reactores biológicos avanzados

*Cause it makes me that much stronger
Makes me work a little bit harder
It makes me that much wiser
So thanks for making me a fighter*

FIGHTER (Christina Aguilera)

IV. Degradación de herbicidas mediante reactores biológicos avanzados

4.1. Introducción

En la naturaleza existe una gran variedad de compuestos orgánicos que, por sus características, pueden degradarse a través de diferentes procesos, químicos, fotoquímicos o biológicos. La introducción por parte del hombre de compuestos de síntesis cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente, denominados xenobióticos, ha generado problemas de contaminación debido a que, dada su estructura inusual, algunos de estos compuestos pueden llegar a persistir en la biosfera durante largos períodos de tiempo, siendo recalcitrantes a la biodegradación. La razón fundamental de que muchos de estos compuestos sintéticos no sean fácilmente biodegradables radica en la gran estabilidad de su estructura química, e incluso aquellos que tienen estructuras similares a las naturales pueden sufrir modificaciones que los hacen muy estables (Kolpin et al. 2000, Quintana et al. 2005).

A pesar de la complejidad de su estructura química, algunos xenobióticos pueden ser degradados por determinados microorganismos (Horvath 1972). Cuando una población microbiana se pone en contacto por primera vez con un xenobiótico, tiene lugar un determinado período de inducción o ajuste bioquímico, en un proceso conocido como aclimatación, tras el cual el compuesto puede degradarse (Buitron et al. 1996, Mangat et al. 1999, Chong et al. 2007). La aclimatación de la

biomasa en un reactor biológico puede explicarse a partir de la selección natural de microorganismos especializados (Wiggings et al. 1987, Hu et al. 1998), lo cual se puede facilitar mediante el empleo de condiciones de operación que favorezcan el desarrollo de los microorganismos capaces de degradar el compuesto a tratar (Martin-Hernandez et al. 2009).

La duración de la fase de aclimatación puede variar de horas a semanas e incluso meses. Por lo general, cuando el proceso de aclimatación implica la presencia de enzimas inducidas, ocurre en períodos relativamente cortos, de minutos a días, pero cambios más significativos, como la modificación de la estructura de las enzimas o la aparición de mutantes, suelen conllevar mucho más tiempo (Buitron et al. 1995). La duración de la etapa de aclimatación no sólo depende del compuesto a tratar, sino también de la cantidad y origen del inóculo (Moreno et al. 2004), ya que la diversidad de la población microbiana del fango activo, que facilita la posibilidad de aclimatación, varía con la composición del medio con el que ha estado en contacto con anterioridad. Las condiciones en las que tiene lugar el proceso también afectan a la duración del período de aclimatación. Por ejemplo, la presencia de sustratos biogénicos, que pueden proporcionar un mayor crecimiento y energía, puede dar lugar a un crecimiento diáuxico si se consume preferentemente el sustrato biogénico (Lendenmann et al. 1996), o bien facilitar la posibilidad de que la comunidad microbiana sea capaz de degradar un compuesto estructuralmente similar (Hess et al. 1990, Chong et al. 2012).

El presente capítulo se centra en el estudio de la degradación biológica de compuestos xenobióticos empleados como herbicidas en la agricultura. La limitada biodegradabilidad de estos compuestos implica su presencia en los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales de todo el mundo, detectándose en torno a 20 ng L⁻¹ de 2,4-D y 100 ng L⁻¹ de MCPA en Suiza (Ollers et al. 2001); diurón, 2,4-D y MCPA en concentraciones de 0,05 a 1,95 µg L⁻¹ en Japón (Hu et al. 1999) y hasta 10,6 µg L⁻¹ de MCPA en Alemania (Peschka et al. 2005). En España se detectaron, entre otros contaminantes emergentes, atenolol (2,4 µg L⁻¹), cafeína (1,6 µg L⁻¹) y diurón (81 ng L⁻¹) en el efluente de tratamiento de la EDAR de Alcalá de Henares (Madrid) (Rosal et al. 2010).

El estudio de procesos biológicos avanzados destinados a evitar o disminuir la presencia de compuestos emergentes en los efluentes de tratamiento de aguas residuales se ha extendido significativamente en los últimos años. En este contexto, los reactores secuenciales discontinuos (SBR) han experimentado un auge importante a nivel mundial en los últimos años en el tratamiento de efluentes industriales procedentes del sector alimentario (Mace et al. 2002), refinerías (Lee et al. 2004), papeleras (LeBlanc 1998) o lixiviados de vertederos (Kliumiuk et al. 2006), entre otros. Entre las ventajas que ofrece este tipo de reactores destaca su facilidad y flexibilidad de operación (Wilderer et al. 2001) y, además, permiten emplear condiciones aerobias y anóxicas a lo largo del ciclo de operación, lo que les confiere una importante capacidad de eliminación de nutrientes (Lee et al. 2001). Sin embargo, los SBR también cuentan con desventajas, entre las que destacan el envejecimiento de los lodos, el *bulking* (o esponjamiento de fangos), o el *foaming* (elevada espumosis superficial), que ocasionan la pérdida de biomasa del reactor.

Los reactores biológicos de membrana (MBR) se presentan como una atractiva alternativa, ya que permiten una elevada retención de partículas y microorganismos en comparación con los sistemas convencionales de fangos activos y los SBR, lo que proporciona una alta calidad al efluente obtenido (vanDijk et al. 1997, Jeffrey et al. 1998). Además, pueden operar con un elevado tiempo de residencia celular y una alta concentración de biomasa, lo que facilita el proceso de aclimatación de los microorganismos (Ghyoot et al. 2000, Wei et al. 2003). Sin embargo, al tratarse de sistemas continuos, existen dificultades operacionales para llevar a cabo el tratamiento de aguas residuales industriales, ya que se pueden producir variaciones en caudal, concentración y temperatura. El ensuciamiento de la membrana (*fouling*) es el principal problema al que se enfrenta la aplicación de los MBR, ya que el mantenimiento y lavado de las membranas implica un aumento de los costes del tratamiento. Existen diferentes estrategias para mitigar el *fouling*, entre las cuales se encuentran el empleo de elevados caudales de aereación o la utilización de biomasa soportada para reducir el depósito sobre la membrana, la aplicación de retrolavados periódicos para desprender parte de la biomasa

depositada y el filtrado intermitente o “relajación” de la membrana. En este sentido, el empleo de reactores biológicos secuenciales de membrana (Sequencing Batch Membrane Bioreactors, SB-MBR) puede suponer una ventaja significativa ya que integra las ventajas de ambos tipos de reactores, limitando el ensuciamiento de la membrana (Laera et al. 2011).

Pese a existir un número de trabajos relativamente amplio sobre la degradación biológica de herbicidas, la mayoría se centran en el estudio en discontinuo de cepas puras o mixtas, centrándose en la evaluación de aspectos bioquímicos o genéticos (Smejkal et al. 2001, Wackett et al. 2002, Qiao et al. 2003) y existe limitada información sobre la posibilidad de degradación de los mismos en reactores biológicos. En este contexto, el presente capítulo tiene por objetivo evaluar el empleo de dos reactores biológicos avanzados, SBR y SB-MBR, para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con herbicidas clorados como diurón, atrazina, 2,4-D y MCPA.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Reactores secuenciales discontinuos

Los reactores empleados están contruidos en vidrio, con sección cilíndrica y un volumen de 3 L, aereados mediante compresores y difusores cerámicos utilizando un caudal de 9 L min⁻¹, agitados mecánicamente mediante rotores tipo hélice, a una velocidad aproximada de 200 rpm, y equipados con sondas de pH y oxígeno disuelto, esta última para evaluar la actividad de la biomasa a través de respirometría (Figura 4.1). Los reactores están termostatizados con una camisa exterior con recirculación de agua, para mantener la temperatura en torno a 30°C. La alimentación de influente y extracción de efluente, así como la adición de NaOH (12 M) para controlar el pH, se realizó mediante bombas peristálticas (Seko PR4).

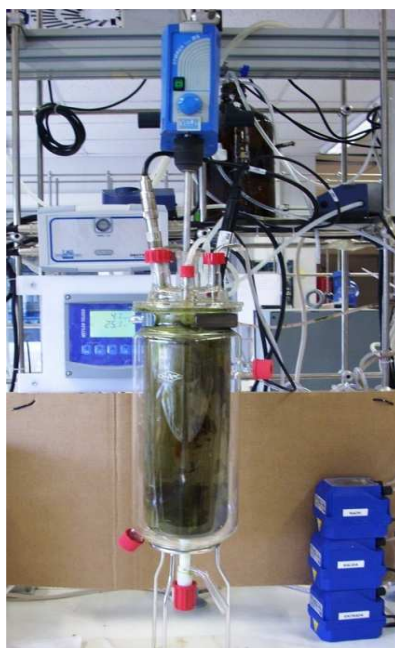


Fig. 4.1. Imagen de uno de los reactores secuenciales discontinuos utilizados.

La concentración de biomasa se mantuvo en torno a 4 g SSV L⁻¹, empleando un tiempo de retención celular (t_{RC}) de 30 d. Los reactores se operaron en secuencias de 24 h, con un t_{RH} de 6 d. La Figura 4.2 refleja la duración de las etapas de cada uno de los ciclos de tratamiento, que se sucedieron cíclicamente gracias a la automatización de los diferentes componentes mediante el empleo de un software informático (Deutechno S.L.), que permitió registrar la VECO durante la etapa de reacción de cada ciclo.

Llenado	Reacción	Sedimentación	Vaciado
1 h (anoxia)	21,75 h (aeración)	1 h	0,25 h

Fig. 4.2. Duración de las etapas del ciclo de tratamiento en SBR.

Los SBR se emplearon en el tratamiento de diurón, atrazina, 2,4-D y MCPA. La concentración tratada de herbicida se seleccionó de acuerdo con la concentración inicial evaluada en el test Zahn Wellens de biodegradabilidad inherente (30 mg L⁻¹ para diurón y atrazina y 50 mg L⁻¹ para 2,4-D y MCPA), siendo ésta menor a la EC₅₀ determinada para cada compuesto. De esta forma, se utilizó una carga de herbicida de 1,25 g kg⁻¹ SSV d⁻¹ para diurón y atrazina y de 2,08 g kg⁻¹ SSV d⁻¹ en el

tratamiento de 2,4-D y MCPA. Además del herbicida a tratar, el influente contenía glucosa como sustrato biogénico para mantener una carga másica (C_m) de 0,20 kg DQO kg^{-1} SSV d^{-1} , y sulfato amónico, ácido fosfórico y sales minerales (CaCl_2 , FeCl_3 , KCl y MgSO_4) en proporción DQO:N:P:micronutrientes 100:5:1:0,05.

La evolución de la concentración residual de herbicida en el efluente permitió evaluar la degradación biológica de los compuestos estudiados, analizándose también la conversión de materia orgánica en forma de DQO y COT.

4.2.2. Reactor secuencial de membrana

El reactor de membrana utilizado está construido en polimetacrilato de metilo, con un volumen de 6 L, sección rectangular y fondo inclinado (Figura 4.3). Se empleó una membrana de fibra hueca (Zenon Europe Kft. Module ZW1 175) de 50 x 175 mm, con un diámetro de poro de 0,2 μm y una superficie de filtración de 0,093 m^2 . La membrana está compuesta por una serie de tubos de 1,0 mm de diámetro interno y 1,8 mm de diámetro externo, con salida para la succión del efluente filtrado y entrada de aire que, al salir entre los tubos, permitió disminuir el depósito de biomasa sobre las paredes de los mismos. Para lograr una adecuada aereación se utilizó una electroválvula (Elite 820), realizando la introducción del aire a través de difusores cerámicos situados en el fondo del reactor. La temperatura se mantuvo controlada en torno a 30°C por medio de un calentador automático interno. La introducción de influente y extracción del filtrado se llevó a cabo mediante bombas peristálticas (Seko PR4).



Fig. 4.3. Imagen del SB-MBR utilizado.

La concentración de biomasa se mantuvo en torno a 8 g SSV L⁻¹, empleando un t_{RC} de 60 d. Al igual que en el sistema SBR, se operó en secuencias de 24 h, con un t_{RH} de 6 d. La Figura 4.4 refleja la duración de las etapas de cada uno de los ciclos de tratamiento, que se sucedieron cíclicamente gracias a la automatización de los diferentes componentes mediante el empleo de programadores con temporizador (Bricolux). La duración de la etapa de reacción fue de 1 h más al día respecto de la empleada en los SBR, ya que no fue necesaria la sedimentación del lodo para llevar a cabo la extracción del efluente clarificado. Además, no existieron períodos de ausencia de aereación, ya que la aereación continuada es un requisito imprescindible para reducir el ensuciamiento de la membrana.

Llenado	Reacción	Vaciado
1h	22,75 h	0,25 h

Fig. 4.4. Duración de las etapas de los ciclos de tratamiento en SB-MBR.

El SB-MBR se utilizó en el tratamiento de 2,4-D, empleando la misma carga que la ensayada en el SBR (2,08 g kg⁻¹ SSV d⁻¹) y se aumentó hasta 4,16 g kg⁻¹ SSV d⁻¹ una vez la biomasa fue capaz de eliminar el herbicida. Estas cargas se corresponden con una concentración de 2,4-D en influente de 50 y 100 mg L⁻¹, respectivamente. Además del herbicida a tratar, el influente contenía glucosa como sustrato biogénico para mantener una C_m de 0,20 kg DQO kg⁻¹ SSV d⁻¹, y sulfato amónico, ácido fosfórico y sales minerales (CaCl₂, FeCl₃, KCl y MgSO₄) en proporción DQO:N:P:micronutrientes 100:5:1:0,05.

La evolución de la concentración residual de 2,4-D en el efluente permitió evaluar la degradación biológica del herbicida, analizándose también la conversión de materia orgánica en forma de DQO y COT. La evolución de la VECO a lo largo de un ciclo de tratamiento se determinó empleando el respirómetro discontinuo de medida en fase líquida descrito en el capítulo II (apartado 2.2.3).

4.2.3. Inóculo

El inóculo empleado en los reactores se tomó del reactor biológico de fangos activos de una planta de tratamiento de aguas residuales industriales, al cual se

incorporó fango activo procedente del SBR de mantenimiento de biomasa no aclimatada alimentado con acetato sódico y glucosa (apartado 2.2.1 del capítulo II), empleando una relación 2:1 g SSV de cada uno de ellos.

4.2.4. Métodos analíticos

La concentración de carbono orgánico total (COT) se cuantificó mediante un equipo COT-Vcsh, de Shimadzu, que permite determinar la concentración de carbono total (CT) y carbono inorgánico (CI), calculando por diferencia el carbono orgánico total de la muestra analizada. La determinación de la DQO se llevó a cabo siguiendo el protocolo 5220A (APHA 1992). La biomasa se analizó gravimétricamente midiendo los sólidos en suspensión volátiles, de acuerdo con lo establecido en el método 2540E (APHA 1992).

La concentración de herbicidas se analizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección UV, de acuerdo con el método detallado en el capítulo II (apartado 2.2.9). La concentración de glucosa también se determinó a través de cromatografía HPLC, utilizando un detector de índice de refracción Varian 350 y un módulo de interfase Star 800. La fase móvil estuvo compuesta por una disolución de H_2SO_4 0,025 N, empleando un caudal de 1 mL min^{-1} y como fase estacionaria se utilizó resina de intercambio catiónico, con un tamaño de partícula de relleno de $9 \mu\text{m}$ (Varian Metacarb 67H), empaquetada en una columna de 30 cm de longitud con un diámetro interior de 6,5 mm.

4.3. Resultados y discusión

La aclimatación de la biomasa a diurón, atrazina, MCPA y 2,4-D se evaluó a través de la concentración residual de herbicida en los efluentes de tratamiento obtenidos en los sistemas SBR y SB-MBR. En el Anexo III se recogen los valores de concentración herbicida en el reactor al inicio de la etapa de reacción y en el efluente, así como la conversión obtenida en cada ciclo.

4.3.1. Tratamiento biológico de herbicidas en SBR

4.3.1.1. Tratamiento de diurón en SBR

El diurón se sometió a tratamiento biológico en SBR empleando una carga de herbicida de $1,25 \text{ g kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$ y una C_m total de $0,20 \text{ kg DQO kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$ durante 187 d. La Figura 4.5 muestra la concentración inicial en el reactor y residual en el efluente, analizadas a lo largo del período de experimentación. La eliminación del herbicida presentó diferentes fases. Inicialmente, la biomasa fue incapaz de degradar el diurón, apreciándose la acumulación del herbicida hasta alcanzar una concentración en el interior del reactor cercana su límite de solubilidad (30 mg L^{-1}) en el ciclo 35. Una vez la biomasa fue capaz de degradar el compuesto, se observó una significativa disminución de la concentración de herbicida en el efluente. La degradación de diurón aumentó hasta alcanzar una concentración residual constante durante los últimos 25 ciclos de tratamiento, correspondiéndose con una conversión de diurón en el reactor de aproximadamente el 25% y una eficiencia de eliminación del 66%, teniendo en cuenta la concentración de herbicida introducida en el influente (30 mg L^{-1}). La eliminación de DQO y COT se mantuvo en el intervalo entre el 70 y el 92%, con un valor promedio del 84%.

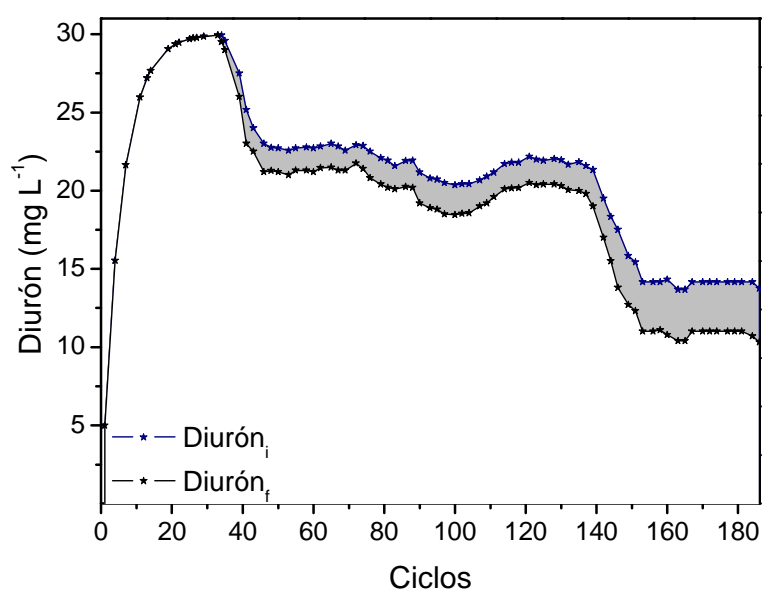


Fig. 4.5. Evolución de la concentración de diurón al inicio y al final de cada ciclo durante el tratamiento del herbicida mediante SBR.

Los resultados obtenidos en el tratamiento de diurón en SBR mostraron una menor conversión final que la obtenida en el ensayo de biodegradabilidad inherente abordado en el capítulo II, en el que se logró un 30% de eliminación en 28 d. Algunos autores han concluido que la presencia de sustratos biogénicos no garantiza la mejora de la eliminación de los compuestos difícilmente biodegradables. Kulkarni et al. (2006) observaron que la velocidad de degradación del p-nitrofenol disminuye con la adición de glucosa. Hu et al. (2005) concluyeron que la adición de un sustrato biogénico disminuye la velocidad de degradación de 4-CF y aumenta la del 2,4-diclorofenol, lo cual indica que la respuesta a la presencia de cosustratos depende de la naturaleza de los compuestos estudiados. En el presente estudio, el empleo de glucosa como sustrato biogénico dificultó la degradación del herbicida. Sin embargo, el mantenimiento de la biomasa del reactor no hubiera sido posible empleando únicamente diurón como fuente de carbono, siendo necesaria la adición de un sustrato de crecimiento.

En la literatura existen escasas referencias sobre la degradación en reactores biológicos de los herbicidas estudiados, ya que la mayoría se centran en la eliminación en suelos (Barriuso et al. 1997, Cullington et al. 1999) o bien mediante cepas especializadas (Tixier et al. 2002). Rosal et al. (2010) estudiaron la degradación de compuestos emergentes en la EDAR de Alcalá de Henares (Madrid), observando una eliminación de diurón del 62%. También se ha evaluado el tratamiento de diurón en reactores SBR, añadido al influente de la propia EDAR de la cual se obtuvo el inóculo (Stasinakis et al. 2009). Tras un período de 140 h, se obtuvieron valores de conversión del herbicida en torno al 50%. La amplia variedad en la duración de la etapa de aclimatación y los valores de conversión empleados pone de manifiesto la importancia de las condiciones en las que se lleva a cabo el tratamiento, tanto por el origen del inóculo como por el tipo de reactor y sustrato biogénico empleado, así como por la concentración de herbicida tratada.

Una vez lograda una degradación estable de diurón en el sistema biológico, se determinó la evolución de la concentración de herbicida y glucosa, así como la actividad de los microorganismos a través de la VECO durante la etapa de reacción.

La Figura 4.6 muestra los resultados obtenidos a lo largo del último ciclo de tratamiento de diurón en el SBR.

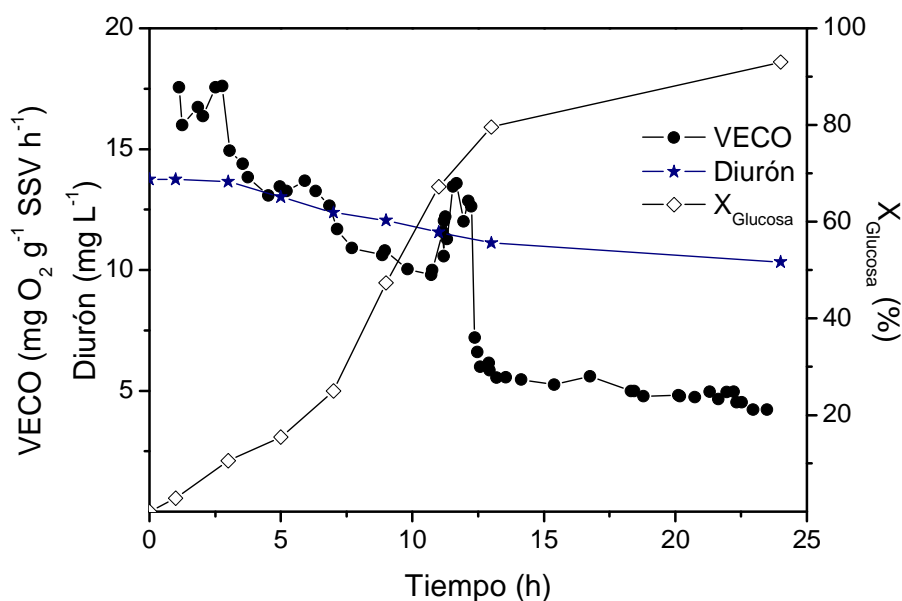


Fig. 4.6. Evolución de la VECO, concentración de diurón y conversión de glucosa observada durante el último ciclo de tratamiento del herbicida en SBR.

La evolución de la VECO responde a la eliminación de la principal fuente de carbono, la glucosa. El perfil respirométrico mostró una elevada actividad inicial, que se ralentizó progresivamente conforme la materia orgánica fue degradándose. La eliminación de glucosa y herbicida tuvo lugar de forma simultánea durante las primeras horas de ensayo, reflejando la ausencia de crecimiento diáuxico, ya que la biomasa aclimatada fue capaz de emplear ambas fuentes de carbono. La degradación de diurón fue progresiva a lo largo de las 24 h de ensayo, obteniéndose una conversión final del 25%.

4.3.1.2. Tratamiento de atrazina en SBR

La atrazina se sometió a tratamiento biológico en SBR empleando una carga de herbicida de 1,25 g kg⁻¹ SSV d⁻¹ y una C_m total de de 0,20 kg DQO kg⁻¹ SSV d⁻¹, analizándose la concentración inicial de herbicida en el reactor y la concentración residual en los efluentes obtenidos a lo largo de 187 d de experimentación (Figura 4.7). La concentración de atrazina en el interior del reactor aumentó durante los primeros ciclos, acumulándose hasta alcanzar un valor cercano a 30 mg L⁻¹. A

partir del ciclo 32, la eliminación de atrazina experimentó un aumento progresivo hasta alcanzar una concentración residual en torno a 7 mg L^{-1} al final del período de experimentación, correspondiéndose con una eficiencia de eliminación del 77%. Los valores de conversión de atrazina también mostraron un aumento progresivo hasta alcanzar un 36% en el último ciclo de tratamiento. Este valor resultó ligeramente superior al alcanzado en el test Zahn Wellens de biodegradabilidad inherente (29%). Sin embargo, es destacable que, en el tiempo de duración del ensayo (28 d), la biomasa del SBR era aún incapaz de degradar el herbicida, debido a que el consumo de glucosa retrasó la eliminación del compuesto estudiado. Durante el período de experimentación, la eliminación de materia orgánica promedio se encontró en un 88%, variando en un intervalo del 77 al 93%.

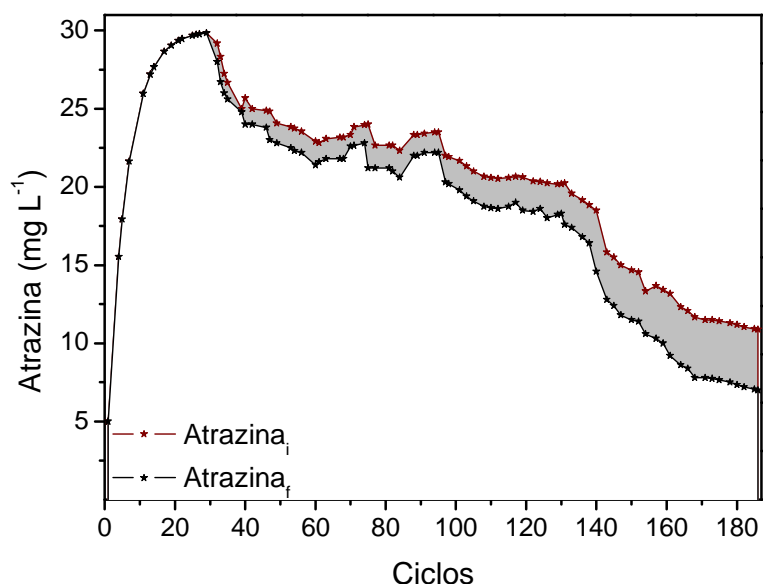


Fig. 4.7. Evolución de la concentración de atrazina al inicio y al final de cada ciclo durante el tratamiento del herbicida mediante SBR.

El empleo de sistemas biológicos para la eliminación de atrazina se ha estudiado principalmente empleando cepas puras de microorganismos, especializadas en la degradación del herbicida (Wackett et al. 2002). Feakin et al. (2005a) llevaron a cabo el tratamiento de atrazina ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) a través de la bioaugmentación de un reactor de biomasa inmovilizada con especies de bacterias capaces de degradar herbicidas derivados de la triazina (*Rhodococcus rhodochrous* y *Acinetobacter junii*), logrando una eliminación del herbicida del 53% después de 18 d. Por tanto,

la bioaugmentación de reactores biológicos para el tratamiento de atrazina permitiría disminuir la duración del período de aclimatación y aumentar ligeramente la eliminación del herbicida.

La Figura 4.8 muestra el respirograma obtenido durante el último ciclo de tratamiento de atrazina en el SBR, así como la evolución de la concentración de herbicida y glucosa a lo largo de las 24 h de ensayo. La actividad de los microorganismos fue especialmente importante durante las 2 primeras horas de reacción, ralentizándose progresivamente hasta el final del ensayo, lo cual coincide con el consumo del sustrato biogénico. La eliminación de atrazina fue mayor durante la primera mitad del ciclo de tratamiento, coincidiendo con una actividad de los microorganismos más elevada, y alcanzando un valor final de conversión del 36%.

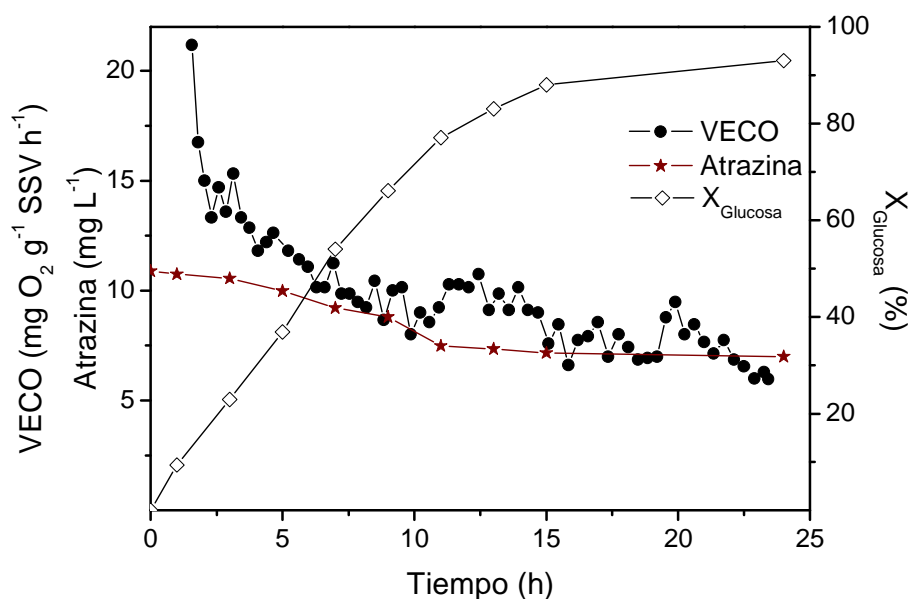


Fig. 4.8. Evolución de la VECO, concentración de atrazina y conversión de glucosa observada durante el último ciclo de tratamiento del herbicida en SBR.

4.3.1.3. Tratamiento de MCPA en SBR

La Figura 4.9 recoge la concentración de herbicida analizada al comienzo y final de ciclo a lo largo del período de experimentación en el tratamiento de MCPA en un reactor SBR empleando una carga de herbicida de 2,08 g kg⁻¹ SSV d⁻¹ y una C_m total de de 0,20 kg DQO kg⁻¹ SSV d⁻¹. El herbicida comenzó a eliminarse de forma

apreciable a partir del ciclo 4 de tratamiento, por lo que la concentración de herbicida acumulada en el interior del reactor no alcanzó el valor de concentración introducida en el influente (50 mg L^{-1}), como ocurrió con los herbicidas estudiados anteriormente. La concentración residual de MCPA en el efluente en el último ciclo ensayado alcanzó un valor de $6,8 \text{ mg L}^{-1}$, lo que supone una eficiencia en la eliminación de un 86%. Los valores de conversión obtenidos fueron en aumento durante los 112 d de experimentación, alcanzando el 53% al final del estudio. Este valor resultó nuevamente inferior al obtenido en el test de biodegradabilidad inherente (capítulo II), en el que se logró una eliminación del 95% de la concentración ensayada de MCPA en 28 d. La degradación de materia orgánica durante el período de tratamiento de MCPA en el reactor SBR se encontró en un intervalo entre el 76 y el 93%, con un valor promedio del 88%.

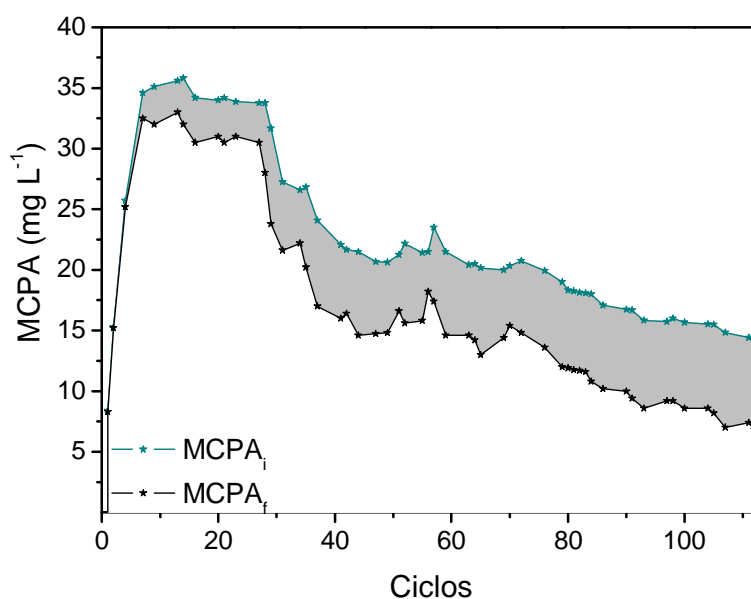


Fig. 4.9. Evolución de la concentración de MCPA al inicio y al final de cada ciclo durante el tratamiento del herbicida mediante SBR.

Existen diferentes géneros de bacterias, como *Alcaligenes*, *Ralstonia*, *Variovorax* y *Burkholderia* que, de forma aislada, son capaces de degradar MCPA (Smejkal et al. 2001). La eliminación de este herbicida mediante fangos activos suele resultar menos efectiva, alcanzando un 41% de conversión en el tratamiento en EDAR (Seel et al. 1994). Este valor, inferior al observado en el presente trabajo, podría sugerir

que el empleo de reactores avanzados como los SBR permite una ligera mejora del rendimiento del tratamiento de este compuesto en aguas residuales.

La Figura 4.10 muestra los resultados obtenidos en la evaluación de la VECO y la concentración de glucosa y MCPA durante el último ciclo de tratamiento del herbicida en SBR. La actividad de los microorganismos fue especialmente significativa durante las 10 primeras horas de ensayo, período en el cual se eliminó la mayor parte del sustrato biogénico y una notable concentración de MCPA. La degradación de ambos sustratos continuó hasta el final del ensayo (alcanzándose un 53% de conversión de MCPA), aunque la actividad de los microorganismos fue disminuyendo progresivamente.

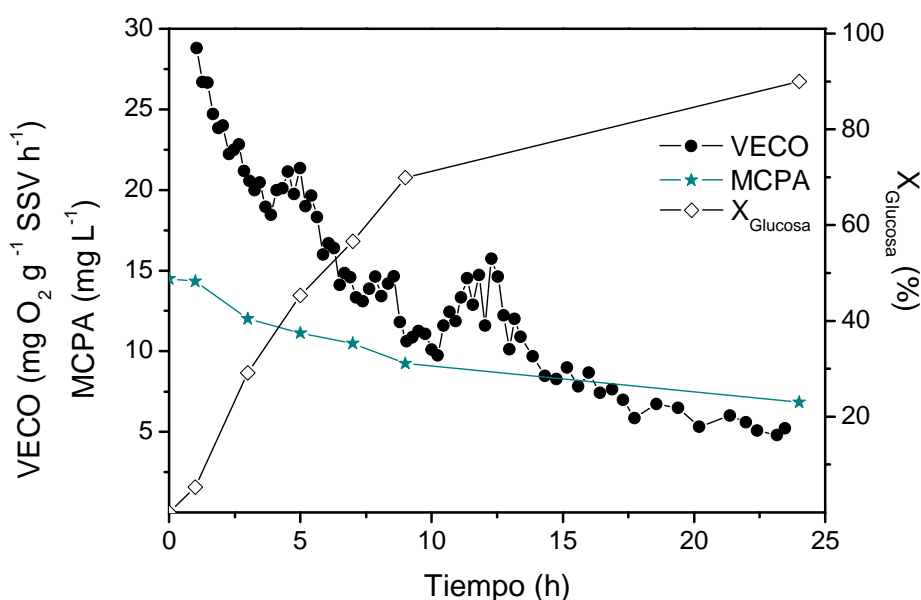


Fig. 4.10. Evolución de la VECO, concentración de MCPA y conversión de glucosa observada durante el último ciclo de tratamiento del herbicida en SBR.

4.3.1.4. Tratamiento de 2,4-D en SBR

La concentración de herbicida analizada al comienzo y final de la etapa de reacción se recoge en la Figura 4.11 para el tratamiento de 2,4-D en el reactor SBR empleando una carga de herbicida de 2,08 g kg⁻¹ SSV d⁻¹. La biomasa mostró un período de aclimatación de 15 d en el cual no se apreció degradación del compuesto, acumulándose en el interior del reactor hasta alcanzar una concentración en torno a 48 mg L⁻¹. Una vez los microorganismos fueron capaces

de emplear el 2,4-D como sustrato, su concentración en el efluente disminuyó hasta alcanzar un valor en torno a los 22 mg L⁻¹ en el ciclo 97, período en el cual la conversión del compuesto aumentó hasta el 17%. En la última fase de tratamiento la degradación de herbicida aumentó de forma significativa hasta alcanzar una conversión del 77% en los últimos ciclos ensayados, obteniéndose una concentración residual de 2,4-D inferior a 5 mg L⁻¹. Este valor se corresponde con una eficacia de eliminación del herbicida del 95%, significativamente mayor a la obtenida para los demás compuestos ensayados. La eliminación de materia orgánica durante el período de experimentación varió en el intervalo del 76 al 95%, con un valor promedio del 88%.

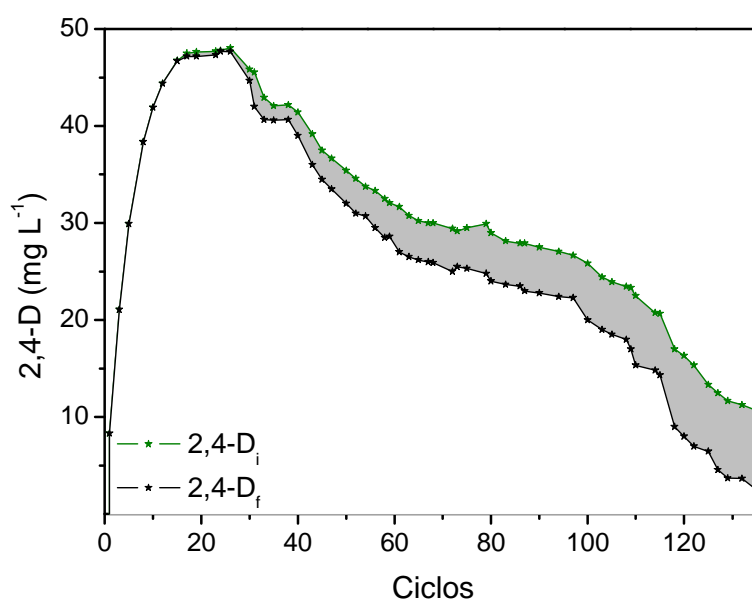


Fig. 4.11. Evolución de la concentración de 2,4-D al inicio y al final de cada ciclo durante el tratamiento del herbicida mediante SBR.

A pesar de que los resultados obtenidos fueron significativamente mejores que los logrados para los compuestos anteriores, el valor de conversión observado después de más de 130 d de experimentación fue menor de lo que cabría esperar a partir del resultado obtenido en el ensayo de biodegradabilidad inherente (capítulo II), en el que se logró una degradación de 2,4-D del 98% en 28 d.

La eliminación de 2,4-D mediante fangos activos en una planta de tratamiento de aguas residuales mostró valores de conversión en torno al 53% (Seel et al. 1994),

inferiores a los obtenidos en el presente trabajo empleando un SBR. Mangat et al. (1999) llevaron a cabo el tratamiento biológico de 2,4-D en SBR utilizando dos sustratos complementarios diferentes, fenol y dextrosa. Una vez alcanzado el estado estacionario, después de un período de aclimatación de 4 meses, se obtuvieron eficacias en torno al 95%.

Celis et al. (2008) estudiaron la degradación biológica de 2,4-D en SBR empleando glucosa como sustrato biogénico. Se observó un período de 3 semanas desde la adición de 100 mg L⁻¹ de 2,4-D hasta las primeras evidencias de degradación, lográndose la completa eliminación del herbicida en estado estacionario tan sólo cinco días después. En este caso, el empleo de una mayor concentración inicial implicó un período de latencia mayor al observado en el presente estudio. Sin embargo, los resultados obtenidos una vez que la biomasa fue capaz de emplear el 2,4-D como sustrato fueron significativamente mejores a los logrados en el presente trabajo.

La Figura 4.12 muestra los resultados obtenidos en el estudio de la degradación de 2,4-D y glucosa a lo largo del último ciclo de tratamiento del herbicida.

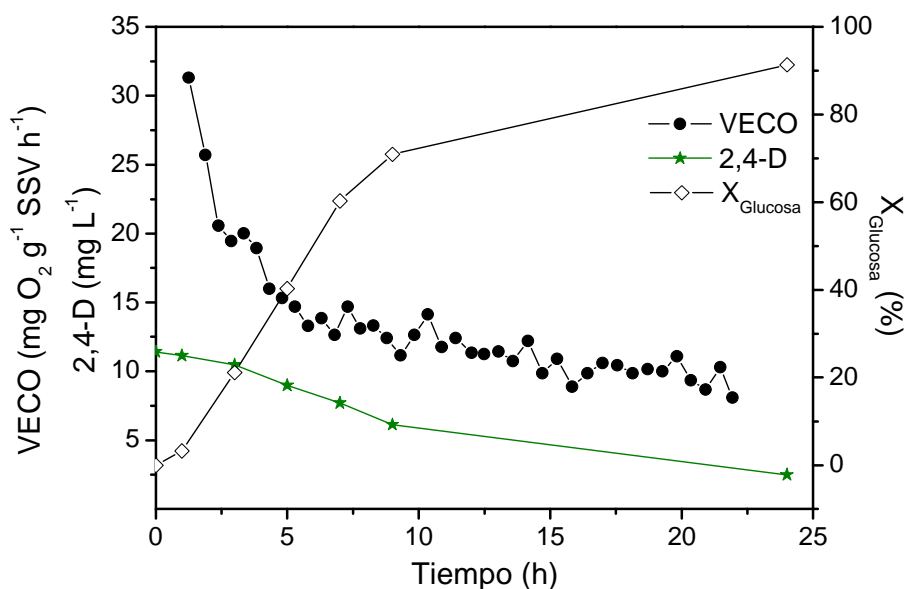


Fig. 4.12. Evolución de la VECO, concentración de 2,4-D y conversión de glucosa observada durante el último ciclo de tratamiento del herbicida en SBR.

La eliminación de 2,4-D fue progresiva a lo largo de las 24 h de ensayo, alcanzándose una conversión final del 78%. La actividad de los microorganismos resultó elevada durante las primeras horas de ensayo, correspondiéndose con una degradación más importante del sustrato biogénico, que fue ralentizándose hasta el final del ensayo.

4.3.2. Tratamiento biológico de 2,4-D en SB-MBR

A partir de los resultados obtenidos previamente en los ensayos de biodegradabilidad inherente (capítulo II), y en el tratamiento en SBR de los herbicidas estudiados, se seleccionó el 2,4-D como el compuesto que mejor puede degradarse mediante procesos biológicos, llevándose a cabo la intensificación de su tratamiento mediante el empleo de un reactor secuencial biológico de membrana.

La Figura 4.13 muestra la concentración medida de 2,4-D en el interior del reactor y en los efluentes obtenidos a lo largo del período de tratamiento empleando el sistema SB-MBR, así como la carga tratada. La concentración de herbicida en el reactor se acumuló durante los primeros ciclos de tratamiento hasta alcanzar un valor de 44 mg L⁻¹. A partir del ciclo 12, la biomasa comenzó a degradar el herbicida, por lo que la concentración de 2,4-D en los efluentes obtenidos fue disminuyendo, llegando a ser prácticamente indetectable en el ciclo 81, y manteniéndose durante 10 d por debajo de 1,5 mg L⁻¹. Estos resultados fueron significativamente mejores a los obtenidos empleando un reactor SBR, ya que disminuyó el tiempo de aclimatación de la biomasa y se consiguió la eliminación completa del herbicida. La concentración de 2,4-D en el influente se incrementó hasta 100 mg L⁻¹ a partir del ciclo 92, manteniendo la misma C_m total mediante la reducción de glucosa. El aumento de la carga de herbicida tratada provocó su acumulación en el interior del reactor durante los siguientes 12 ciclos, hasta apreciarse de nuevo una eliminación significativa del compuesto. Después de 52 d, se alcanzó un valor de conversión de 2,4-D estable superior al 95%.

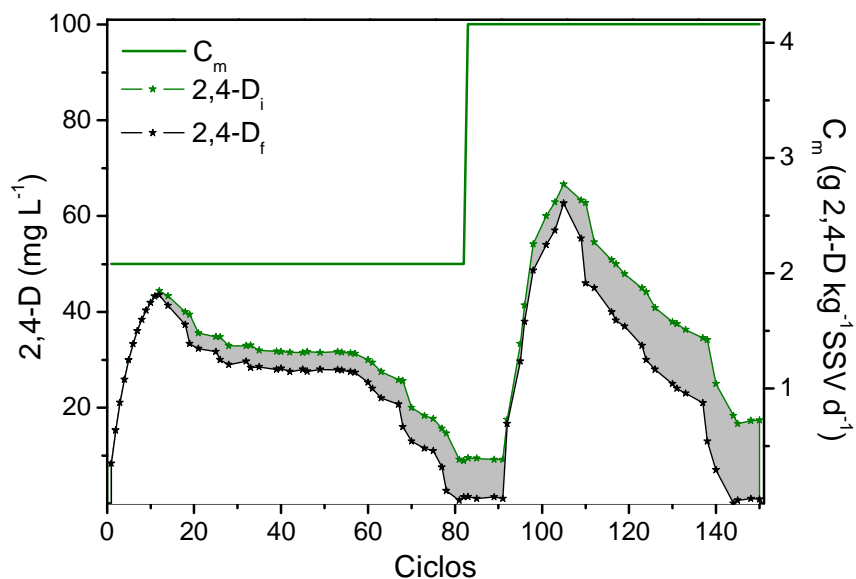


Fig. 4.13. Evolución de la concentración de 2,4-D al inicio y al final de cada ciclo durante el tratamiento del herbicida mediante SBR.

La eliminación de COT y DQO a lo largo del período de experimentación se mantuvo en torno al 91%, variando en un intervalo del 83 al 96%. Por tanto, el empleo de un reactor de tipo SB-MBR para el tratamiento de 2,4-D permitió una mejora significativa en la degradación del compuesto frente a los resultados obtenidos en SBR y también una mayor eliminación de materia orgánica.

La eficacia del empleo de reactores de membrana en el tratamiento de 2,4-D se ha puesto de manifiesto en diferentes estudios. Gonzalez et al. (2006) emplearon un MBR de placa plana en el tratamiento de un agua residual al cual se añadió de manera discontinua una serie de pesticidas ácidos, entre ellos 2,4-D y MCPA. La eliminación de ambos compuestos tuvo lugar desde el primer día de tratamiento, logrando en la primera inoculación una eficacia del 83 y 88% para 2,4-D y MCPA, respectivamente, y del 98% para ambos después de cuatro adiciones consecutivas. Buenrostro-Zagal et al. (2000) emplearon biomasa aclimatada a 2,4-D en el tratamiento de 300 mg L⁻¹ de dicho compuesto como única fuente de carbono empleando un MBR. Los resultados obtenidos mostraron un 30% de eliminación del compuesto tras tan sólo 15 min, y su completa eliminación después de 72 h. Además, la velocidad de eliminación obtenida resultó en torno a un orden de magnitud mayor que la lograda mediante el empleo de sistemas aerobios SBR

(Mangat et al. 1999) y procesos anaerobios de lecho fluidizado (Wilson et al. 1997), y dos órdenes de magnitud superior a la observada en ensayos en discontinuo empleando biomasa aerobia (Papanastasiou et al. 1982).

La Figura 4.14 muestra los perfiles respirométricos y la conversión de glucosa y 2,4-D obtenidos en los ensayos realizados durante los ciclos 91 y 151 de tratamiento del herbicida en el SB-MBR, para una carga de 2,08 (a) y 4,16 g 2,4-D kg⁻¹ SSV d⁻¹ (b), respectivamente.

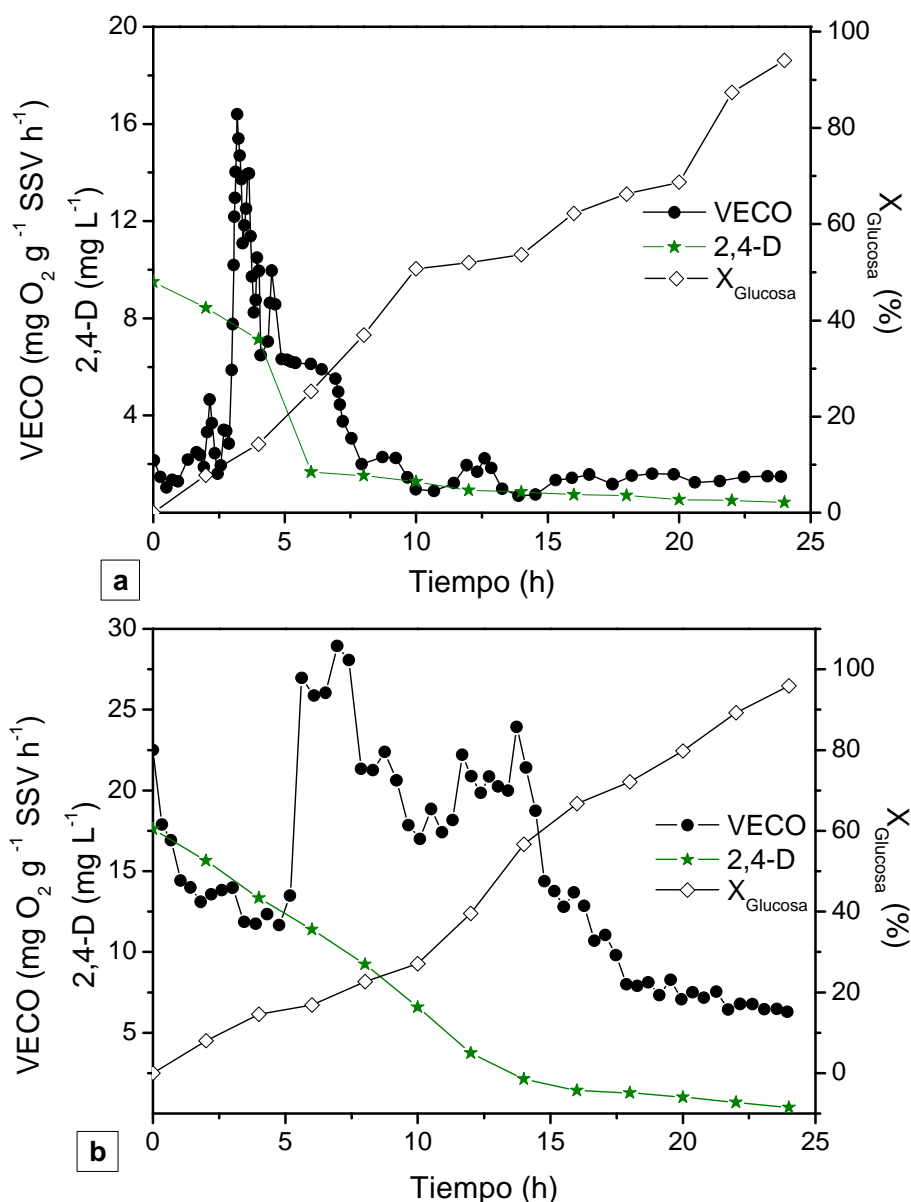


Fig. 4.14. Evolución temporal de VECO, concentración de 2,4-D y conversión de glucosa obtenidos a lo largo de un ciclo de tratamiento para una Cm de 2,08 g 2,4-D kg⁻¹ SSV d⁻¹ (a) 4,16 g 2,4-D kg⁻¹ SSV d⁻¹ (b).

El perfil respirométrico mostrado en la Figura 4.14.a evidencia una baja actividad inicial de los microorganismos, que provocó que tanto 2,4-D como glucosa se degradaran lentamente. La eliminación de 2,4-D tuvo lugar preferentemente dentro de las 6 primeras horas de ensayo, coincidiendo con los valores más altos de VECO, mientras que la eliminación de glucosa fue constante. El aumento de la concentración inicial de 2,4-D (Figura 4.14.b) implicó un consumo más progresivo del herbicida, que se eliminó a una velocidad constante durante las 15 primeras horas. Una vez la concentración de 2,4-D en el medio de reacción disminuyó por debajo de 2 mg L^{-1} , su degradación se ralentizó de manera importante.

4.4. Conclusiones

El tratamiento biológico de diurón y atrazina en un sistema SBR empleando una carga de $1,25 \text{ g kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$ presentó una primera fase de latencia de más de 30 d, en la que tuvo lugar la acumulación de los herbicidas en el reactor. Una vez la biomasa fue capaz de degradar los compuestos, se observó un aumento progresivo de los valores de conversión obtenidos, hasta alcanzar una concentración residual en los efluentes por debajo de 10 mg L^{-1} . La degradación biológica de 2,4-D y MCPA fue más rápida que en el caso de los herbicidas nitrogenados, por lo que el período de acumulación de los compuestos en SBR alcanzó únicamente un intervalo de varios días. Además, se lograron valores de conversión más elevados en menos tiempo de experimentación, especialmente en el tratamiento de 2,4-D.

El empleo de un SB-MBR para el tratamiento de 2,4-D permitió la completa eliminación del herbicida para una carga de $2,08 \text{ g kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$, reduciéndose ligeramente el tiempo de aclimatación de la biomasa. El aumento de la carga de herbicida tratada hasta $4,16 \text{ g kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$ ocasionó inicialmente la acumulación del compuesto en el reactor, aunque finalmente pudo eliminarse por completo. La degradación de 2,4-D y materia orgánica lograda empleando este sistema de tratamiento fue notablemente superior a la obtenida utilizando un SBR.

SBR
2.4-D
Biodegradabilidad
Alacloro
Atenolol
Atrazina
Acoplamiento
Intermedios
Toxicidad
MCPA
Cafeína
Fenton
Diurón

V. Eliminación de compuestos emergentes mediante el acoplamiento de procesos de oxidación avanzada y sistemas biológicos

*And though we both made our mistakes
And some we never wish we made
But we'll be okay if we just stay
Together*

TOGETHER (Ne-Yo)

V. Eliminación de compuestos emergentes mediante el acoplamiento de procesos de oxidación avanzada y sistemas biológicos

5.1. Introducción

En las últimas décadas, el incremento de la actividad industrial y la evolución demográfica de la población han generado fuertes problemas de contaminación del medio hídrico, además del aire y el suelo. La causa principal de contaminación es la síntesis incontrolada de compuestos xenobióticos que son extraños para la biosfera y cuya degradación en el medio natural es lenta. Entre estas sustancias se encuentran los compuestos emergentes, los cuales se han podido detectar en las aguas residuales gracias a las mejoras recientes en las metodologías analíticas, puesto que suelen encontrarse en concentraciones extremadamente bajas. Este grupo de compuestos engloba, entre otros, sustancias utilizadas como herbicidas en la agricultura, y los denominados PPCPs (*pharmaceuticals and personal care products*).

En la actualidad, los **herbicidas** son indispensables para la práctica de la agricultura. Sin embargo, representan un factor de riesgo, ya que se trata de sustancias generalmente tóxicas y no biodegradables, que contaminan el agua a partir de fuentes difusas como el lixiviado de los campos de cultivo, o puntuales como el lavado de envases y tanques de producción (Chiron et al. 2000). Las aguas de lavado procedentes de estas actividades industriales contienen una importante concentración de herbicidas y presentan una elevada toxicidad, por lo que deben

ser tratadas adecuadamente antes de verterse a cauce o colector urbano (Ley 10/1993).

Los **fármacos** y sus metabolitos se liberan de manera continua al sistema de saneamiento a través de la orina y las heces, no siendo eliminados de manera efectiva en los procesos biológicos convencionales utilizados en las EDAR. La descarga incontrolada de estos efluentes resulta una seria amenaza para el medio ambiente y la salud pública a través de diferentes vías, como el desarrollo de bacterias resistentes a antibióticos, retardo de la nitrificación y metanogénesis en las depuradoras y el aumento potencial de la toxicidad debido a efectos sinérgicos entre diferentes compuestos y metabolitos (Dalrymple et al. 2007).

El desarrollo de métodos eficientes para la eliminación de compuestos emergentes de las aguas residuales resulta necesario para evitar la contaminación ambiental y el daño potencial que estos compuestos pueden ejercer sobre los seres vivos. Entre las tecnologías utilizadas más extensamente en la eliminación de este tipo de contaminantes se encuentran los **procesos de oxidación avanzada (AOPs)** (Perez et al. 2006, Klavarioti et al. 2009), que se basan en la generación de especies altamente reactivas como los radicales hidroxilo. Los AOPs más ampliamente estudiados son la ozonización catalítica, el sistema O_3/H_2O_2 , la oxidación Fenton (H_2O_2/Fe^{2+}), y los procesos fotoasistidos (O_3/UV , $O_3/H_2O_2/UV$, $H_2O_2/Fe^{2+}/UV$ y UV/TiO_2) (Esplugas et al. 2002, Suty et al. 2004, Munoz et al. 2005). El uso del **reactivo Fenton**, basado en la descomposición catalítica del peróxido de hidrógeno por medio de Fe^{2+} a pH ácido para dar lugar a radicales hidroxilo, ha demostrado ser muy efectivo en el tratamiento de numerosos contaminantes en agua, como fenoles y clorofenoles (Kang et al. 2002, Martins et al. 2010), fármacos (Klavarioti et al. 2009), tintes (Szpyrkowicz et al. 2001) y diferentes aguas residuales industriales (Bautista et al. 2008). La dosificación eficiente del peróxido de hidrógeno es un parámetro crítico para la optimización económica del proceso, dado que los intermedios de reacción, especialmente los ácidos orgánicos de cadena corta, que se encuentran en un estado cada vez más oxidado, tienden a ser refractarios a la oxidación química.

La aplicación de AOPs orientada a la mineralización total puede implicar un coste extremadamente elevado en términos económicos, por lo que en los últimos años ha tenido lugar el desarrollo de **tecnologías acopladas** para la degradación eficiente de contaminantes en medio acuoso. La combinación de AOPs y sistemas biológicos se ha empleado en el tratamiento de efluentes procedentes de diversas actividades industriales como la producción de fármacos, pesticidas, papel, tintes y vino (Oller et al. 2011). Específicamente, la oxidación Fenton se ha utilizado como tratamiento preliminar para la eliminación de surfactantes (Hallmann et al. 2012), antibióticos (Elmolla et al. 2012) y pentaclorofenol (Zimbron et al. 2011). La estrategia a seguir en el tratamiento combinado depende de las características del agua residual. Las aguas residuales con una importante fracción de materia orgánica biodegradable y reducida toxicidad pueden someterse en primer lugar a tratamiento biológico y, una vez reducida la DQO, los compuestos recalcitrantes a este tratamiento pueden eliminarse mediante la aplicación de un tratamiento de oxidación química (Rosal et al. 2010). El empleo de AOPs como tratamiento previo a un sistema biológico, permitiría reducir la toxicidad y aumentar la biodegradabilidad del agua residual para, posteriormente, lograr un elevado grado de mineralización de la materia orgánica en un sistema biológico. Para optimizar económicamente el proceso combinado sería necesario limitar la intensidad del tratamiento químico minimizando el uso de reactivos, ya que una oxidación demasiado intensa generaría productos con un valor metabólico excesivamente bajo para una eliminación biológica eficiente. Sin embargo, una oxidación insuficiente podría dar lugar a intermedios estructuralmente similares al compuesto de partida, incluso más tóxicos y recalcitrantes (Osano et al. 2002, Sinclair et al. 2003, Hernando et al. 2005, Munoz et al. 2011).

La evaluación de la **toxicidad** y **biodegradabilidad** de los efluentes de oxidación resulta necesaria a la hora de determinar la dosis de reactivo más conveniente a emplear en el proceso combinado. Estos ensayos deben llevarse a cabo empleando fango activo y condiciones de operación similares a las que tendrían lugar en un reactor biológico (Rizzo 2011). La determinación de la toxicidad para fangos activos puede llevarse a cabo a través del estudio del consumo de oxígeno

mediante respirometría. Los métodos empleados normalmente para la determinación del efecto inhibitorio de compuestos se basan en la comparación de los valores de velocidad específica de consumo de oxígeno (VECO) obtenidos para la degradación de un sustrato de referencia en presencia de diferentes concentraciones del contaminante a evaluar (Ricco et al. 2004). Sin embargo, la utilización de este método en la determinación del impacto potencial de aguas residuales que, como los efluentes del proceso Fenton, poseen una fracción biodegradable, supone un problema ya que su degradación implica también un consumo de oxígeno. Por tanto, los valores de VECO obtenidos añadiendo el sustrato de referencia al agua residual objeto de estudio no pueden compararse a los obtenidos añadiendo sólo el sustrato de referencia. En ese caso, la evaluación del impacto de un agua residual sobre fango activo puede llevarse a cabo a través del método desarrollado por Guisasola et al. (2003), que permite la determinación de la **toxicidad** como el efecto negativo permanente observado en la biomasa cuando la fracción biodegradable del agua residual estudiada se ha consumido, a diferencia del método de evaluación de la **inhibición** que analiza el efecto negativo observado en la actividad de la biomasa cuando se añaden a la vez sustrato de referencia y compuesto a evaluar. Además, en este nuevo ensayo, el perfil respirométrico aporta información sobre toxicidad cuando la biomasa degrada el sustrato de referencia, y sobre **biodegradabilidad** cuando se pone en contacto fango activo y agua residual.

La eliminación de los intermedios de oxidación biodegradables generados mediante el empleo de reactivo Fenton puede llevarse a cabo empleando diferentes sistemas biológicos, como reactores secuenciales discontinuos (Farre et al. 2008, Ballesteros Martin et al. 2009b), de biomasa inmovilizada (Oller et al. 2011) o filtros aerados (Wang et al. 2012). Los **reactores secuenciales discontinuos** (SBR) han sido ampliamente utilizados en las últimas décadas (Wilderer et al. 2001, Singh et al. 2011) debido a sus bajos requerimientos de superficie y energía, facilidad de control y posibilidad de eliminación de nutrientes gracias a la sucesión de etapas anaerobias, anóxicas y aerobias en el mismo reactor (Zanetti et al. 2012). Además, la versatilidad de estos reactores permite la

modificación de las estrategias de operación y control, por lo que resultan eficaces en el tratamiento de cargas orgánicas variables (Monsalvo et al. 2009).

De acuerdo con los resultados obtenidos en el capítulo II, los herbicidas y fármacos estudiados causan, en general, una inhibición moderada sobre fango activo, siendo su biodegradabilidad escasa en la mayoría de las ocasiones. En este contexto, en el presente capítulo se propone la aplicación de reactivo Fenton en combinación con un tratamiento biológico con el objetivo de eliminar los contaminantes emergentes estudiados optimizando la dosis de peróxido de hidrógeno a emplear. La viabilidad de la combinación se evaluará a través de ensayos de toxicidad y biodegradabilidad, sometiendo los efluentes de oxidación Fenton seleccionados para cada compuesto a un sistema de tratamiento biológico en un reactor SBR para conseguir aumentar el grado de mineralización de la materia orgánica.

5.2. Materiales y métodos

5.2.1. Ensayos de oxidación Fenton

Los ensayos de oxidación mediante reactivo Fenton se llevaron a cabo a una temperatura de 30°C empleando un reactor encamisado de vidrio de 3 L, agitado mecánicamente mediante un rotor tipo hélice a una velocidad aproximada de 200 rpm. El pH inicial se ajustó a un valor de 3, ya que la reacción Fenton tiene su mayor actividad catalítica en el intervalo de pH de 2,8 a 3 (Zazo et al. 2007, Bautista et al. 2008), empleando una disolución de H₂SO₄ al 98%.

La concentración inicial de los herbicidas se fijó en un valor cercano a su límite de solubilidad, dado que pueden encontrarse en elevadas concentraciones en las aguas residuales procedentes del lavado de envases y equipos de fabricación. Los fármacos suelen encontrarse en concentraciones traza en los efluentes de tratamiento de las estaciones de depuración de aguas residuales, por lo que se sometieron a tratamiento en una concentración más baja que los herbicidas, aunque lo suficientemente elevada como para poder llevar a cabo su determinación analítica. La dosis inicial de peróxido de hidrógeno se evaluó a

partir de la cantidad estequiométrica (en términos de DQO teórica, calculada según el Anexo IV del método OECD 301 (1993)) hasta el 20% de dicha cantidad, manteniendo una relación H_2O_2/Fe^{2+} de 10/1 M. La Tabla 5.1 muestra las concentraciones añadidas de reactivos (en cantidad estequiométrica) para los diferentes compuestos estudiados.

Tabla 5.1. Concentraciones iniciales de reactivos utilizadas en el proceso Fenton para los diferentes compuestos estudiados.

Compuesto	Concentración (mg L ⁻¹)	DQO _{teórica} (mg O ₂ L ⁻¹)	H ₂ O ₂ (mg L ⁻¹)	Fe ²⁺ (mg L ⁻¹)
Diurón	27	48,2	102	17
Alacloro	180	406,1	863	142
Atrazina	27	70,2	149	122
24-D	180	195,5	415	68
MCPA	180	272,9	580	95
Atenolol	10	24,7	52	9
Cafeína	10	17,8	38	6

La evolución temporal de la concentración de cada **compuesto**, el **COT** y el **H₂O₂** a lo largo de la reacción se analizó empleando como dosis inicial la concentración estequiométrica de peróxido de hidrógeno, estableciéndose, a partir de los resultados de estos ensayos, el tiempo necesario de reacción. Para el análisis de la concentración de fármacos y herbicidas resultó necesario eliminar la concentración residual de peróxido de hidrógeno de la muestra, para lo que se añadió FeSO₄·7H₂O hasta una concentración final de 2 g Fe²⁺ L⁻¹, y NaOH 6 N para detener la reacción y poder separar el catalizador precipitado de la muestra mediante filtración (Bautista et al. 2007).

Una vez establecido el tiempo de reacción, se llevaron a cabo ensayos variando la concentración inicial de H₂O₂, en los que se analizó la composición del efluente en términos de **concentración residual de compuesto** y **H₂O₂**, **COT**, **DQO** e **intermedios de reacción**, así como su **ecotoxicidad** (Microtox®) e **índice de biodegradabilidad** (DBO₅/DQO). Los efluentes de oxidación de los herbicidas se

sometieron a ensayos de **toxicidad** y **biodegradabilidad** mediante respirometría con el objetivo de determinar su posible tratamiento empleando un sistema biológico. Las muestras sometidas a ensayos biológicos se neutralizaron empleando NaOH 6N y se filtraron para separar el catalizador precipitado.

5.2.2. Reactor secuencial discontinuo

El tratamiento biológico de los efluentes del proceso Fenton se llevó a cabo utilizando un reactor de 3 L construido en vidrio, termostatzado a 30°C mediante una camisa exterior y equipado con una sonda de oxígeno disuelto para evaluar la actividad de la biomasa a través de respirometría. La estructura y componentes del reactor se detallaron en el capítulo IV (apartado 4.2.1).

El SBR se operó con un tiempo de retención hidráulico (t_{RH}) de 0,5 d en ciclos de 8 h, con las siguientes etapas: llenado anóxico (1 h), reacción aerobia (5,5 h), decantación (1 h) y vaciado (0,5 h). El reactor operó ininterrumpidamente llevando a cabo las etapas establecidas gracias a la automatización de los diferentes componentes mediante el empleo de un software informático que, además, permitió registrar la VECO durante la etapa de reacción de cada ciclo (Deutechno S.L.). Se tomaron muestras durante el proceso biológico para determinar la concentración de intermedios de reacción, formas nitrogenadas inorgánicas, COT y DQO, y se registró el perfil de VECO durante la fase de reacción.

La concentración de biomasa se mantuvo en torno a 1 g SSV L⁻¹, empleando un tiempo de retención celular (t_{RC}) de 30 d. La carga másica tratada fue variable en función de la DQO del efluente obtenido en el proceso Fenton, ya que ésta fue la única fuente de carbono. Se añadió sulfato amónico y ácido fosfórico como fuentes de nitrógeno y fósforo, respectivamente, y sales minerales (CaCl₂, KCl y MgSO₄) como micronutrientes en proporción DQO:N:P:micronutrientes 100:5:1:0,05.

5.2.3. Inóculo

El inóculo empleado se tomó del reactor biológico de mantenimiento alimentado con acetato sódico y glucosa para favorecer el crecimiento de biomasa no

aclimatada (apartado 2.2.1 del capítulo II). Este mismo inóculo se empleó en los ensayos de toxicidad, DBO₅ y biodegradabilidad rápida.

5.2.4. Ensayos de toxicidad y biodegradabilidad

La determinación de la **toxicidad** de los efluentes del proceso Fenton para fango activo se llevó a cabo empleando el método desarrollado por Guisasola et al. (2003) para la evaluación de la toxicidad de aguas residuales con fracción biodegradable. De entre los parámetros propuestos en dicho método, como el consumo acumulado de oxígeno, tiempo de consumo o velocidad de crecimiento, el empleando como variable de estudio en el presente trabajo fue la VECO.

El método consiste en la determinación del perfil respirométrico en tres ensayos consecutivos. El primero de ellos se obtiene tras la adición de un pulso de sustrato de referencia (AcNa, 50 mg DQO L⁻¹) a una solución que contiene el inóculo (350 mg SSV L⁻¹) en medio mineral (APHA 1992) y tampón fosfato, determinándose la velocidad específica de consumo de oxígeno exógena (VECO_{exR}). Una vez consumido el sustrato de referencia, el fango activo se pone en contacto con el efluente obtenido en la oxidación Fenton, y se analiza su **biodegradabilidad** a través del nuevo perfil respirométrico obtenido y de la conversión de COT, de acuerdo con el procedimiento de biodegradabilidad rápida establecido en el apartado 2.2.6 del capítulo II. Pasadas 24 h de ensayo, la fracción biodegradable del efluente se ha consumido y la VECO alcanza de nuevo valores de respiración endógena. El fango activo se separa del medio de reacción mediante centrifugación a 3000 rpm durante 3 min, lavándose posteriormente con una disolución de tampón fosfato a pH 7 para impedir la lisis celular. La obtención del tercer perfil respirométrico se lleva a cabo añadiendo de nuevo un pulso de sustrato de referencia al fango activo en las mismas condiciones que al comienzo del ensayo, registrándose un nuevo valor de VECO (VECO_{exT}), a partir del cual se determina el porcentaje de toxicidad, de acuerdo con la ecuación 5.1.

$$Toxicidad(\%) = \left(1 - \frac{VECO_{exT}}{VECO_{exR}}\right) \cdot 100 \quad (5.1)$$

La determinación de la **DBO₅** para el cálculo del índice de biodegradabilidad (DBO_5/DQO) se llevó cabo empleando un equipo de Velp Scientifica siguiendo el protocolo 5210 (APHA 1992). De acuerdo con dicho procedimiento, una mezcla acuosa del agua residual y cierta cantidad de fango activo se incubó durante 5 d a una temperatura de 20°C, en ausencia de luz para evitar la producción de oxígeno por parte de microorganismos fotosintéticos. Se empleó un volumen de muestra de 400 mL y una concentración de biomasa de 75 mg SSV L⁻¹. Se añadió N-alitiourea (1,25 mg L⁻¹) para inhibir el proceso de nitrificación, tampón fosfato para mantener el pH en torno a 7,2 y micronutrientes (CaCl₂, KCl y MgSO₄) para permitir el crecimiento microbiano. Los ensayos se llevaron a cabo por triplicado para comprobar la reproducibilidad del test.

La **ecotoxicidad** se determinó siguiendo el procedimiento Microtox®, descrito en el apartado 2.2.5 del capítulo II, expresándose los resultados en términos de unidades de toxicidad (UT).

5.2.5. Métodos analíticos

La determinación de **COT** se llevó a cabo mediante un analizador COT-Vcsh, de Shimadzu (apartado 2.2.9 del capítulo II). La **DQO** se analizó siguiendo el protocolo 5220A (APHA 1992). La **biomasa** se determinó gravimétricamente midiendo los sólidos en suspensión volátiles, de acuerdo con lo establecido en el método 2540E (APHA 1992). La cuantificación de **herbicidas** y **fármacos** se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) utilizando el método descrito en la Tabla 2.4 del capítulo II.

La identificación de **intermedios de reacción** en los efluentes de oxidación Fenton se realizó empleando un cromatógrafo de gases Varian GC-3900 unido a un detector de masas Varian Saturn 2100T. El equipo está dotado con microextracción en fase sólida (Carbowax/Divinylbenzene, Yellow-Green) y una columna capilar modelo FactorFour VF-5ms de Varian, de 30 m de longitud y 0,25 mm de diámetro interno. El método de análisis utilizado se recoge en la Tabla 5.2. La identificación de compuestos se llevó a cabo empleando la base de datos NIST.

Tabla 5.2. Método utilizado para la detección de intermedios de reacción mediante GC/MS.

INYECTOR	Split: 20	T: 250°C	Caudal gas portador (He): 1 mL min ⁻¹	
COLUMNA	T (°C)	Rampa (°C min⁻¹)	t_{mantenimiento} (min)	t_{total} (min)
	80	-	1	1
	300	20	15	27
DETECTOR	t (min)		Masas observadas (g mol⁻¹)	
	0-2		40-650	
	2-20		40-300	

El análisis específico de clorofenoles y anilinas se realizó empleando un cromatógrafo de gases (Varian GC-3900) con detector de ionización de llama (FID) equipado con una columna capilar (CP WAX-52CB), de 5 m de longitud y 2 mm de diámetro interno. En las Tablas 5.3 y 5.4 se recogen los métodos optimizados para la cuantificación de clorofenoles y anilinas, respectivamente.

Tabla 5.3. Método utilizado para la detección de clorofenoles mediante GC/FID.

INYECTOR	Split: 20	T: 150°C	Caudal gas portador (N₂): 1 mL min ⁻¹	
COLUMNA	T (°C)	Rampa (°C min⁻¹)	t_{mantenimiento} (min)	t_{total} (min)
	70	-	1	1
	240	15	4,67	17
DETECTOR	T: 300°C	Caudal (H₂): 30 mL min ⁻¹	Caudal (aire): 300 mL min ⁻¹	

Tabla 5.4. Método utilizado para la detección de anilinas mediante GC/FID.

INYECTOR	Split: 20	T: 300°C	Caudal gas portador (N₂): 1 mL min ⁻¹	
COLUMNA	T (°C)	Rampa (°C min⁻¹)	t_{mantenimiento} (min)	t_{total} (min)
	100	-	2	2
	280	8	10	34,5
DETECTOR	T: 300°C	Caudal (H₂): 30 mL min ⁻¹	Caudal (aire): 300 mL min ⁻¹	

El análisis de los intermedios de reacción de atrazina se llevó a cabo mediante cromatografía HPLC, empleando un equipo Prostar (Varian) equipado con un detector UV-visible. Como fase móvil se utilizó una mezcla de acetonitrilo:acético 5mM, en gradiente de 5 a 95% de acetonitrilo en 20 min, con un caudal de 0,80 mL min⁻¹. Como estacionaria se empleó una fase inversa C-18 (Teknokroma Mediterranea Sea18) empaquetada en una columna de 25 cm de longitud con un diámetro interior de 4,6 mm. La detección de los compuestos se llevó a cabo empleando una longitud de onda de 220 nm.

La cuantificación de especies aniónicas como **NO₃⁻**, **NO₂⁻**, **Cl⁻** y **ácidos orgánicos** de cadena corta se llevó a cabo empleando un cromatógrafo iónico Metrohm 790 Personal IC equipado con una columna Metrosep A Supp5-250 de 25 cm de longitud y 4 cm de diámetro interno. Como eluyente se utilizó una mezcla acuosa de NaHCO₃ 1 mM y Na₂CO₃ 3,2 mM (1:1, v/v) con un caudal de 0,7 mL min⁻¹.

La determinación de **NH₄⁺** se realizó empleando reactivo Nessler, yodomercuriato potásico alcalino. En presencia de amonio, dicho reactivo se descompone formando iones de diyodomercuriato amónico que permiten la determinación colorimétrica de NH₄⁺, para lo cual se utilizó un colorímetro Orbeco-Hellige 975 MP The Analyst.

La concentración residual de **peróxido de hidrógeno** se determinó utilizando oxisulfato de titanio (Eisenberg 1943). Dicho reactivo forma, en presencia de H₂O₂, un complejo amarillo-anaranjado cuyo máximo de absorción se sitúa en torno a los 410 nm, que puede medirse empleando un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1603).

En determinados efluentes tuvo lugar la precipitación de un **residuo sólido** al llevar a cabo la neutralización previa a los ensayos biológicos, que se analizó en un laboratorio externo mediante Espectrometría de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP/MS) y Análisis Químico Elemental.

5.3. Resultados y discusión

5.3.1. Ensayos de oxidación Fenton de herbicidas

La evolución temporal de la conversión de compuesto, H_2O_2 y COT observada en la oxidación Fenton de los herbicidas estudiados (diurón, alacloro, atrazina, 2,4-D y MCPA) utilizando la dosis estequiométrica de H_2O_2 y una relación molar H_2O_2/Fe^{2+} de 10/1 a 30°C se recoge en la Figura 5.1. Los resultados mostrados en el caso de la atrazina corresponden a los obtenidos para una relación H_2O_2/Fe^{2+} de 2/1, al observarse la formación de un intermedio de oxidación capaz de formar complejos con el Fe^{2+} , limitando la concentración de catalizador disponible e impidiendo con ello la descomposición del H_2O_2 en radicales hidroxilo.

La conversión de **herbicida** fue completa en todos los casos, observándose una eliminación ligeramente más ralentizada en los ensayos realizados con 2,4-D. El **peróxido de hidrógeno** se eliminó completamente tras las 3 h de reacción en todos los casos. La velocidad de descomposición del H_2O_2 fue significativamente más rápida en la oxidación Fenton de atrazina, ya que la relación de catalizador fue 5 veces mayor a la empleada para los demás compuestos, mientras que en el ensayo realizado con alacloro, la lenta descomposición del peróxido de hidrógeno reflejó una ligera limitación en la disponibilidad del catalizador. La concentración de **COT** alcanzó un valor constante dentro del tiempo de reacción para todos los herbicidas estudiados. En los ensayos realizados con atrazina, 2,4-D y MCPA, la estabilización de los valores de COT tuvo lugar a causa de la completa descomposición del H_2O_2 alcanzada en los primeros minutos de reacción, que originó la ausencia de radicales hidroxilo en el medio. La oxidación de diurón y alacloro generó intermedios refractarios al tratamiento, ya que la concentración de COT permaneció constante pese a observarse una significativa descomposición de H_2O_2 .

V. Eliminación de compuestos emergentes mediante el acoplamiento de procesos de oxidación avanzada y sistemas biológicos

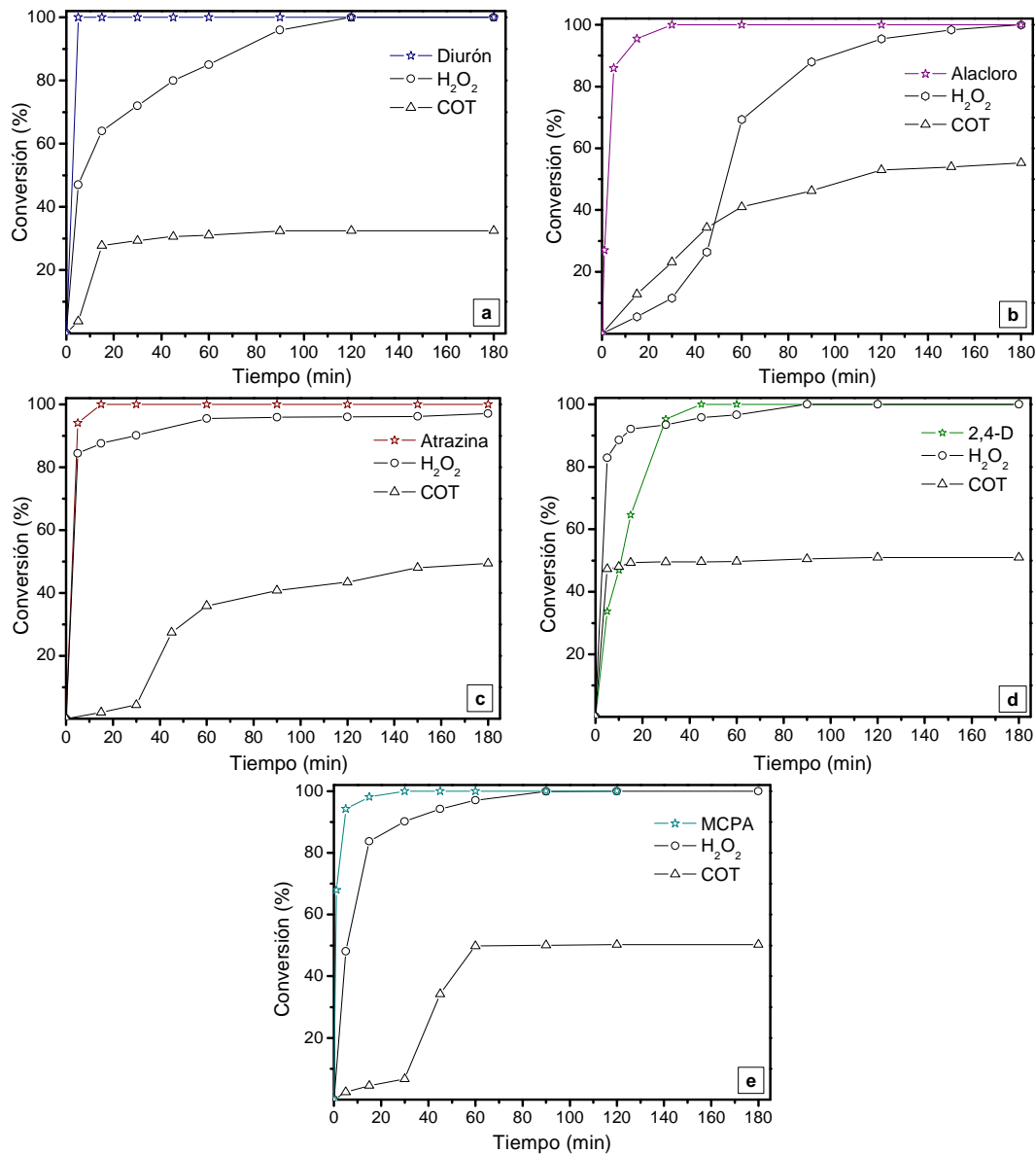


Fig. 5.1. Evolución temporal de la conversión de herbicida, H₂O₂ y COT utilizando como dosis inicial de reactivo la cantidad estequiométrica de peróxido de hidrógeno.

Una vez conocido el comportamiento de la oxidación Fenton de disoluciones acuosas de los herbicidas empleando la dosis estequiométrica de peróxido de hidrógeno, se realizaron ensayos reduciendo la concentración del agente precursor de radicales hidroxilo. Los efluentes obtenidos se analizaron con el objetivo de determinar posibles concentraciones residuales de herbicida y H₂O₂. En todos los casos se confirmó la total **conversión de peróxido de hidrógeno** en el intervalo de concentraciones de H₂O₂ estudiado. La eliminación de diurón, 2,4-D y MCPA fue

completa incluso en los ensayos realizados empleando dosis subestequiométricas de reactivo. Se detectaron concentraciones residuales de alacloro (3 mg L^{-1}) en los ensayos llevados a cabo con un 20% de la dosis estequiométrica de H_2O_2 . La conversión incompleta de herbicida se dio también en la oxidación Fenton de atrazina, apareciendo de 3,4 a $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ de dicho compuesto en los efluentes tratados con dosis de peróxido de hidrógeno del 20 al 80 % de la cantidad estequiométrica.

La Figura 5.2 muestra la conversión de DQO (a) y COT (b) alcanzada en el tratamiento de los compuestos estudiados empleando diferentes concentraciones iniciales de H_2O_2 . Como puede observarse, ambas variables tienden a estabilizarse al aumentar la dosis inicial de peróxido de hidrógeno, aunque por lo general la conversión de COT se estabiliza a concentraciones más bajas, reflejando la aparición de compuestos refractarios al tratamiento. De esta forma, el empleo de una dosis inicial de H_2O_2 por encima del 60% de la cantidad estequiométrica puede originar un ligero aumento de la conversión de DQO pero la eliminación de COT alcanzada prácticamente se mantiene. Este hecho implica que los intermedios presentes en los efluentes tratados con las dosis más elevadas de H_2O_2 se encuentran en un elevado estado de oxidación.

Los valores más altos de conversión de materia orgánica se observaron en los ensayos realizados con MCPA, lográndose hasta un 75% y un 63% de reducción de DQO y COT, respectivamente, empleando una dosis del 60% de la cantidad estequiométrica de peróxido de hidrógeno. La utilización de condiciones más oxidantes permitieron aumentar la conversión de DQO hasta un 81%, sin embargo, los valores de eliminación de COT se mantuvieron constantes.

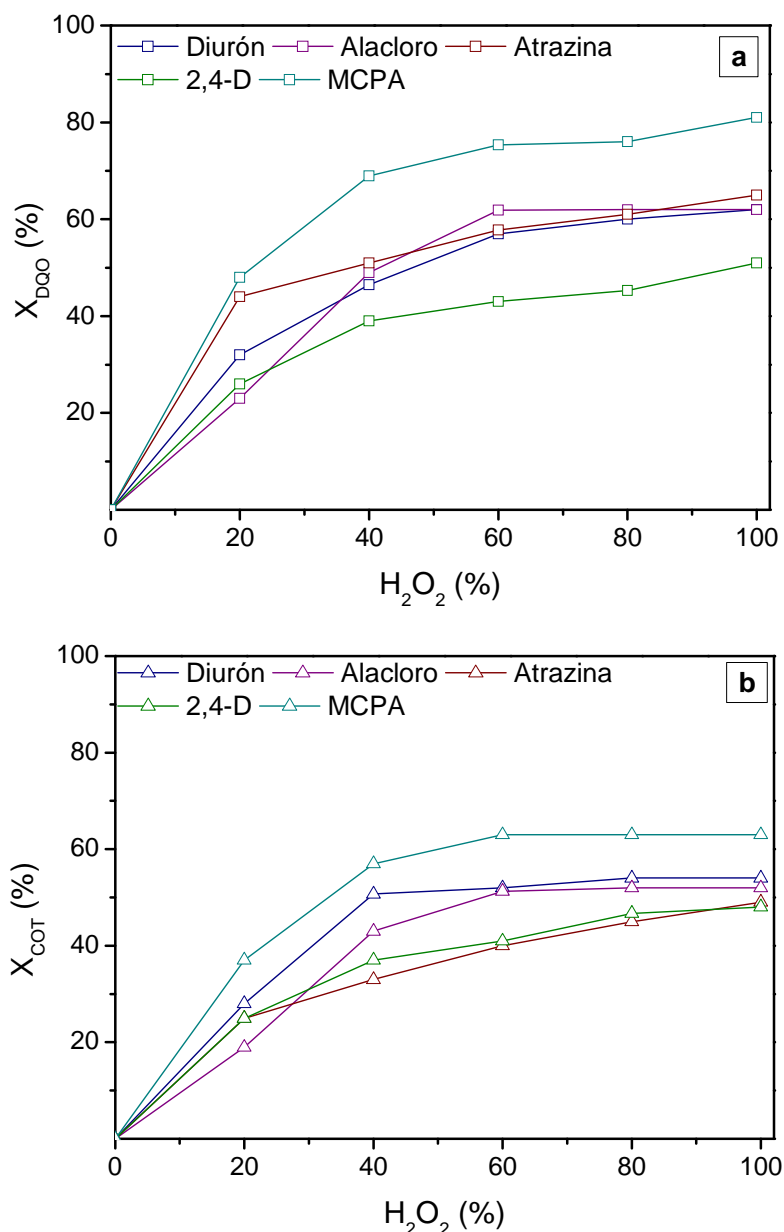


Fig. 5.2. Evolución de la conversión de DQO (a) y COT (b) con la concentración inicial de H₂O₂ para los diferentes herbicidas estudiados.

La oxidación Fenton de diurón permitió obtener como valor máximo una eliminación de COT del 54% empleando una dosis de H₂O₂ del 80% de la proporción estequiométrica. El empleo de condiciones más oxidantes no aumentó la mineralización, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Oturan et al. (2011) que aplicando un 12% en exceso de H₂O₂ lograron una conversión de COT del 50% en la oxidación Fenton de 40 mg L⁻¹ de diurón.

La aplicación de al menos el 80% de la dosis estequiométrica de peróxido de hidrógeno permitió la eliminación de más del 50% del COT en los ensayos realizados con alacloro. Ballesteros Martin et al. (2008) llevaron a cabo el tratamiento de alacloro (50 mg L^{-1}) mediante el proceso foto-Fenton empleando 20 mg L^{-1} de Fe^{2+} y H_2O_2 en exceso. Aplicando el reactivo en ausencia de luz se obtuvo la eliminación completa del herbicida, pese a que una mineralización eficiente sólo pudo lograrse mediante la aplicación de luz UV solar.

La eliminación más efectiva de COT en la oxidación Fenton de atrazina se observó empleando la cantidad estequiométrica de H_2O_2 , alcanzando un valor del 49%. De acuerdo con Kassinos et al. (2009), el empleo de dosis más elevadas de peróxido de hidrógeno (4 veces mayor que la cantidad estequiométrica), logró una mineralización similar a la obtenida en el presente trabajo.

El tratamiento de 2,4-D con una dosis de H_2O_2 del 80% de la relación estequiométrica permitió obtener un 47% de eliminación de COT. El empleo de condiciones más oxidantes no permitió aumentar dicho valor. La utilización de una mayor proporción de catalizador (relación molar 5/1 de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$) ha permitido obtener valores de conversión de COT del 85% en el tratamiento de 200 mg L^{-1} de este herbicida mediante reactivo Fenton (Sun et al. 2005). Sin embargo, el objetivo principal del presente estudio es la optimización del uso de reactivos químicos a través del empleo de un tratamiento biológico posterior, por lo que se mantuvieron las condiciones de reacción planteadas inicialmente.

La Figura 5.3 muestra la relación DQO/COT observada en los efluentes de oxidación de los herbicidas tratados con las diferentes concentraciones iniciales de peróxido de hidrógeno. La oxidación Fenton originó una disminución de los valores observados de este índice, especialmente empleando concentraciones elevadas de peróxido de hidrógeno.

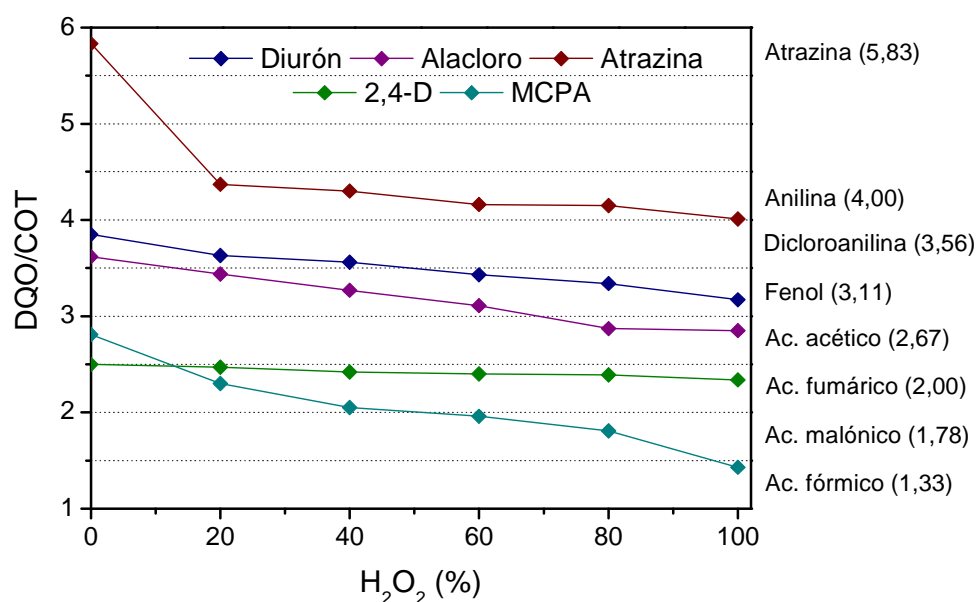


Fig. 5.3. Relación DQO/COT observada en los efluentes de oxidación Fenton de los herbicidas estudiados empleando diferentes concentraciones iniciales de peróxido de hidrógeno y valores correspondientes a compuestos representativos.

Los efluentes de atrazina presentaron los valores más altos de DQO/COT, reflejando la presencia de intermedios de reacción en un estado de oxidación menor. El empleo de la mayor dosis de H_2O_2 permitió alcanzar un valor de DQO/COT de 4, que se correspondería con el valor teórico que presenta la anilina. Los efluentes con un mayor grado de oxidación fueron los obtenidos en el tratamiento de MCPA, alcanzando un valor de DQO/COT de 1,43, cercano al presentado por el ácido fórmico, uno de los intermedios generalmente presentes en los efluentes de oxidación Fenton en mayor estado de oxidación. La aplicación de reactivo Fenton en el caso del 2,4-D no supuso un incremento significativo del grado de oxidación de la disolución y el aumento de la dosis de H_2O_2 provocó tanto la mineralización de los intermedios como la reducción de DQO de los efluentes.

5.3.2. Identificación de intermedios en los efluentes de oxidación Fenton de herbicidas

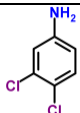



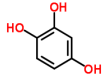

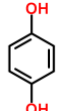
Los efluentes obtenidos empleando dosis de H_2O_2 del 20 al 100% de la cantidad estequiométrica se analizaron para identificar los principales intermedios de oxidación. Con el fin de lograr la identificación de compuestos en un menor estado

de oxidación, se llevó a cabo un ensayo adicional utilizando el 10% de la dosis estequiométrica de reactivo.

5.3.2.1. Intermedios de oxidación en el tratamiento de diurón mediante reactivo Fenton

La Tabla 5.5 recoge los diferentes intermedios aromáticos identificados en los efluentes de oxidación Fenton de diurón obtenidos empleando concentraciones iniciales de H₂O₂ del 10 al 100% de la cantidad estequiométrica.

Tabla 5.5. Intermedios de oxidación Fenton de diurón identificados en los diferentes efluentes obtenidos.

Compuesto	Fórmula	Estructura	H ₂ O ₂ (%)
3,4-Dicloroanilina	C ₆ H ₅ Cl ₂ N		10, 20
Anilina	C ₆ H ₇ N		10-100
3,4-Diclorobenceno	C ₆ H ₄ Cl ₂		10, 20
3,4-Diclorofenol	C ₆ H ₄ Cl ₂ O		10
Bencenotriol	C ₆ H ₆ O ₃		20, 40, 60
Fenol	C ₆ H ₆ O		10
Hidroquinona	C ₆ H ₆ O ₂		10

La mayor parte de los intermedios aromáticos detectados, como 3,4-dicloroanilina, 3,4-diclorobenceno, 3,4-diclorofenol, fenol e hidroquinona sólo estuvieron presentes en los efluentes obtenidos utilizando las condiciones menos oxidantes. El bencenotriol se observó en aquéllos obtenidos con un 20-60% de la dosis estequiométrica de H₂O₂ y la anilina apareció en todos los efluentes.

La Figura 5.4 muestra la concentración de ácidos orgánicos de cadena corta en los efluentes de tratamiento de diurón mediante reactivo Fenton empleando diferentes concentraciones iniciales de peróxido de hidrógeno. El aumento de la dosis empleada de H_2O_2 originó la disminución de la concentración de acético y fórmico, ya que estos ácidos pueden mineralizarse fácilmente empleando condiciones más oxidantes. Los efluentes obtenidos empleando concentraciones intermedias de H_2O_2 presentaron como intermedio mayoritario ácido maleico, el cual pudo transformarse en ácidos con un mayor estado de oxidación, como malónico y oxálico, empleando dosis de peróxido de hidrógeno del 80 al 100% de la cantidad estequiométrica. El aumento exponencial de la concentración de ácido oxálico sugiere que se trata de un compuesto recalcitrante a la oxidación mediante reactivo Fenton, lo cual se ha observado en el tratamiento de otros compuestos, como fenol (Zazo et al. 2005) y 4-clorofenol (Munoz et al. 2011) empleando este método de generación de radicales hidroxilo.

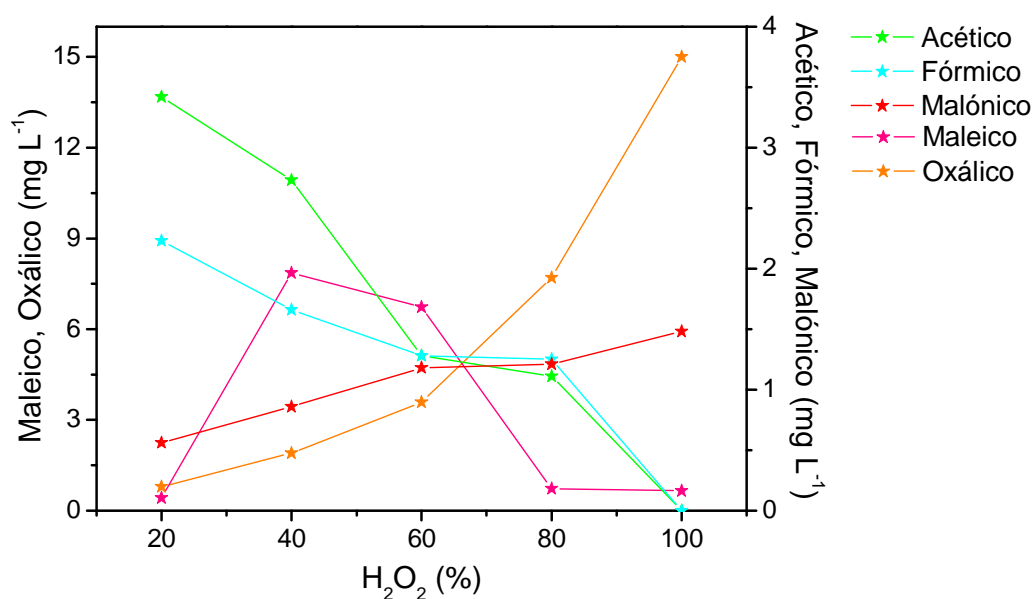


Fig. 5.4. Concentración de ácidos orgánicos en los efluentes de tratamiento por reactivo Fenton de diurón.

La Figura 5.5 muestra el esquema de reacción propuesto a partir de los intermedios aromáticos y ácidos orgánicos de cadena corta detectados en los efluentes de oxidación de diurón mediante reactivo Fenton. La rotura de la

molécula de herbicida a la altura del enlace C-N origina la aparición de 3,4-dicloroanilina, pudiendo generarse también urea, pese a que este compuesto no pudo identificarse en las condiciones de estudio. La 3,4-dicloroanilina pierde el grupo amino dando lugar a la aparición de 3,4-diclorobenceno, que se oxida a 3,4-diclorofenol. La pérdida de los radicales clorados transforma dicho compuesto en fenol, cuya oxidación puede originar hidroquinona y bencenotriol. La rotura del anillo fenólico en dicho compuesto da lugar a la aparición del ácido maleico, fácilmente oxidable a malónico. Este ácido se transforma en acético y fórmico en condiciones de oxidación suaves, mientras que el empleo de elevadas concentraciones de reactivo implica la aparición preferente de ácido oxálico, que permanece en la disolución, mientras que fórmico y acético pueden oxidarse a CO₂.

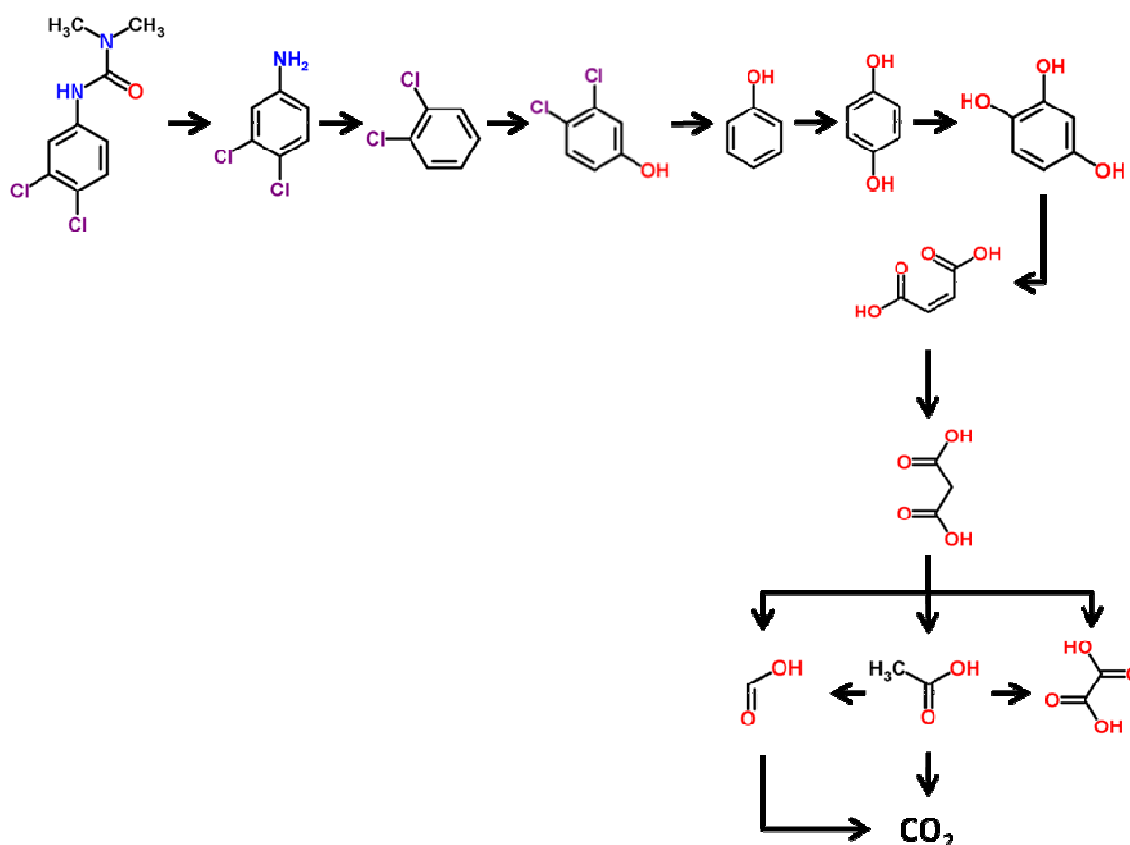


Fig. 5.5. Esquema de reacción propuesto a partir de los intermedios detectados en la oxidación Fenton de diurón.

La 3,4-dicloroanilina, junto con el 3,4-diclorofenil isocianato, han sido identificados como intermedios mayoritarios en los procesos de oxidación foto-Fenton (Farre et

al. 2007a) e hidrólisis química en medio acuoso de diurón (Salvestrini et al. 2002). Por otro lado, también en el proceso foto-Fenton, se ha observado la rotura de la molécula de diurón a la altura del enlace C₅-N, lo que da lugar a la aparición de 1,1-dimetilurea y metilurea como intermedios de reacción (Farre et al. 2007a).

La cuantificación de los intermedios generados y las especies inorgánicas de Cl y N liberadas a la disolución en el proceso Fenton permitió analizar los balances de carbono, cloro y nitrógeno, recogidos en la Tabla 5.6.

Tabla 5.6. Porcentajes de COT, Cl y N explicados a partir de los intermedios e iones inorgánicos cuantificados en los efluentes de oxidación de diurón.

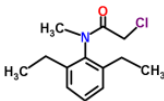
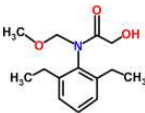



H ₂ O ₂ (%)	20	40	60	80	100
Dicloroanilina (mg L ⁻¹)	0,5	0	0	0	0
Anilina (mg L ⁻¹)	2,0	1,1	1,5	1,3	1,2
Acético (mg L ⁻¹)	3,4	2,7	1,3	1,1	0
Fórmico (mg L ⁻¹)	2,2	1,7	1,3	1,3	0
Maleico (mg L ⁻¹)	0,4	7,9	6,7	0,7	0,7
Malónico (mg L ⁻¹)	0,6	0,9	1,2	1,2	1,5
Oxálico (mg L ⁻¹)	0,8	1,9	3,6	7,7	15,0
COT _{teórico} (mg L ⁻¹)	3,5	6,4	6,2	4,5	5,8
COT _{medido} (mg L ⁻¹)	10,0	7,0	7,0	6,5	6,6
COT _{explicado} (%)	35	92	88	70	88
[Cl ⁻] (mg L ⁻¹)	7,1	7,2	7,4	7,4	8,2
Cl _{explicado} (%)	89	87	90	90	100
[NH ₄ ⁺] (mg L ⁻¹)	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5
[NO ₃ ⁻] (mg L ⁻¹)	2,6	2,7	2,7	2,7	2,8
N _{explicado} (%)	32	33	36	35	35

Los valores de porcentaje explicado de COT más elevados se obtuvieron al emplear concentraciones intermedias de peróxido de hidrógeno, así como en el efluente obtenido con la dosis estequiométrica, debido principalmente a la elevada concentración de ácido maleico y oxálico, respectivamente. El porcentaje explicado de cloro aumentó con la dosis de H₂O₂, mientras que los balances de nitrógeno quedaron incompletos, mostrando la existencia de intermedios no cuantificados con un importante contenido en nitrógeno y, en concentraciones subestequiométricas de H₂O₂, también en cloro.

5.3.2.2. Intermedios de oxidación en el tratamiento de alacloro mediante reactivo Fenton

La Tabla 5.7 muestra los compuestos aromáticos identificados en los efluentes de tratamiento de alacloro mediante reactivo Fenton, empleando dosis iniciales de H₂O₂ en el intervalo de 10 al 100% de la cantidad estequiométrica.

Tabla 5.7. Intermedios de oxidación Fenton de alacloro identificados en los diferentes efluentes obtenidos.

Compuesto	Fórmula	Estructura	H ₂ O ₂ (%)
CDEFMA	C ₁₃ H ₁₈ ClNO		10
MMDEFHA	C ₁₄ H ₂₁ NO ₃		10
2,6-dietilanilina	C ₁₀ H ₁₅ N		10, 20
Anilina	C ₁₀ H ₁₅ N		10-100
Catecol	C ₆ H ₆ O ₂		10

El análisis de los efluentes permitió la cuantificación de 2,6-dietilanilina ($0,54 \text{ mg L}^{-1}$) en el efluente tratado con un 20% de la dosis estequiométrica de H_2O_2 y de anilina en todos los efluentes, en concentración de $1,2$ a $2,7 \text{ mg L}^{-1}$, aumentando con la dosis de reactivo. Ambos compuestos aparecen también como intermedios de oxidación de alacloro mediante ozonización (Farre et al. 2005). En el efluente tratado con el 10% de la dosis estequiométrica de H_2O_2 se identificaron también catecol, 2-cloro-2,6-dietilfenil-N-(metil)acetamida (CDEFMA) y N-(metoximetil)-N-(2,6-dietilfenil)-2-hidroxiacetamida (MMDEFHA). Estos dos compuestos, derivados de la acetamida, se han identificado a su vez como intermedios de oxidación de alacloro mediante el proceso foto-Fenton (Katsumata et al. 2006).

La Figura 5.6 muestra la concentración de ácidos orgánicos de cadena corta medidos en los efluentes de tratamiento de alacloro mediante reactivo Fenton. La evolución seguida por los ácidos detectados fue similar a la observada en los efluentes de tratamiento de diurón, ya que condiciones suaves de oxidación favorecieron la aparición de acético y fórmico, mientras que el aumento de la dosis de H_2O_2 originó una mayor concentración de malónico y oxálico.

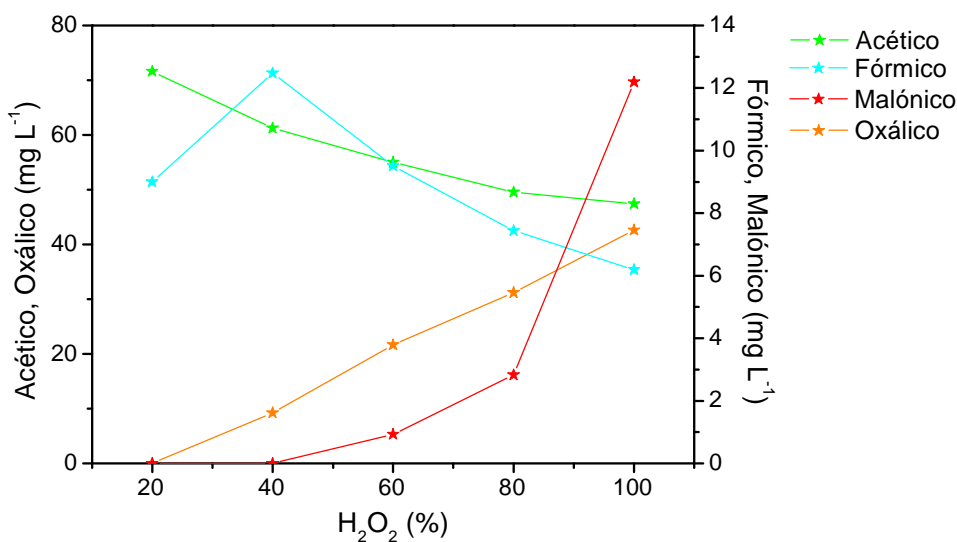


Fig. 5.6. Concentración de ácidos orgánicos en los efluentes de tratamiento por reactivo Fenton de alacloro.

La identificación de los intermedios aromáticos y ácidos de cadena corta se empleó para plantear un esquema de reacción, presentado en la Figura 5.7.

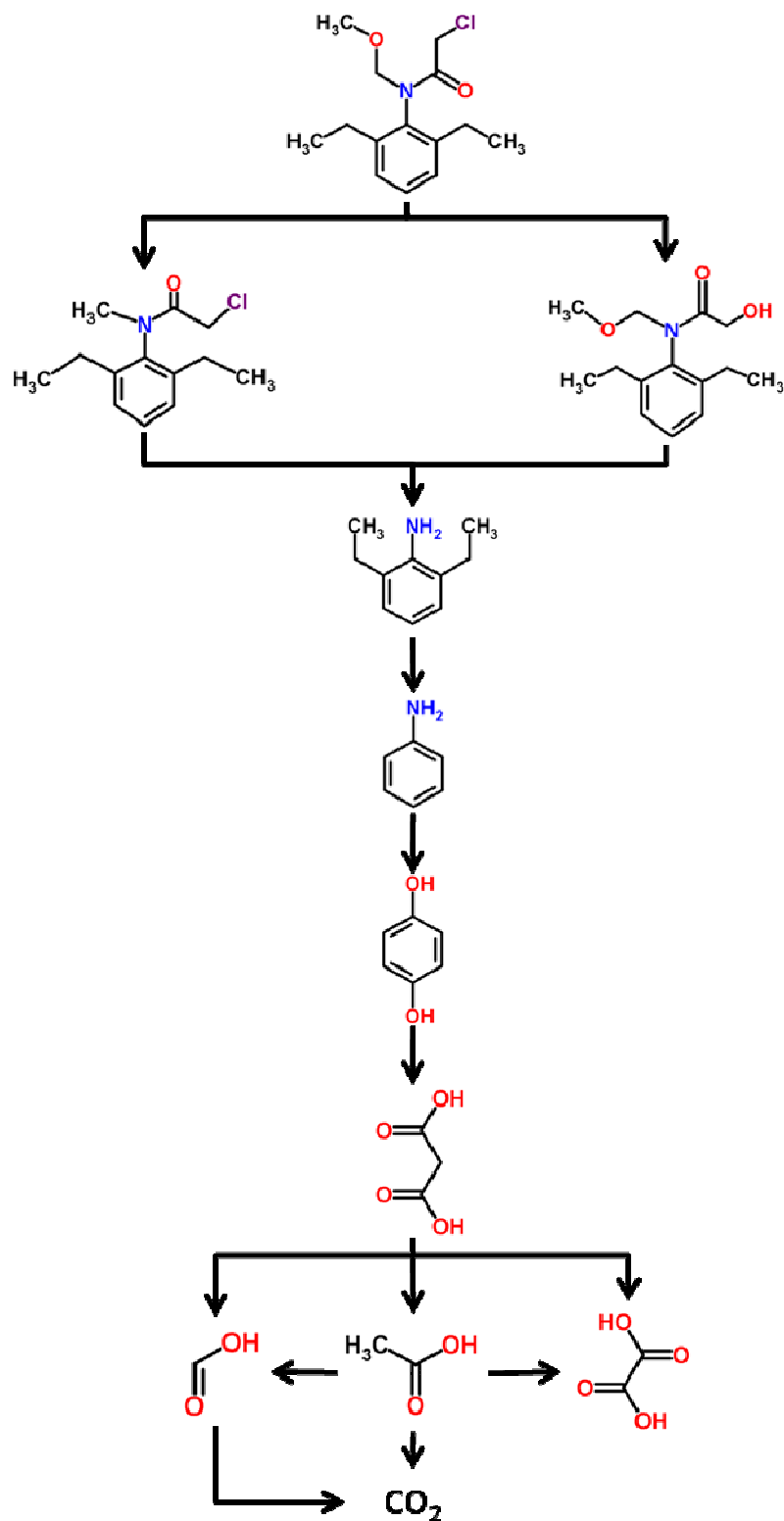


Fig. 5.7. Esquema de reacción propuesto a partir de los intermedios detectados en la oxidación Fenton de alacloro.

El alacloro se transforma inicialmente en dos compuestos diferentes, CDEFMA y MMDEFHA. La pérdida de los radicales unidos al átomo de nitrógeno en ambos compuestos da lugar a 2,6-dietilanilina, que se transforma en anilina a partir de la eliminación de los radicales etilo. Una mayor oxidación, junto con la liberación del grupo amino, da lugar a catecol. La rotura del anillo fenólico llevaría a la aparición de ácido malónico, que reaccionaría, en función de las condiciones de oxidación empleadas, para dar lugar a acético y fórmico, o bien oxálico, de acuerdo con lo descrito previamente.

Los efluentes presentaron un precipitado de color marrón-anaranjado en concentración de 104 a 134 mg L⁻¹, conforme aumentó la dosis inicial de peróxido de hidrógeno. La caracterización de dicho sólido se llevó a cabo mediante análisis elemental e ICP/MS, recogiendo su composición en la Tabla 5.8.

Tabla 5.8. Análisis elemental del residuo sólido obtenido en los efluentes de oxidación Fenton de alacloro.

Elemento	C	H	O	N	Fe
% w/w	18	3	74	2	3

La cuantificación de los intermedios detectados, así como el residuo sólido y el análisis de las formas inorgánicas de cloro y nitrógeno se emplearon para analizar los balances de carbono, cloro y nitrógeno, recogidos en la Tabla 5.9. El porcentaje explicado de los tres elementos aumentó con la concentración inicial de peróxido de hidrógeno. Los bajos valores de porcentaje explicado revelaron la presencia de intermedios no cuantificados, nitrogenados y clorados, en mayor concentración en los efluentes obtenidos empleando condiciones menos oxidantes.

Tabla 5.9. Porcentajes de COT, Cl y N explicados a partir de los intermedios cuantificados, el residuo sólido filtrado y los iones inorgánicos detectados en los diferentes efluentes de oxidación de alacloro.

H ₂ O ₂ (%)	20	40	60	80	100
Alacloro (mg L⁻¹)	3,2	0	0	0	0
Detilanilina (mg L⁻¹)	0,5	0	0	0	0
Anilina (mg L⁻¹)	1,2	1,8	1,8	1,9	2,7
Acético (mg L⁻¹)	71,6	61,2	55,0	49,6	47,4
Fórmico (mg L⁻¹)	9,0	12,5	9,5	7,4	6,5
Malónico (mg L⁻¹)	0	0	0,9	2,8	12,2
Oxálico (mg L⁻¹)	0	9,2	21,7	31,2	42,6
COT_{teórico} (mg L⁻¹)	34,3	31,6	32,0	32,6	38,5
COT_{medido} (mg L⁻¹)	91,5	64,4	54,6	54,5	54,4
COT_{explicado} (%)	37	49	59	60	71
[Cl⁻] (mg L⁻¹)	11,8	12,3	16,2	18,3	20,6
Cl_{explicado} (%)	52	52	68	77	87
Sólido (mg L⁻¹)	104	114	117	120	134
[NH₄⁺] (mg L⁻¹)	0	0,5	1,4	2,5	2,6
[NO₃⁻] (mg L⁻¹)	2,8	3,0	3,2	3,5	3,7
N_{explicado} (%)	29	35	43	54	59

5.3.2.3. Intermedios de oxidación en el tratamiento de atrazina mediante reactivo Fenton

El análisis de los efluentes del proceso Fenton para el tratamiento de atrazina permitió la detección de tres intermedios aromáticos principales, desetildesisopropil atrazina (DEIA) ($C_3H_4ClN_5$), desetil-2-hidroxiatrazina (DEHA) ($C_6H_{11}N_5O$) y desetildesisopropil-2-hidroxiatrazina (DEIHA) ($C_3H_5N_5O$). La Figura 5.8 muestra la concentración en el efluente de estos tres compuestos en función de la dosis inicial de peróxido de hidrógeno. La concentración de DEIA y DEHA disminuyó con la intensidad del tratamiento, aunque el primero apareció preferentemente en condiciones ligeramente más oxidantes, mientras que el segundo fue mayoritario en el efluente tratado con la menor dosis de H_2O_2 . El aumento de la concentración de peróxido de hidrógeno por encima del 40% provocó la descomposición de ambos, formando DEIHA. Estos tres compuestos se han observado en los efluentes de tratamiento de atrazina obtenidos a partir de la oxidación con radicales hidroxilo generados electrocatalíticamente (Balci et al. 2009) o bien mediante el proceso foto-Fenton (Chan et al. 2006).

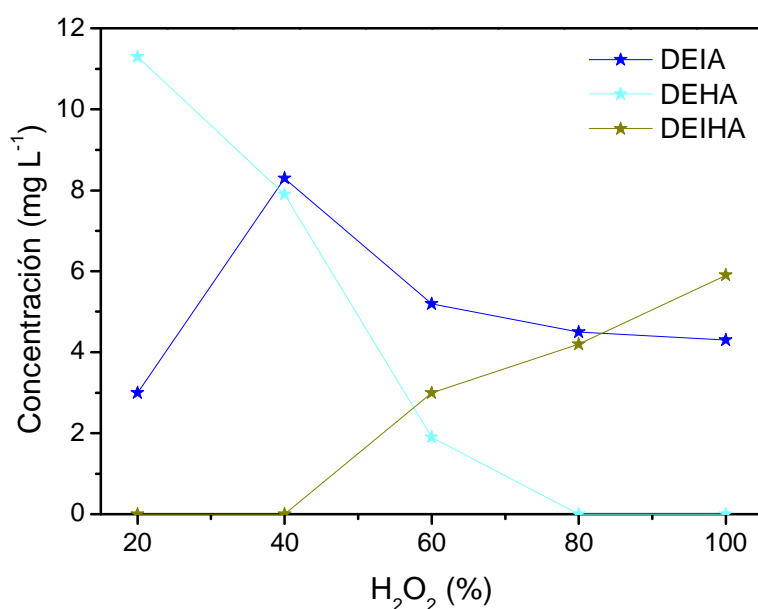


Fig. 5.8. Evolución de la concentración de los intermedios aromáticos detectados en los efluentes de oxidación Fenton de atrazina en función de la dosis inicial de H_2O_2 .

La Figura 5.9 muestra la evolución de los ácidos orgánicos de cadena corta observada en función de la dosis de peróxido de hidrógeno empleada en el tratamiento de atrazina mediante reactivo Fenton. El fórmico fue el ácido predominante en los efluentes obtenidos con una concentración de H_2O_2 por debajo de la relación estequiométrica, pese a apreciarse una disminución de su concentración con el aumento de la dosis de reactivo, especialmente significativa a partir del 60% del H_2O_2 estequiométrico. La concentración de ácido acético aumentó con el porcentaje de H_2O_2 empleado, siendo mayoritario en el efluente obtenido con la dosis estequiométrica de reactivo. La concentración de ácido oxálico también fue en aumento, pero alcanzó valores significativamente bajos en relación con los obtenidos en los efluentes de tratamiento de los demás herbicidas. Este hecho explica que los efluentes de oxidación Fenton de atrazina presentaran los valores más altos de relación DQO/COT, tal y como se observó en la Figura 5.4.

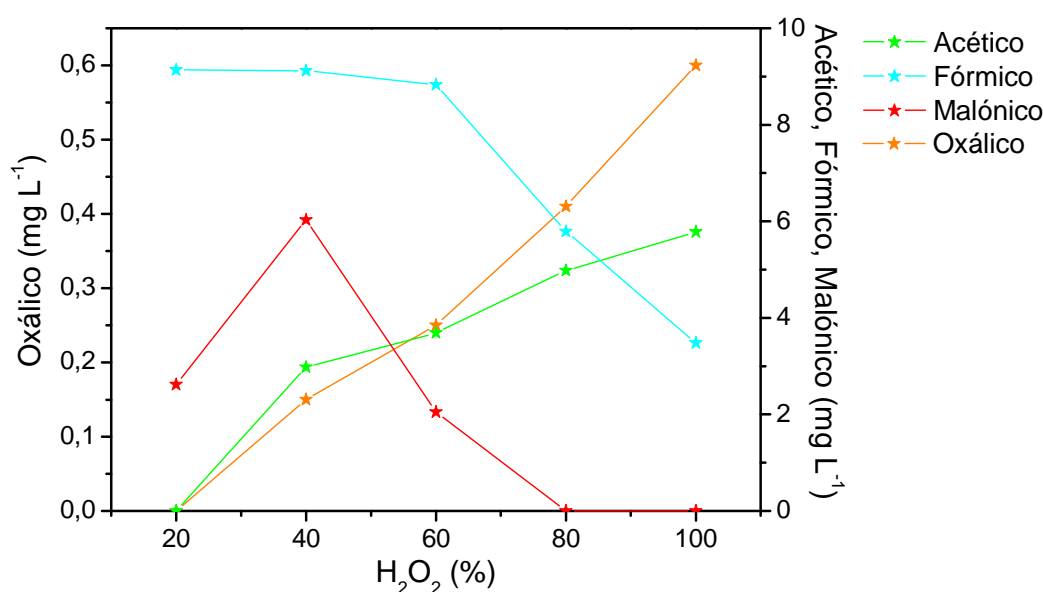


Fig. 5.9. Concentración de ácidos orgánicos en los efluentes de tratamiento por reactivo Fenton de atrazina.

El esquema de reacción propuesto a partir de los intermedios de reacción identificados en los efluentes de oxidación de atrazina mediante reactivo Fenton se presenta en la Figura 5.10. La atrazina se transforma inicialmente en DEIA y DEHA, en función de si pierde el radical isopropil, o bien el átomo de cloro es reemplazado

por un grupo OH. La oxidación del radical isopropil da lugar a ácido malónico, que se transforma en acético y fórmico bajo condiciones suaves de operación, o bien en oxálico en condiciones más oxidantes. La dechloración del DEIA por una parte, y la desalquilación del DEHA por otra, dan lugar a DEIHA. En este último caso, se produciría también acético por la oxidación del radical liberado, lo que explica el aumento de la concentración de dicho ácido con la dosis de H₂O₂. La oxidación de los grupos amino del DEIHA produciría ácido cianúrico, que no pudo identificarse en el presente trabajo, pero que aparece como intermedio de reacción en el tratamiento de atrazina mediante radicales hidroxilo generados electrolicamente (Balci et al. 2009) y mediante oxidación fotocatalítica (Chan et al. 2004). La hidrólisis del anillo de la triazina generaría ácido fórmico, que podría mineralizarse finalmente a CO₂.

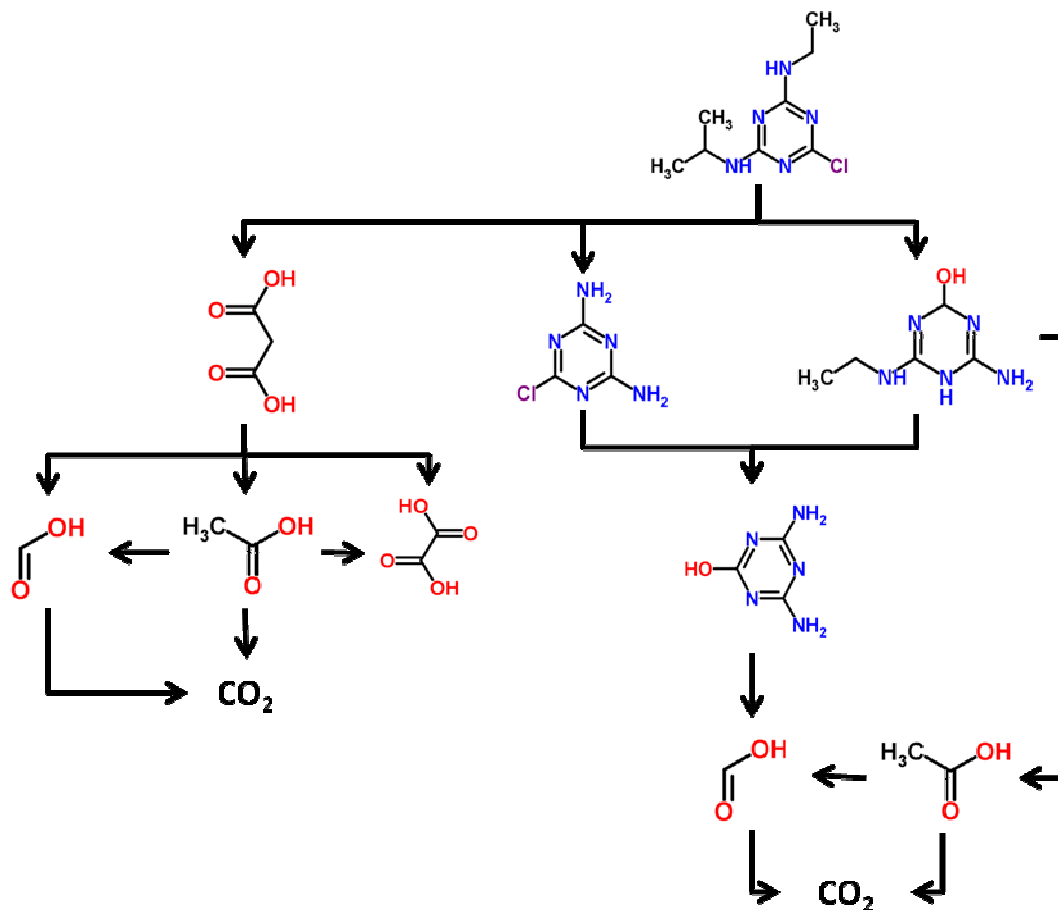


Fig. 5.10. Esquema de reacción propuesto a partir de los intermedios detectados en la oxidación Fenton de atrazina.

Los efluentes de atrazina también presentaron un sólido anaranjado para todas las concentraciones iniciales de H₂O₂, en un intervalo de 27 a 155 mg L⁻¹, aumentando con la concentración de reactivo. La composición del sólido se muestra en la Tabla 5.10. Es destacable el alto contenido en Fe, causante de la reducción del Fe²⁺ disponible para la reacción con peróxido de hidrógeno, razón por la cual fue necesario aumentar la cantidad de catalizador empleado.

Tabla 5.10. Análisis elemental del residuo sólido obtenido en los efluentes de oxidación Fenton de atrazina.

Elemento	C	H	O	Fe
% w/w	2	2	51	45

Los balances realizados a partir de la cuantificación de los intermedios de oxidación de atrazina se recogen en la Tabla 5.11. La concentración de los intermedios aromáticos detectados (DEIA, DEHA y DEIHA) así como los ácidos orgánicos permitió alcanzar elevados porcentajes de COT, Cl y N explicados, pese a que en los efluentes obtenidos con dosis elevadas de peróxido de hidrógeno se advierte la presencia de intermedios no cuantificados con un bajo contenido en carbono, libres de cloro pero con nitrógeno en su composición, probablemente aminas sustituidas o urea, en ambos casos procedentes de la rotura del anillo triazínico.

Tabla 5.11. Porcentajes de COT, Cl y N explicados a partir de los intermedios cuantificados, el residuo sólido filtrado y los iones inorgánicos detectados en los diferentes efluentes de oxidación de atrazina.

H ₂ O ₂ (%)	20	40	60	80	100
Atrazina (mg L⁻¹)	3,4	1,3	0,4	0,4	0
DEIA (mg L⁻¹)	3,0	8,3	5,2	4,5	4,3
DEHA (mg L⁻¹)	11,3	7,9	1,9	0	0
DEIHA (mg L⁻¹)	0	0	3,0	4,2	5,9
Acético (mg L⁻¹)	0	3,0	3,7	5,0	5,8
Fórmico (mg L⁻¹)	9,1	9,1	8,8	5,8	3,5
Malónico (mg L⁻¹)	2,6	6,0	2,0	0	0
Oxálico (mg L⁻¹)	0	0,1	0,3	0,4	0,6
COT_{teórico} (mg L⁻¹)	10,3	11,7	7,7	6,1	6,1
COT_{medido} (mg L⁻¹)	8,3	8,3	7,2	6,8	6,2
COT_{explicado} (%)	100	100	100	90	99
[Cl⁻] (mg L⁻¹)	3,1	3,3	3,5	3,6	3,6
Cl_{explicado} (%)	99	100	100	100	100
Sólido (mg L⁻¹)	155	93	92,5	61,5	27
[NO₃⁻] (mg L⁻¹)	2,8	2,9	3,0	3,0	3,0
N_{explicado} (%)	100	100	92	87	95

5.3.2.4 Intermedios de oxidación en el tratamiento de 2,4-D mediante reactivo Fenton

El análisis mediante HPLC de los efluentes de oxidación Fenton de 2,4-D reveló la presencia de 2,4-diclorofenol en una concentración de 6 mg L⁻¹ en el obtenido empleando el 20% de la dosis estequiométrica de H₂O₂. En condiciones aún menos oxidantes se detectaron 2,4-diclorofenol, 2-clorofenol, 4-clorofenol, 4-clorocatecol, fenol y catecol. El 2,4-diclorofenol se ha identificado como el intermedio clorado principal en la degradación de 2,4-D mediante radicales OH· (Li et al. 2004) y empleando radiaciones ionizantes (Drzewicz et al. 2004).

La Figura 5.11 muestra la composición en ácidos orgánicos de cadena corta de los efluentes de tratamiento de 2,4-D empleando diferentes concentraciones iniciales de peróxido de hidrógeno.

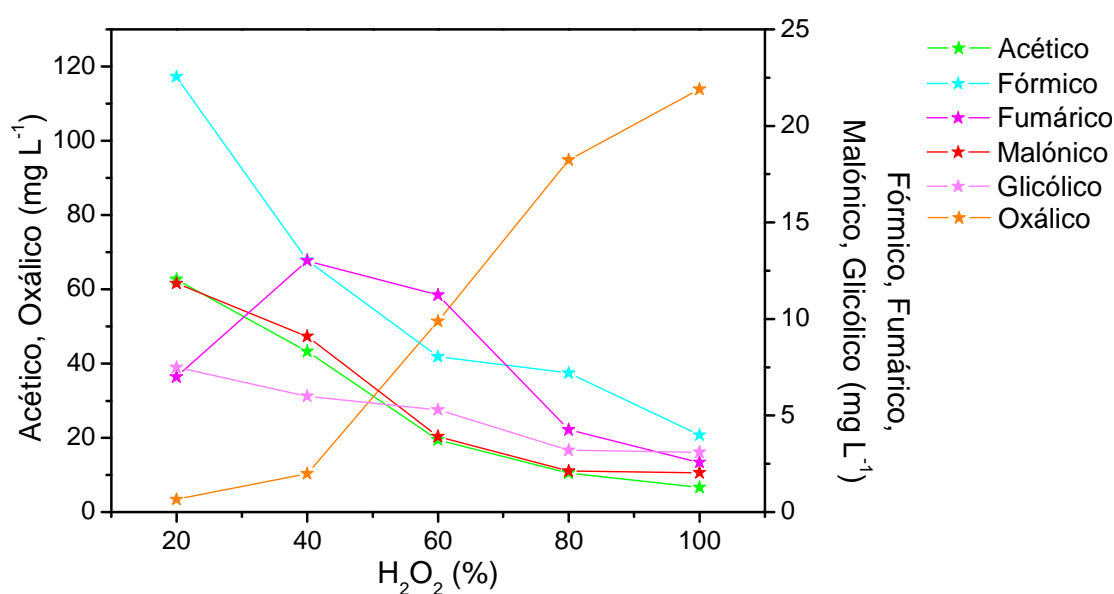


Fig. 5.11. Concentración de ácidos orgánicos en los efluentes de tratamiento por reactivo Fenton de 2,4-D.

Los ácidos acético, fórmico, malónico y glicólico se formaron en condiciones de oxidación más suaves, desapareciendo al aumentar la cantidad de H₂O₂. El ácido fumárico apareció preferentemente en los efluentes tratados con concentraciones intermedias de H₂O₂, mientras que el empleo de condiciones más oxidantes

favorecieron la formación de ácido oxálico, refractario a este tipo de tratamiento. Es destacable la elevada concentración de ácido acético al llevar a cabo el tratamiento en condiciones subestequiométricas, así como de oxálico en el efluente tratado con la mayor dosis de peróxido de hidrógeno.

El esquema de reacción propuesto a partir de la identificación de intermedios de oxidación Fenton de 2,4-D se recoge en la Figura 5.12. La eliminación de 2,4-D mediante reactivo Fenton comienza con la ruptura de la cadena alifática lateral para dar lugar a ácido glicólico y 2,4-diclorofenol, que puede ser hidroxilado dando lugar a 4-clorocatecol o bien, mediante la pérdida del átomo de cloro, originar 2- y 4-clorofenol, que dan lugar a fenol. Una mayor oxidación del fenol y la pérdida del átomo de cloro del 4-clorocatecol derivan en la formación de catecol, que, tras la ruptura del anillo bencénico, se transforma en fumárico. Este ácido, isómero del maleico, se oxidaría a malónico que, junto con el ácido glicólico generado inicialmente en la rotura de la molécula de 2,4-D, se transformaría en acético y fórmico en condiciones subestequiométricas o bien en oxálico con el empleo de dosis elevadas de H₂O₂.

El tratamiento de 2,4-D mediante oxidación electro-Fenton y fotoelectro-Fenton también dio lugar a la aparición de 2,4-diclorofenol y ácido glicólico, que se transformó en oxálico a través de su deshidrogenación, seguida de la hidroxilación del ácido glioxílico resultante (Brillas et al. 2000). En el tratamiento de 2,4-D mediante ambos procesos, el 2,4-diclorofenol dio lugar a 2-clorohidroquinona y 2-clorobenzoquinona (Badellino et al. 2007).

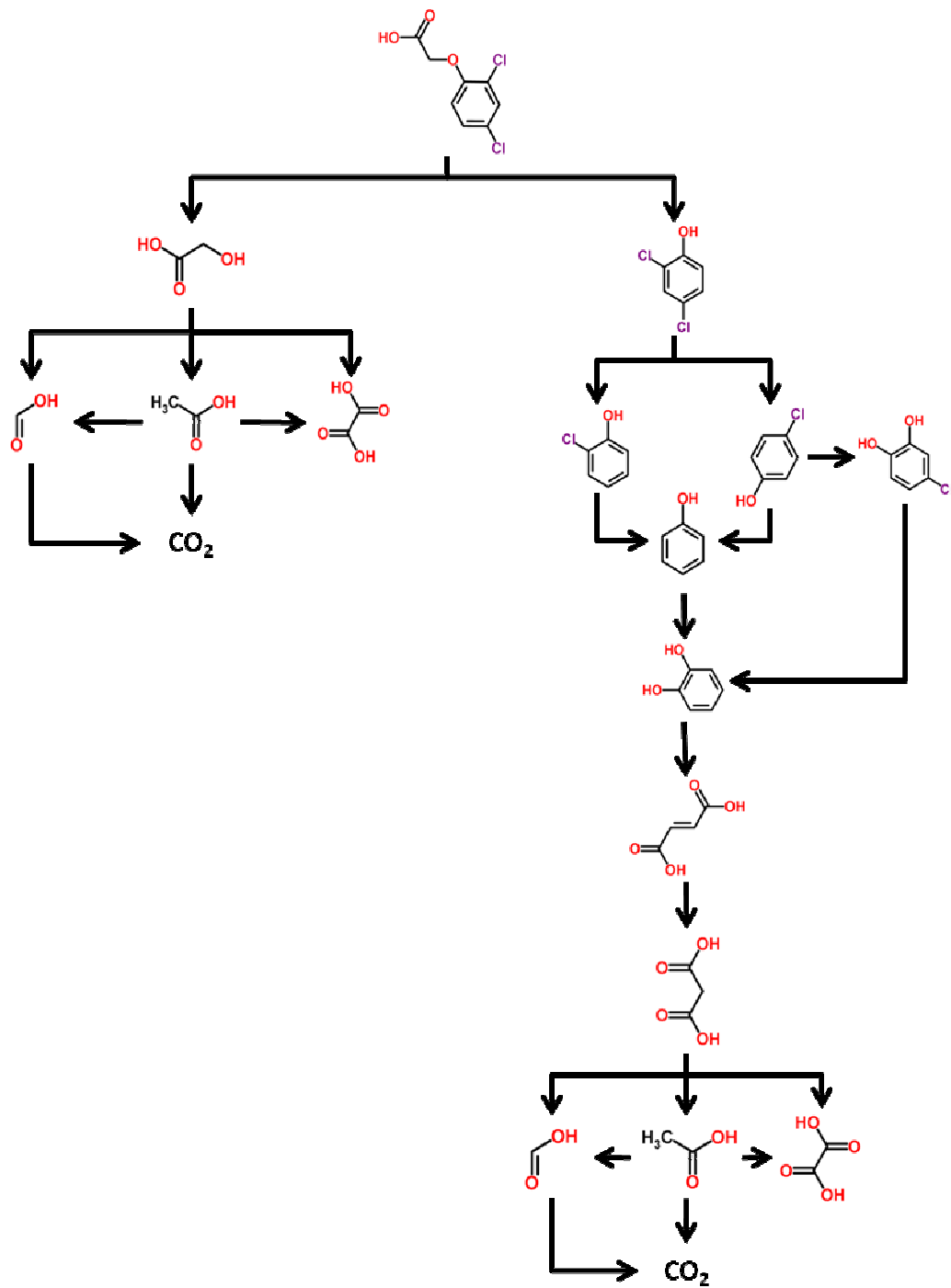


Fig. 5.12. Esquema de reacción propuesto a partir de los intermedios detectados en la oxidación Fenton de 2,4-D.

Es destacable la presencia de un sólido marrón oscuro en los ensayos realizados utilizando el 20 y 40% de la relación estequiométrica de H₂O₂, apareciendo 21,1 y 13,5 mg L⁻¹, respectivamente. La composición del sólido se muestra en la Tabla 5.12. Este residuo puede corresponder a productos de condensación generados en la oxidación de 2,4-diclorofenol, los cuales se han observado en los efluentes de oxidación Fenton de dicho compuesto en condiciones subestequiométricas de H₂O₂ (Munoz et al. 2011).

Tabla 5.12. Análisis elemental del residuo sólido obtenido en los efluentes de oxidación de 2,4-D tratados en condiciones subestequiométricas de peróxido de hidrógeno.

Elemento	C	H	O	Cl	Fe
% w/w	43	2	32	22	1

La Tabla 5.13 recoge los balances de carbono y cloro realizados a partir de la cuantificación de los intermedios de oxidación Fenton de 2,4-D y el residuo sólido obtenido en condiciones subestequiométricas. Los valores observados de porcentaje de COT explicado revelaron la presencia de intermedios que no pudieron cuantificarse, en mayor proporción al disminuir la dosis de H₂O₂. En los efluentes obtenidos empleando dosis de reactivo por debajo del 40% de la cantidad estequiométrica los intermedios no cuantificados presentaron cloro en su composición.

Tabla 5.13. Porcentajes de COT, Cl y N explicados a partir de los intermedios cuantificados, el residuo sólido filtrado y los iones cloruro detectados en los diferentes efluentes de oxidación de 2,4-D.

H ₂ O ₂ (%)	20	40	60	80	100
2,4-Diclorofenol (mg L ⁻¹)	6,1	0	0	0	0
Glicólico (mg L ⁻¹)	7,5	6,0	5,3	3,2	3,1
Acético (mg L ⁻¹)	62,7	43,3	19,4	10,5	6,7
Fórmico (mg L ⁻¹)	22,6	13,1	8,0	7,2	4,0
Fumárico (mg L ⁻¹)	7,0	13,0	11,2	4,3	2,6
Malónico (mg L ⁻¹)	11,8	9,1	3,9	2,1	2,0
Oxálico (mg L ⁻¹)	3,4	10,4	51,4	94,8	113,9
COT _{teórico} (mg L ⁻¹)	41,3	33,9	31,4	35,2	37,2
COT _{medido} (mg L ⁻¹)	58,4	49,2	45,9	41,6	40,7
COT _{explicado} (%)	71	69	68	85	91
Sólido (mg L ⁻¹)	21,1	13,5	0	0	0
[Cl ⁻] (mg L ⁻¹)	38,8	50,7	56,5	56,6	57,3
Cl _{explicado} (%)	80	93	98	98	99

5.3.2.5. Intermedios de oxidación en el tratamiento de MCPA mediante reactivo Fenton

El ensayo realizado empleando una dosis de peróxido de hidrógeno del 10% de la concentración estequiométrica permitió identificar 4-clorofenol, 4-clorocatecol, fenol y catecol como intermedios aromáticos de reacción en el tratamiento de MCPA mediante reactivo Fenton. En los efluentes tratados con dosis de H₂O₂ del 20 al 100% de la cantidad estequiométrica no se detectaron compuestos aromáticos.

La concentración de ácidos orgánicos de cadena corta se recoge en la Figura 5.13 para los efluentes de tratamiento de MCPA obtenidos empleando dosis de H_2O_2 entre el 20 y el 100% de la cantidad estequiométrica. Es destacable la elevada concentración de ácido acético y fórmico en los efluentes tratados en condiciones subestequiométricas, así como de oxálico en las condiciones más oxidantes. En menor concentración, se detectó ácido glicólico en condiciones suaves de oxidación, fumárico en el efluente obtenido con el 40% de la relación estequiométrica de H_2O_2 , y malónico en concentración creciente con la dosis de reactivo.

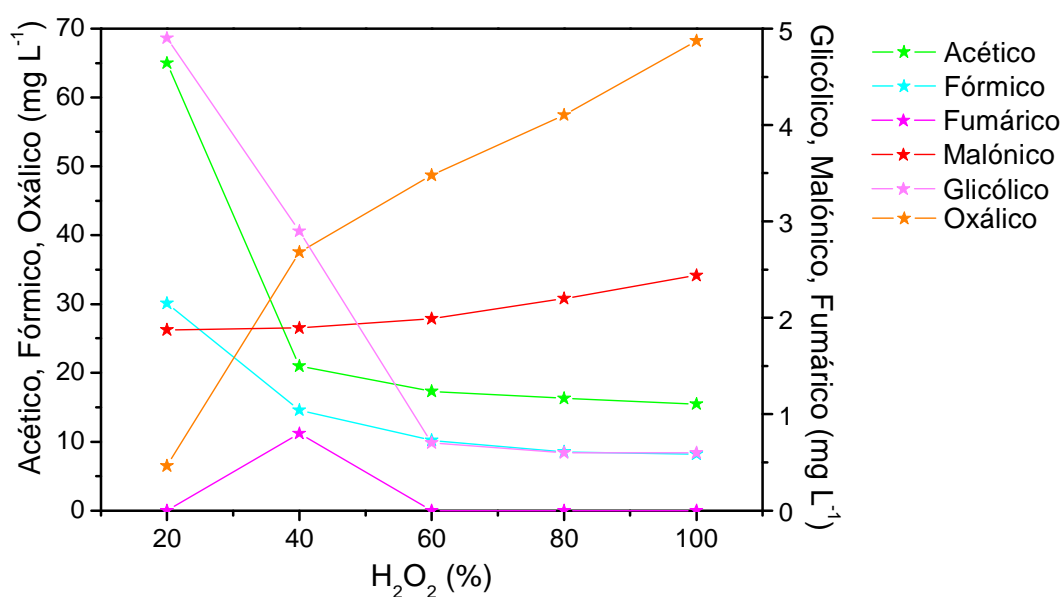


Fig. 5.13. Concentración de ácidos orgánicos en los efluentes de tratamiento por reactivo Fenton de MCPA.

La Figura 5.14 muestra el esquema de reacción propuesto para la oxidación Fenton de MCPA a partir de los intermedios detectados. La rotura inicial de la molécula de herbicida da lugar a ácido glicólico y 4-clorofenol. Este compuesto se oxidaría, según ha sido expuesto para el caso del 2,4-D, a 4-clorocatecol y catecol, o bien a fenol y catecol, originando ácido fumárico a partir de la rotura del anillo bencénico. Los ácidos acético y fórmico se formarían en condiciones suaves de oxidación a partir de los ácidos glicólico y malónico, mientras que el empleo de condiciones más oxidantes daría lugar a ácido oxálico.

Además de los compuestos anteriormente citados, Brillas et al. (2003) identificaron 4-cloro-*o*-cresol en vez de 4-clorofenol en la rotura inicial de la molécula de MCPA mediante oxidación fotoelectro-Fenton. La oxidación de dicho compuesto generaría metilhidroquinona y posteriormente metil-*p*-benzoquinona, que derivaría en ácido fumárico que, por último, se transformaría en oxálico.

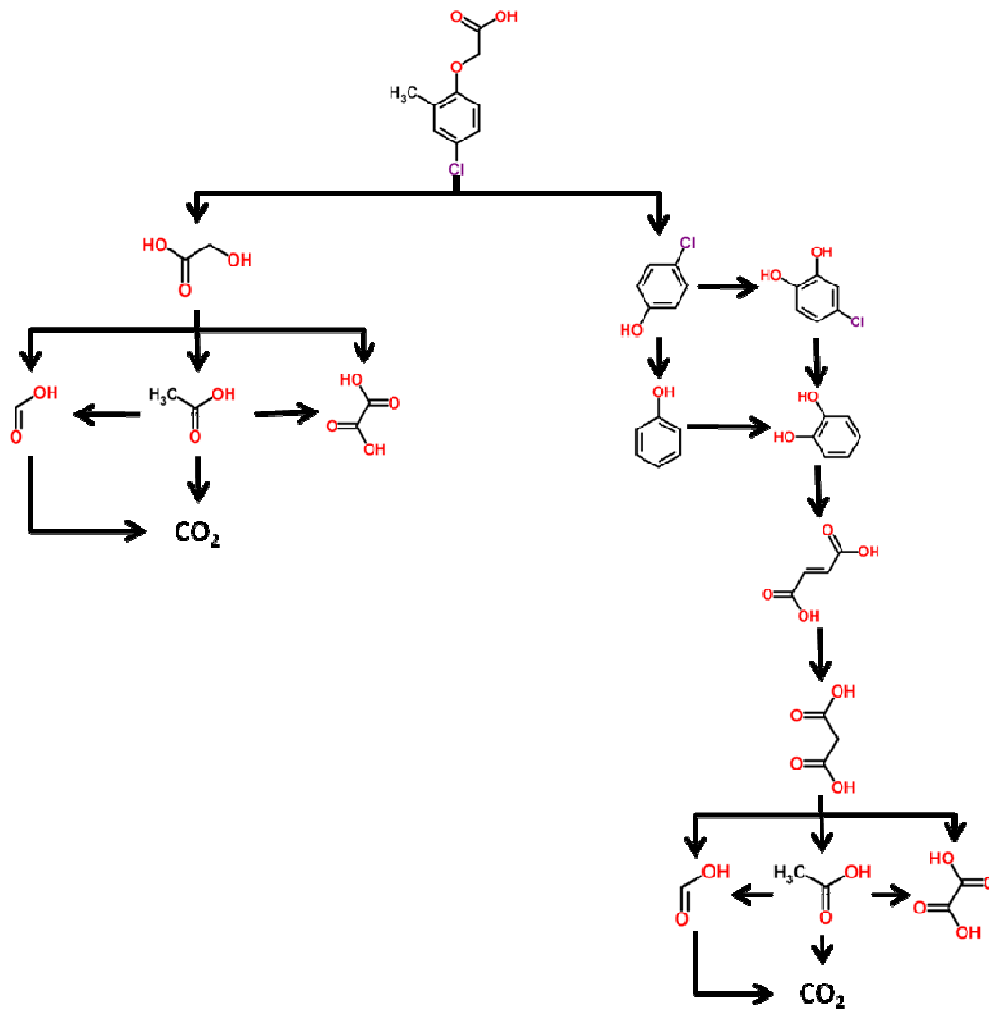


Fig. 5.14. Esquema de reacción propuesto a partir de los intermedios detectados en la oxidación Fenton de MCPA.

Los porcentajes de COT y Cl explicados a partir de los intermedios cuantificados en los efluentes de oxidación Fenton de MCPA se recogen en la Tabla 5.14 para las diferentes concentraciones de H₂O₂ ensayadas. El balance de carbono reveló la presencia de intermedios de reacción no detectados que, en los efluentes obtenidos empleando dosis de peróxido de hidrógeno inferiores al 60% de la cantidad estequiométrica, presentaron cloro en su composición.

Tabla 5.14. Porcentajes de COT, Cl y N explicados a partir de los intermedios cuantificados e iones cloruro detectados en los diferentes efluentes de oxidación de MCPA.

H ₂ O ₂ (%)	20	40	60	80	100
Glicólico (mg L ⁻¹)	4,9	2,9	0,7	0,6	0,6
Acético (mg L ⁻¹)	65,0	21,0	17,3	16,3	15,5
Fórmico (mg L ⁻¹)	30,1	14,6	10,2	8,5	8,2
Fumárico (mg L ⁻¹)	0	0,8	0	0	0
Malónico (mg L ⁻¹)	1,9	1,9	2,0	2,2	2,5
Oxálico (mg L ⁻¹)	6,6	38,4	49,8	58,8	69,8
COT _{teórico} (mg L ⁻¹)	37,8	24,5	23,9	25,6	28,2
COT _{medido} (mg L ⁻¹)	61,2	41,2	36,1	35,8	35,7
COT _{explicado} (%)	62	59	66	71	79
[Cl ⁻] (mg L ⁻¹)	26,1	28,8	30,3	31,4	31,6
Cl _{explicado} (%)	82	90	95	99	99

5.3.3. Toxicidad y biodegradabilidad de los efluentes de oxidación Fenton de herbicidas

La toxicidad y biodegradabilidad de los efluentes obtenidos en el proceso Fenton se evaluaron con el objetivo de establecer la dosis de reactivo óptima para llevar a cabo el tratamiento combinado Fenton-biológico para cada uno de los herbicidas estudiados. La Figura 5.15 muestra los valores de ecotoxicidad y porcentaje de toxicidad para fango activo en función de la dosis empleada de H₂O₂, junto con el porcentaje de nitrógeno y cloro liberados de la molécula de herbicida. Dichos porcentajes se calcularon a partir de la concentración medida de NH₄⁺, NO₃⁻ y Cl⁻, así como de residuo sólido en los efluentes de alacloro, atrazina y 2,4-D. La diferencia entre el porcentaje explicado y el porcentaje liberado resulta de la inclusión o no en el balance del N y el Cl presente en los intermedios cuantificados.

En los efluentes en los que no se detectaron intermedios nitrogenados o clorados, el porcentaje de Cl y N explicado coincide con el liberado de la molécula de herbicida.

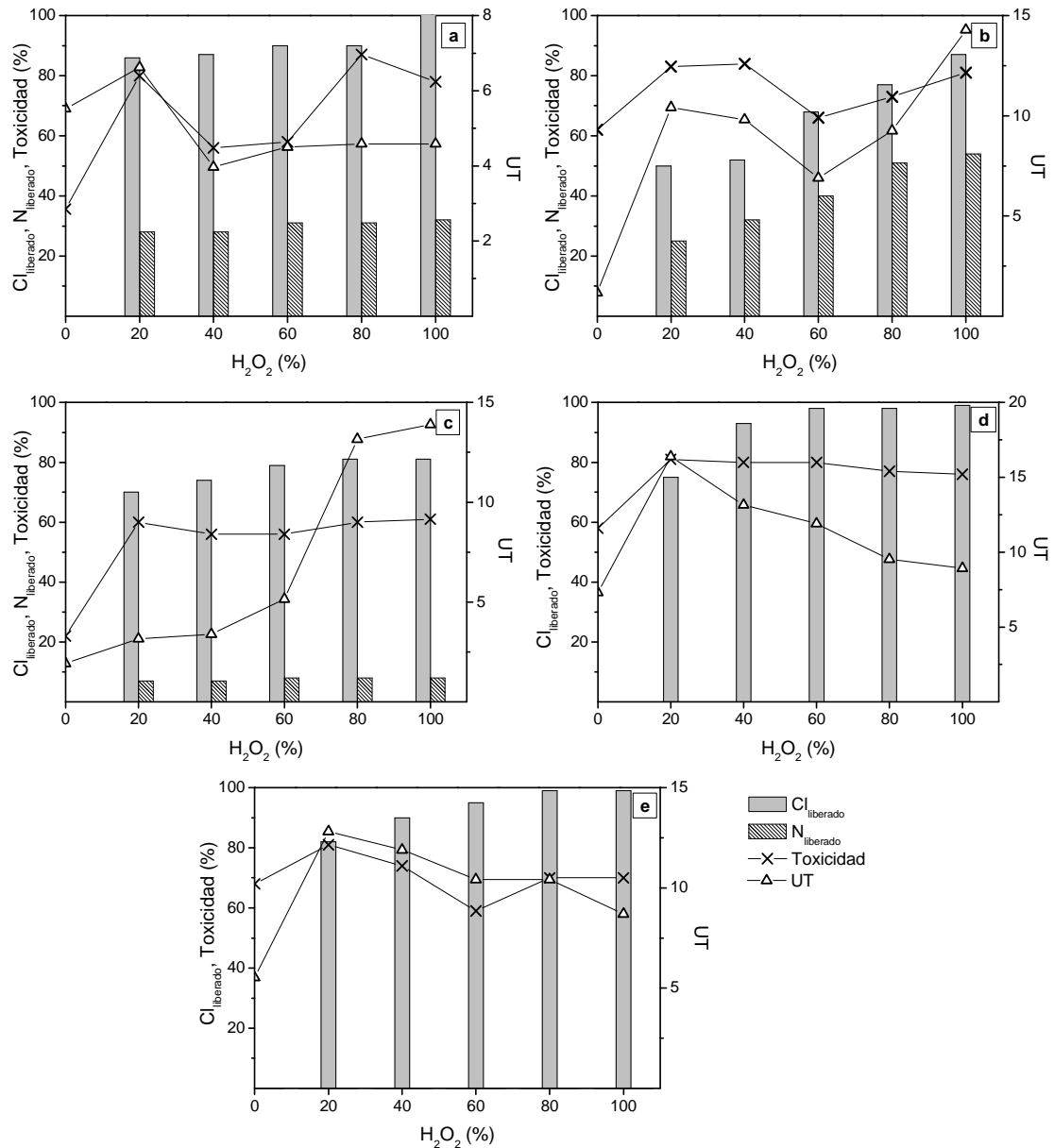


Fig. 5.15. Ecotoxicidad, porcentaje de toxicidad para fango activo y porcentaje de Cl y N liberado en los efluentes de oxidación de diurón (a), alacoloro (b), atrazina (c), 2,4-D (d) y MCPA (e) en función de la dosis inicial de reactivo.

El aumento de la concentración inicial de H₂O₂ permitió una mayor liberación de Cl y N, existiendo una mayor resistencia al tratamiento Fenton por parte de los radicales nitrogenados frente a los clorados. En este sentido, Malato et al. (2003)

observaron una dechloración total en el tratamiento de diurón (22 mg L^{-1}) mediante fotocatalisis utilizando TiO_2 , mientras que la liberación de N no alcanzó el 90%.

En todos los casos tuvo lugar un aumento de la toxicidad al llevar a cabo la oxidación del compuesto, observándose diferentes tendencias con el aumento de la dosis de peróxido de hidrógeno. En el tratamiento de diurón (Figura 5.15.a) y alacloro (Figura 5.15.b), la toxicidad más baja se observó en los efluentes obtenidos empleando concentraciones intermedias de reactivo. La elevada toxicidad de los efluentes tratados con una dosis inicial del 20% de la cantidad estequiométrica de H_2O_2 pudo estar relacionada con la presencia de intermedios derivados de la anilina, 3,4-dicloroanilina en el caso del efluente de diurón, y 2,6-dietilanilina en el de alacloro. El efecto tóxico de estos compuestos puede ser importante incluso en concentraciones traza, puesto que el valor de su EC_{50} para *Vibrio fischeri* alcanza un valor de $0,61 \text{ mg L}^{-1}$ (Bonnet et al. 2007) y $5,53 \text{ mg L}^{-1}$ (Aruoja et al. 2011) para 3,4-dicloroanilina y 2,6-dietilanilina, respectivamente.

El tratamiento de disoluciones acuosas de alacloro mediante ozonización fotocatalítica (Farre et al. 2007b) y de diurón mediante fotólisis (Bonnemoy et al. 2004) originó, al igual que en el presente trabajo, un aumento de la toxicidad. Durante el tratamiento de diurón mediante UV/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3$ (Farre et al. 2005) y fotocatalisis con TiO_2 (Muneer et al. 1999) se observó un aumento de la toxicidad en las primeras etapas de tratamiento, lográndose finalmente la detoxificación del efluente. Además, la aplicación de UV/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3$ provocó un aumento de la toxicidad de alacloro (50 mg L^{-1}) con el tiempo de irradiación (Farre et al. 2005).

En los efluentes de atrazina (Figura 5.15.c) se observó un aumento de la ecotoxicidad con el empleo de condiciones más oxidantes, pese a producirse una mayor liberación de cloro. Sin embargo, la mayor parte del nitrógeno presente inicialmente en la molécula de herbicida se encontró en forma de intermedios aromáticos en los efluentes. Tal y como se ha comentado con anterioridad, el aumento de la dosis inicial de H_2O_2 supuso una mayor concentración de DEIHA en el efluente (Figura 5.9), cuya elevada toxicidad se ha observado anteriormente en el tratamiento de atrazina mediante fotocatalisis con TiO_2 (Chan et al. 2004). Este

efecto, sin embargo, tuvo relevancia en términos de ecotoxicidad, mientras que el fango activo no mostró una especial sensibilidad al DEIHA frente a los intermedios aromáticos mayoritarios en los efluentes obtenidos en condiciones subestequiométricas, DEHA y DEIA.

El tratamiento de atrazina (38 mg L^{-1}) mediante UV/H₂O₂/O₃ (Farre et al. 2005) produjo un aumento de la toxicidad durante las primeras etapas del proceso, que no logró reducirse aumentando el tiempo de irradiación. Asimismo, el tratamiento mediante ozonización fotocatalítica de este herbicida también originó un aumento de la toxicidad sobre fangos activos (Farre et al. 2007b).

En los efluentes de 2,4-D (Figura 5.15.d) y MCPA (Figura 5.15.e), la toxicidad disminuyó levemente con el aumento de la concentración inicial de H₂O₂, correspondiéndose con aumento de la liberación de cloro. A pesar de ello, los efluentes de tratamiento de ambos herbicidas presentaron una mayor toxicidad que las disoluciones de partida. En este contexto, Lu et al. (1997) observaron el aumento de la toxicidad del 2,4-D con la aplicación de un tratamiento mediante TiO₂/UV/O₂.

Los elevados valores de porcentaje de toxicidad para fango activo obtenidos para los efluentes de tratamiento mediante reactivo Fenton de los diferentes herbicidas supusieron un riesgo a tener en cuenta a la hora de establecer el tratamiento combinado. A pesar de ello, se llevaron a cabo ensayos de biodegradabilidad para poder estudiar la viabilidad del acoplamiento.

La Figura 5.16 muestra los valores obtenidos de índice de biodegradabilidad junto con la composición de los efluentes en fracciones de COT para diferentes concentraciones iniciales de peróxido de hidrógeno. La aplicación de reactivo Fenton permitió un aumento significativo de la biodegradabilidad, apreciándose diferentes tendencias con el aumento de la cantidad de H₂O₂ empleada. En los efluentes de oxidación Fenton de diurón (Figura 5.16.a) los valores más altos del índice de biodegradabilidad se observaron empleando dosis intermedias de H₂O₂, coincidiendo con la aparición de una elevada concentración de ácidos orgánicos. Farre et al. (2006) observaron un aumento del índice DBO₅/DQO del 30 al 60% con

el empleo de una dosis de H_2O_2 del 32 al 84% de la cantidad estequiométrica en el tratamiento de diurón (42 mg L^{-1}) y linurón (75 mg L^{-1}) mediante el proceso foto-Fenton.

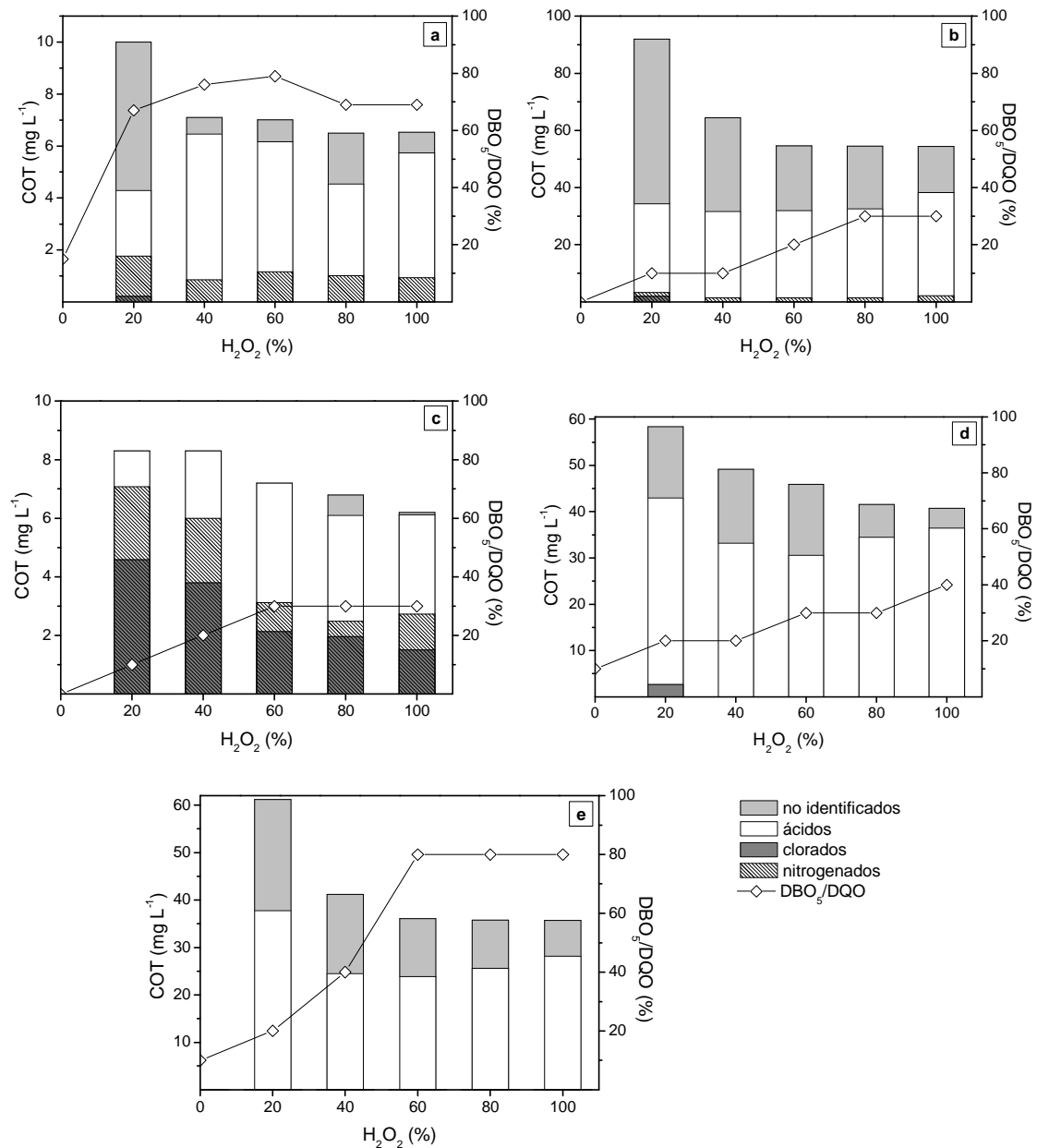


Fig. 5.16. Índice de biodegradabilidad y composición del efluente en ácidos orgánicos, compuestos clorados, nitrogenados y no identificados para los efluentes de diurón (a), alachloro (b), atrazina (c), 2,4-D (d) y MCPA (e) empleando diferentes concentraciones iniciales de H_2O_2 .

Los resultados obtenidos para alacloro (Figura 5.16.b), atrazina (Figura 5.16.c) y MCPA (Figura 5.16.e) mostraron la estabilización del índice de biodegradabilidad a concentraciones elevadas de reactivo debido a una relativa similitud en la composición de los efluentes. Los efluentes de alacloro y atrazina presentaron una relación DBO_5/DQO muy baja, lo cual pudo deberse a la inhibición de la biomasa a causa de la presencia de intermedios nitrogenados y clorados, detectados en los efluentes de atrazina (DEIA, DEHA y DEIHA) pero no identificados en los efluentes de alacloro. En este sentido, se ha observado un aumento de la biodegradabilidad de los efluentes de tratamiento de alacloro (50 mg L^{-1}) mediante el proceso foto-Fenton tratados con un mayor tiempo de reacción debido a la eliminación de intermedios inhibitorios, como la 2,6-dietilanilina (Ballesteros Martin et al. 2008).

Los efluentes de 2,4-D (Figura 5.16.d) presentaron un aumento progresivo del índice de biodegradabilidad con el incremento de la dosis inicial de H_2O_2 , debido a una mayor concentración de ácidos y una disminución de intermedios clorados y no detectados, que, en principio, resultaron ser no biodegradables. Los efluentes de tratamiento de este herbicida mostraron, en general, una menor biodegradabilidad que los obtenidos para los demás herbicidas, lo contrario a lo que cabría esperar teniendo en cuenta su elevado contenido en ácidos orgánicos de cadena corta. Sin embargo, la presencia de intermedios no identificados pudo provocar la inhibición del metabolismo de la biomasa, obteniéndose valores de DBO_5 más bajos de lo esperado.

La evaluación de la biodegradabilidad de los efluentes del proceso Fenton se completó con ensayos respirométricos de 24 h. Los resultados de estos ensayos se recogen en el Anexo IV. A modo de ejemplo, la Figura 5.17 muestra la eliminación de COT y la evolución de la VECO para dos efluentes de tratamiento de diurón, obtenidos utilizando el 40 y 100% de la cantidad estequiométrica de H_2O_2 . A partir de los respirogramas se observó una mayor actividad de los microorganismos que recibieron el efluente de oxidación tratado con el 40% de la concentración estequiométrica de peróxido de hidrógeno. La evolución de la VECO permitió distinguir fracciones de materia orgánica: una rápidamente biodegradable, consumida en las 2 primeras horas de ensayo y correspondiente a los ácidos

orgánicos más fácilmente biodegradables, otra biodegradable a medio plazo, que desapareció tras las 24 h, y una última fracción refractaria que generó COT residual.

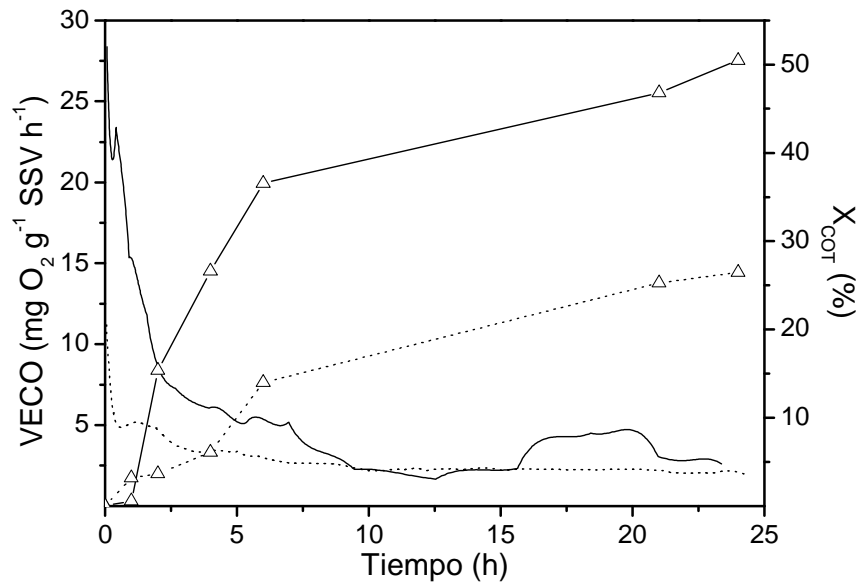


Fig. 5.17. Evolución de VECO (línea) y conversión de COT (símbolos) en los ensayos de biodegradabilidad rápida realizados con los efluentes de oxidación de diurón tratados con el 40% (línea sólida) y el 100% (línea punteada) de la cantidad estequiométrica de peróxido de hidrógeno.

En el ensayo realizado con la dosis estequiométrica de H₂O₂ se observó cierta actividad inicial, aunque la VECO fue notablemente más baja que en el ensayo anterior. Esto pudo ser consecuencia de la menor concentración de intermedios rápidamente biodegradables en el efluente, ya que el componente mayoritario era ácido oxálico, más difícil de degradar que otros ácidos como acético o malónico (Molina et al. 2010). La mayor actividad en la biomasa permitió finalmente una eliminación de COT del 50% en el efluente tratado en condiciones subestequiométricas, frente a un 27% en el tratado con una mayor concentración de peróxido de hidrógeno. Lapertot et al. (2006b) observaron un aumento de la biodegradabilidad en efluentes parcialmente tratados de diurón, alcanzando valores de conversión de COT del 70%.

La Figura 5.18 muestra la evolución temporal de VECO y conversión de COT en los ensayos de biodegradabilidad rápida en los que se obtuvo la mayor actividad biológica para cada uno de los herbicidas restantes. Los valores más altos de VECO se observaron en el ensayo realizado con el efluente de oxidación de MCPA tratado con un 60% de la dosis estequiométrica de peróxido de hidrógeno, en el que se alcanzó un valor de $30 \text{ mg O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ SSV h}^{-1}$. Para los compuestos restantes, alacloro, atrazina y 2,4-D, los efluentes que presentaron una mayor actividad biológica en el ensayo de biodegradabilidad rápida fueron los tratados con un 80, 60 y 100% de H_2O_2 , respectivamente, y en todos ellos la VECO máxima alcanzó un valor en torno a $10 \text{ mg O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ SSV h}^{-1}$.

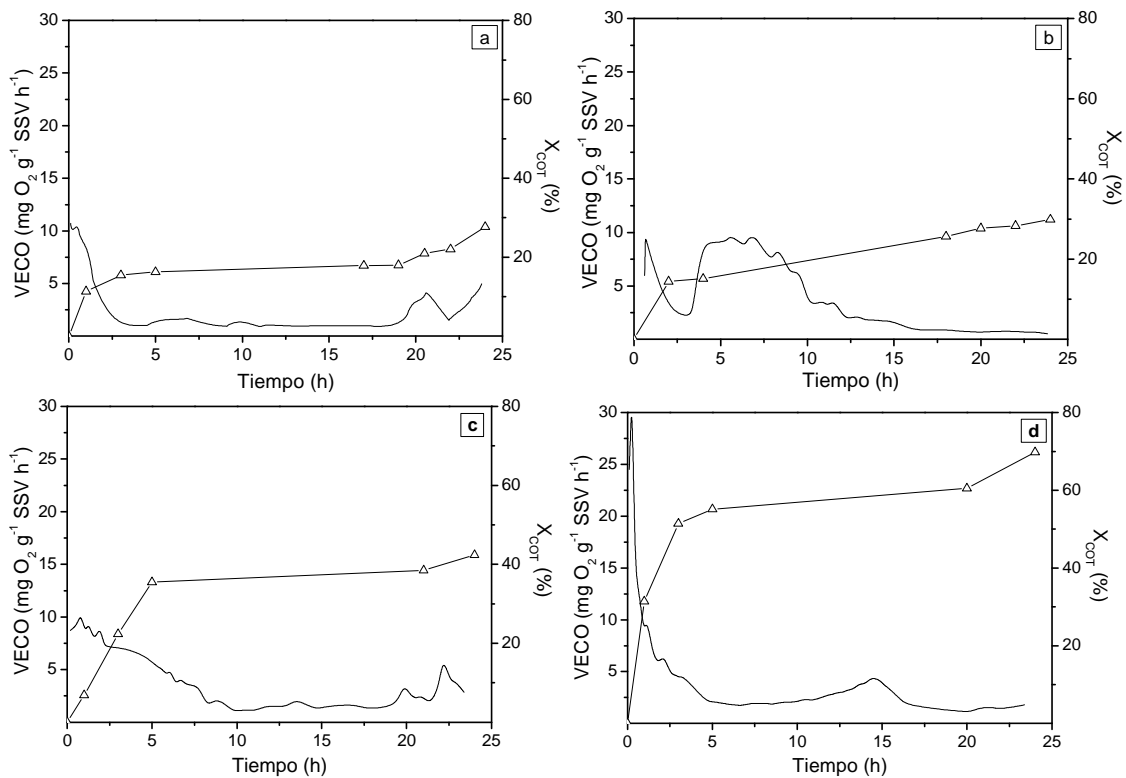


Fig. 5.18. Evolución temporal de VECO y conversión de COT en los ensayos de biodegradabilidad rápida realizados para los efluentes de tratamiento de alacloro (80% de H_2O_2) (a), atrazina (60% de H_2O_2) (b), 2,4-D (H_2O_2 estequiométrica) (c) y MCPA (60% de H_2O_2) (d).

Los resultados obtenidos para el efluente de tratamiento de alacloro (Figura 5.18.a) mostraron un corto período de actividad inicial en el que se eliminó en torno al 15% de COT, seguido de una larga fase de latencia. Durante las cinco

últimas horas de ensayo tuvo lugar un ligero aumento de la actividad de la biomasa, lográndose una conversión final de COT del 28%. Lapertot et al. (2006b) observaron valores de conversión de COT de hasta el 90% en ensayos de biodegradabilidad inherente realizados con efluentes parcialmente tratados de alacloro mediante el proceso foto-Fenton. Estos resultados ponen de manifiesto que el test Zahn Wellens no proporciona información sobre la degradación en reactores biológicos con fango activo no aclimatado.

El perfil respirométrico del efluente de oxidación Fenton de atrazina (Figura 5.18.b) mostró la presencia de diferentes fracciones de materia orgánica biodegradable, la primera consumida durante las dos primeras horas (en torno a un 14% de COT), y la segunda desde las 5 a las 15 h de ensayo, período durante el cual se degradó gran parte del COT presente en el medio, logrando un valor final del 30%. Lapertot et al. (2006b) observaron valores de conversión de COT del 40% en ensayos de biodegradabilidad inherente realizados con efluentes parcialmente tratados de atrazina mediante el proceso foto-Fenton.

En el ensayo realizado con el efluente de 2,4-D (Figura 5.18.c), la fase de actividad inicial se extendió durante 8 h, eliminándose cerca del 40% del COT, aunque posteriormente apenas hubo evidencias de degradación biológica. En el efluente de oxidación de MCPA se observó no sólo una importante actividad inicial, sino que además, la eliminación de materia orgánica continuó, aunque de forma más pausada, a lo largo de todo el ensayo, lográndose una conversión final de COT del 70% (Figura 5.18.d).

Los valores de índice de biodegradabilidad obtenidos para los diferentes efluentes analizados no presentaron relación con la conversión de COT alcanzada en los ensayos respirométricos de 24 h, ya que cada parámetro aportó información diferente. Los resultados proporcionados por el ensayo de biodegradabilidad rápida reflejaron tanto los efectos tóxicos como la inhibición por sustrato. Sin embargo, la mayor duración del test de DBO₅ permitió a la biomasa eliminar la materia orgánica pese a que la velocidad de degradación se viera inhibida. El índice DBO₅/DQO puede ser útil como parámetro de vertido a cauce, mientras que el

método respirométrico de biodegradabilidad rápida refleja con mayor exactitud el efecto sobre un reactor biológico.

La Figura 5.19 muestra los valores de conversión total de COT alcanzados por la combinación del tratamiento mediante reactivo Fenton y el ensayo de biodegradabilidad rápida para los cinco herbicidas estudiados, diferenciando la fracción lograda en cada proceso. Los valores de conversión más bajos se obtuvieron para los efluentes de tratamiento de atrazina, mientras que los de MCPA presentaron los valores más elevados, llegando casi hasta el 90%.

La mayor eliminación total de COT se obtuvo empleando dosis intermedias de reactivo en el caso de diurón (Figura 5.19.a), atrazina (Figura 5.19.c) y MCPA (Figura 5.19.e). Aunque la conversión de COT alcanzada en los efluentes del proceso Fenton fue ligeramente inferior a la obtenida en condiciones más oxidantes, la eliminación lograda en el ensayo biológico fue más importante, consiguiéndose una mayor eficacia global utilizando una menor cantidad de peróxido de hidrógeno. Por ello, las dosis de reactivo elegidas para llevar a cabo el estudio del tratamiento combinado fueron del 40% de la dosis estequiométrica de H_2O_2 para diurón, y del 60% para atrazina y MCPA.

El empleo de dosis de H_2O_2 por debajo del 80% de la cantidad estequiométrica para el tratamiento por oxidación Fenton de 2,4-D (Figura 5.19.d) y del 60% para el tratamiento de alacloro (Figura 5.19.b) resultó insuficiente. Los efluentes finales obtenidos empleando condiciones más severas en el proceso Fenton presentaron porcentajes de eliminación total de COT similares, en torno al 66% los de alacloro y 68% los de 2,4-D. Con el objetivo de optimizar el uso de reactivos, se seleccionaron las dosis del 60% y 80% de H_2O_2 para alacloro y 2,4-D, respectivamente, de manera que se conseguiría una eliminación de COT ligeramente menor que con dosis mayores de reactivo pero también una significativa reducción del coste principal del proceso.

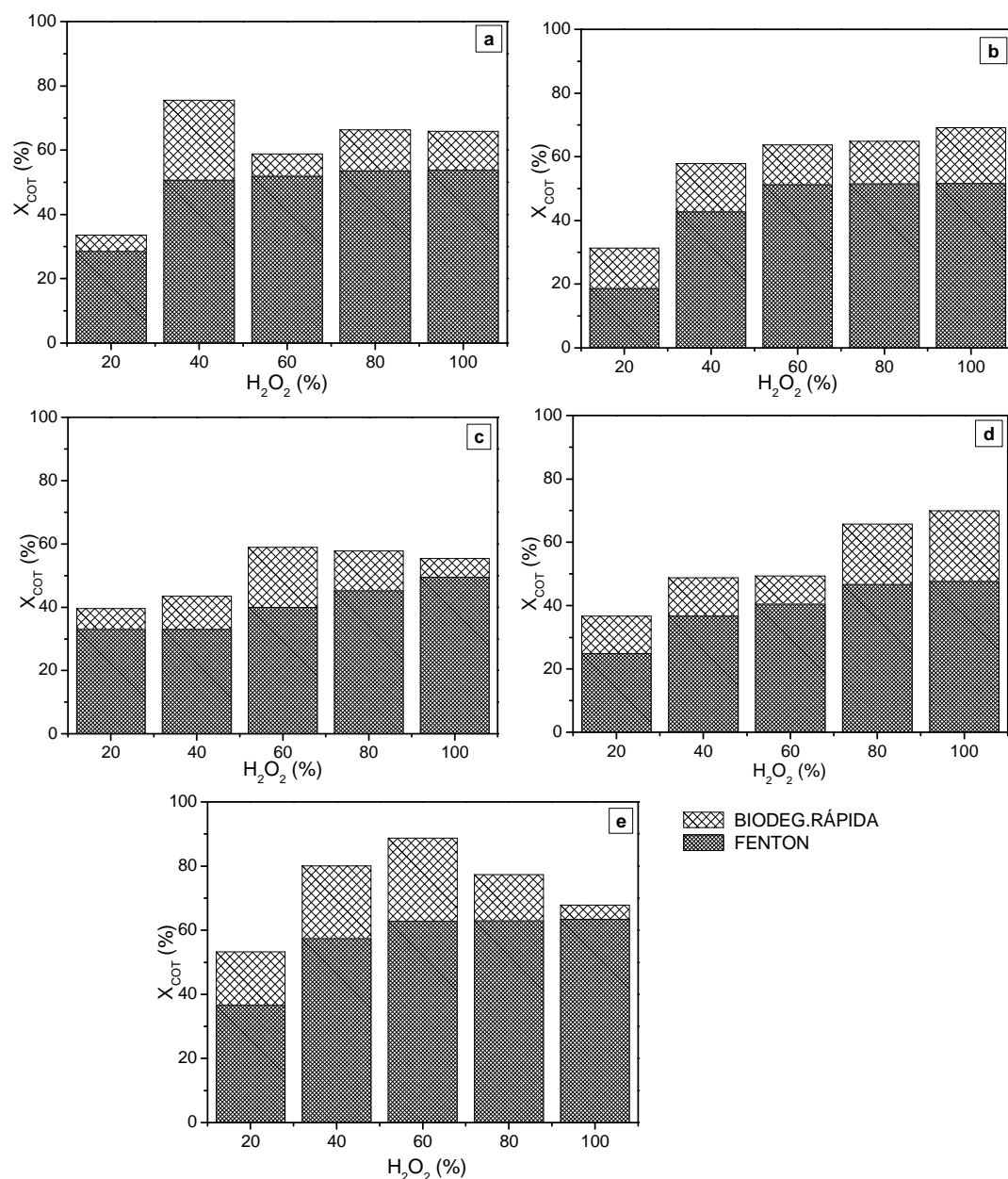


Fig. 5.19. Conversión de COT alcanzada en el tratamiento por oxidación Fenton y en el ensayo de biodegradabilidad rápida en función de la concentración de peróxido de hidrógeno utilizada para diurón (a), alacloro (b), atrazina (c), 2,4-D (d) y MCPA (e).

5.3.4. Tratamiento biológico de los efluentes de oxidación Fenton de herbicidas

Los efluentes del proceso Fenton seleccionados para cada herbicida (aquéllos tratados con el 40% de la dosis de H₂O₂ estequiométrica para diurón, 60% de la

dosis de H₂O₂ estequiométrica para alacloro, atrazina y MCPA y 80% de la dosis de H₂O₂ estequiométrica para 2,4-D) se sometieron a un proceso de degradación biológica en reactores SBR. La Tabla 5.15 muestra los valores de DQO y COT de dichos efluentes, incluyendo la carga másica (C_m) recibida por cada reactor con el efluente del proceso Fenton como única fuente de carbono. Dado que las condiciones de operación fueron fijas en todos los ensayos, la C_m tratada en el sistema biológico fue diferente para cada compuesto estudiado. En el tratamiento de los efluentes de diurón y atrazina, el bajo contenido en materia orgánica supuso una C_m a tratar notablemente baja. Sin embargo, se llevó a cabo el estudio del tratamiento combinado en SBR para ampliar los resultados obtenidos en el ensayo de biodegradabilidad rápida.

Tabla 5.15. DQO y COT de los efluentes del proceso Fenton y C_m tratada en los reactores biológicos.

	Diurón	Alacloro	Atrazina	2,4-D	MCPA
DQO (mg L⁻¹)	25,8	153,6	29,6	107,0	67,2
COT (mg L⁻¹)	7,0	54,6	7,2	41,6	36,1
C_m (kg DQO kg⁻¹ SSV d⁻¹)	0,05	0,31	0,06	0,21	0,13

El tratamiento biológico de los efluentes del proceso Fenton en SBR se llevó a cabo durante 12 ciclos de reacción. Una vez alcanzados valores estables de conversión de materia orgánica, se analizó la evolución temporal de VECO, DQO, COT y concentración de ácidos orgánicos y formas nitrogenadas inorgánicas a lo largo de un ciclo. La Figura 5.20 muestra los resultados obtenidos para el efluente de oxidación Fenton de 2,4-D tratado con el 80% de la cantidad estequiométrica de peróxido de hidrógeno.

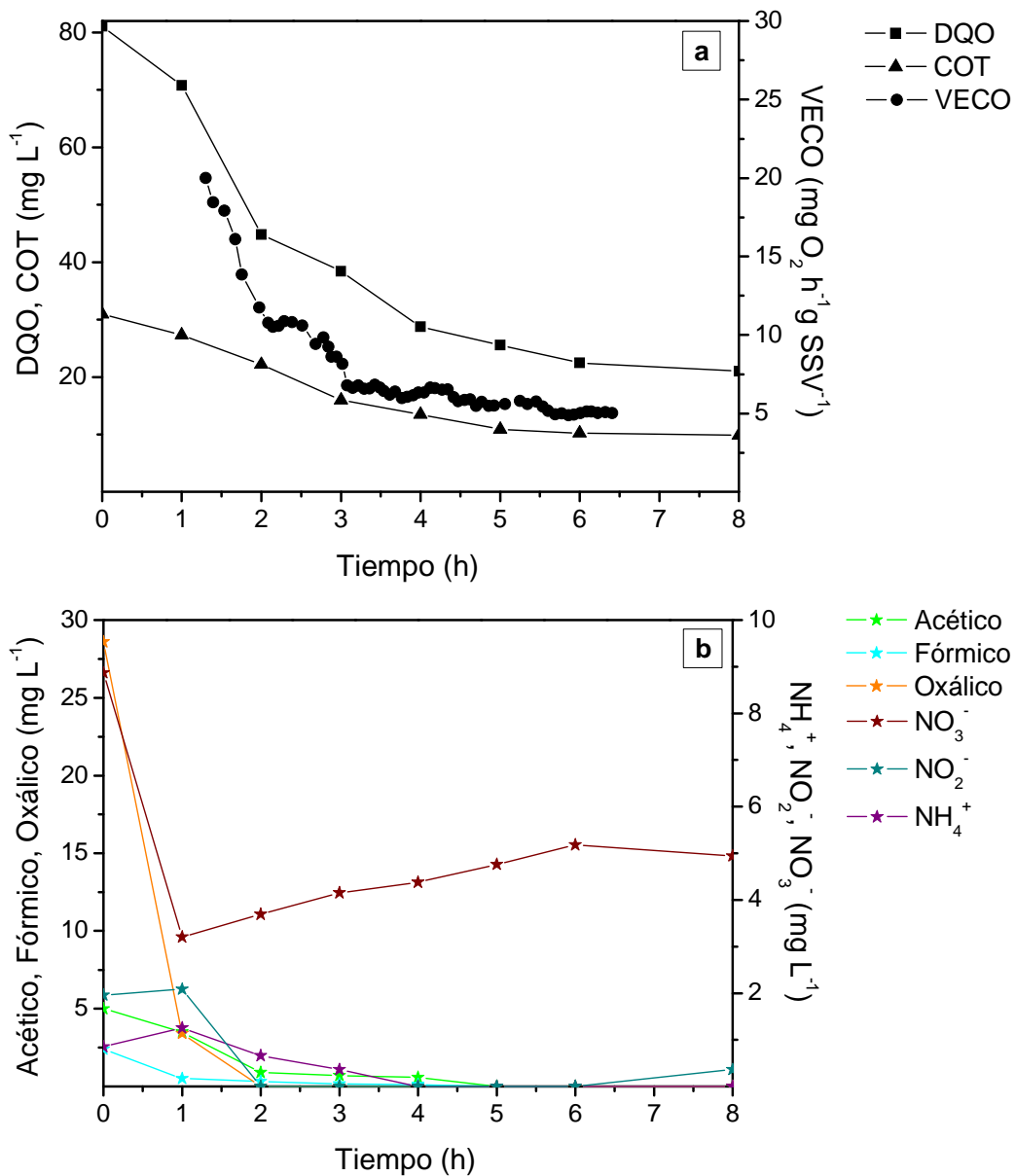


Fig. 5.20. Evolución temporal de VECO, DQO y COT (a) y concentración de ácidos y formas nitrogenadas inorgánicas (b) durante el décimo ciclo de operación del SBR tratando el efluente seleccionado de 2,4-D.

Durante la etapa de llenado anóxico se observó una disminución significativa de COT y DQO, coincidiendo con la eliminación casi completa de ácido oxálico, acético y fórmico, y una importante reducción de la concentración de NO₃⁻. Esta vía de eliminación de materia orgánica en ausencia de oxígeno se debe a procesos de desnitrificación heterotrófica, en los que los compuestos orgánicos se utilizan como dadores externos de electrones para la reducción de nitrato (Bernet et al.

1996, Rustrian et al. 1997, Carini et al. 2003). La posibilidad de alternar procesos aeróbicos y anóxicos es una ventaja de la tecnología SBR frente a otro tipo de reactores biológicos, y puede ser beneficioso en el tratamiento biológico de efluentes procedentes de procesos de oxidación avanzada con un alto contenido en ácido oxálico, teniendo en cuenta su baja biodegradabilidad aerobia. Durante la primera hora de la etapa de reacción se observó una importante reducción de DQO y COT, así como elevados valores de VECO, poniendo de manifiesto la eliminación de compuestos orgánicos fácilmente biodegradables mediante el metabolismo aerobio de la biomasa. Posteriormente, la actividad de los microorganismos se ralentizó, descendiendo la VECO progresivamente hasta alcanzar valores de respiración endógena.

Los parámetros de seguimiento del proceso de degradación biológica a lo largo de un ciclo de tratamiento del efluente de oxidación Fenton de diurón obtenido empleando el 40% de la dosis estequiométrica de peróxido de hidrógeno se muestran en la Figura 5.21. Durante la fase de llenado anóxico se eliminó una importante cantidad de materia orgánica mediante desnitrificación, principalmente en forma de ácido maleico, acético y fórmico, reduciéndose a su vez de manera importante la concentración de nitratos. Las trazas de acético y maleico que permanecieron tras la etapa de llenado pudieron eliminarse por completo durante la fase de reacción aerobia, mientras que el ácido fórmico resultó más difícil de degradar en presencia de oxígeno y la anilina no pudo eliminarse. El proceso de nitrificación durante la etapa de reacción aerobia quedó reflejado por el aumento de la concentración de nitratos y la eliminación parcial de amonio. El perfil respirométrico obtenido mostró diferentes fases en la degradación aerobia, con una importante actividad biológica durante la primera hora de reacción, seguida por un período de actividad moderada de 2 h, disminuyendo posteriormente la VECO hasta alcanzar valores de respiración endógena.

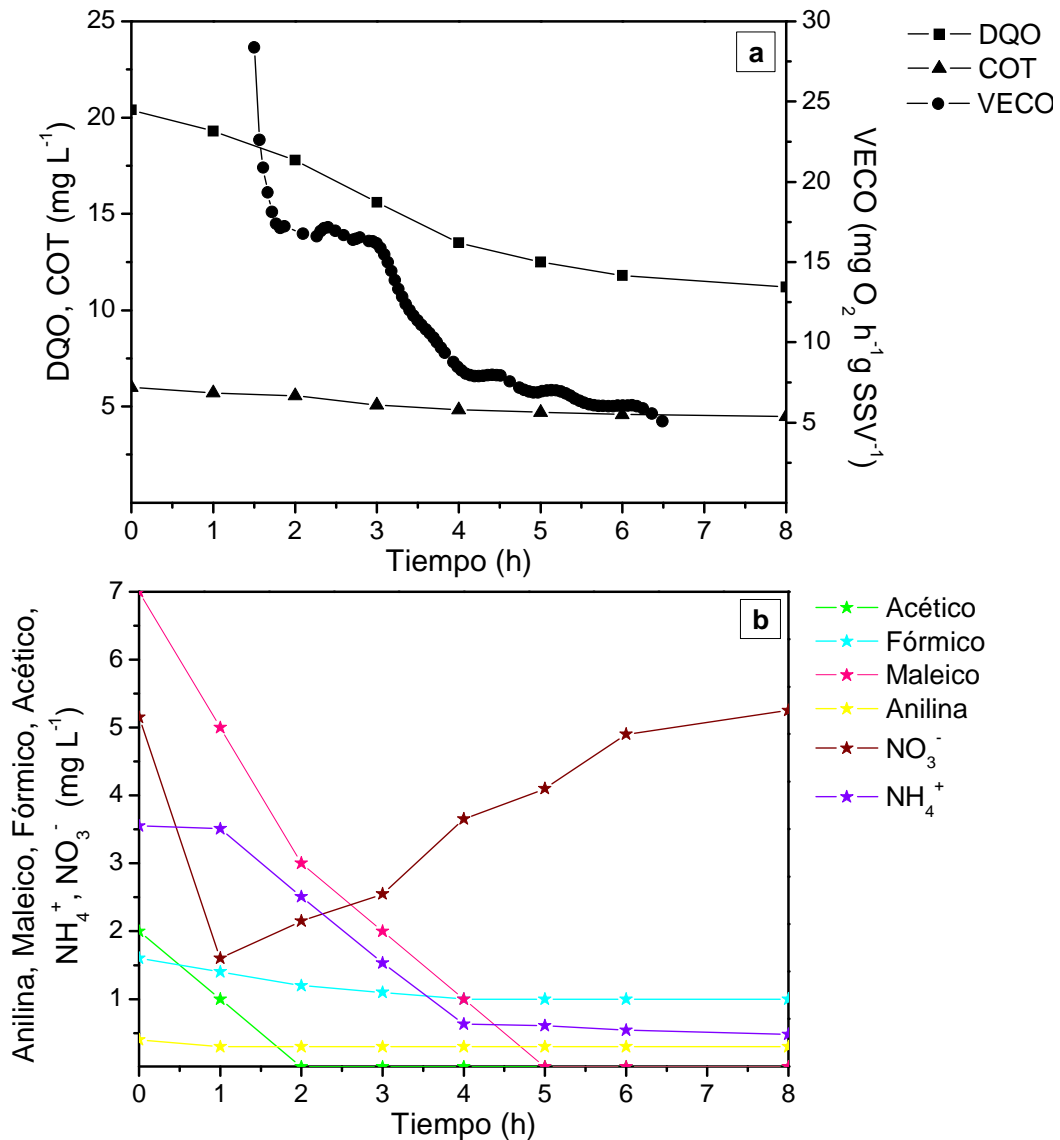


Fig. 5.21. Evolución temporal de DQO, COT y VECO (a), y de intermedios y formas nitrogenadas (b) a lo largo del séptimo ciclo de reacción durante el tratamiento biológico de los efluentes de oxidación Fenton de diurón.

La Figura 5.22 muestra la evolución en un ciclo de los parámetros de seguimiento del proceso biológico en el SBR de tratamiento del efluente de oxidación Fenton de alacloro obtenido empleando el 60% de la dosis estequiométrica de peróxido de hidrógeno. En la fase de llenado se produjo de nuevo una importante degradación anóxica de ácidos orgánicos con la correspondiente disminución de la concentración de nitratos. El ácido acético se eliminó por completo durante las primeras horas de reacción aerobia, coincidiendo con una importante actividad biológica, reflejada en elevados valores de VECO, que disminuyeron

progresivamente hasta alcanzar valores constantes. El ácido oxálico se degradó preferentemente una vez la concentración de acético se encontró por debajo de los 5 mg L^{-1} . La anilina se eliminó en un 40%, a diferencia del SBR de tratamiento del efluente de diurón, pudiendo deberse a que la biomasa, al recibir una C_m mayor, pudo aclimatarse más rápidamente a los intermedios con biodegradabilidad moderada. El empleo de condiciones aerobias favoreció la oxidación de amonio a nitratos, mientras que la concentración de nitritos permaneció aproximadamente constante.

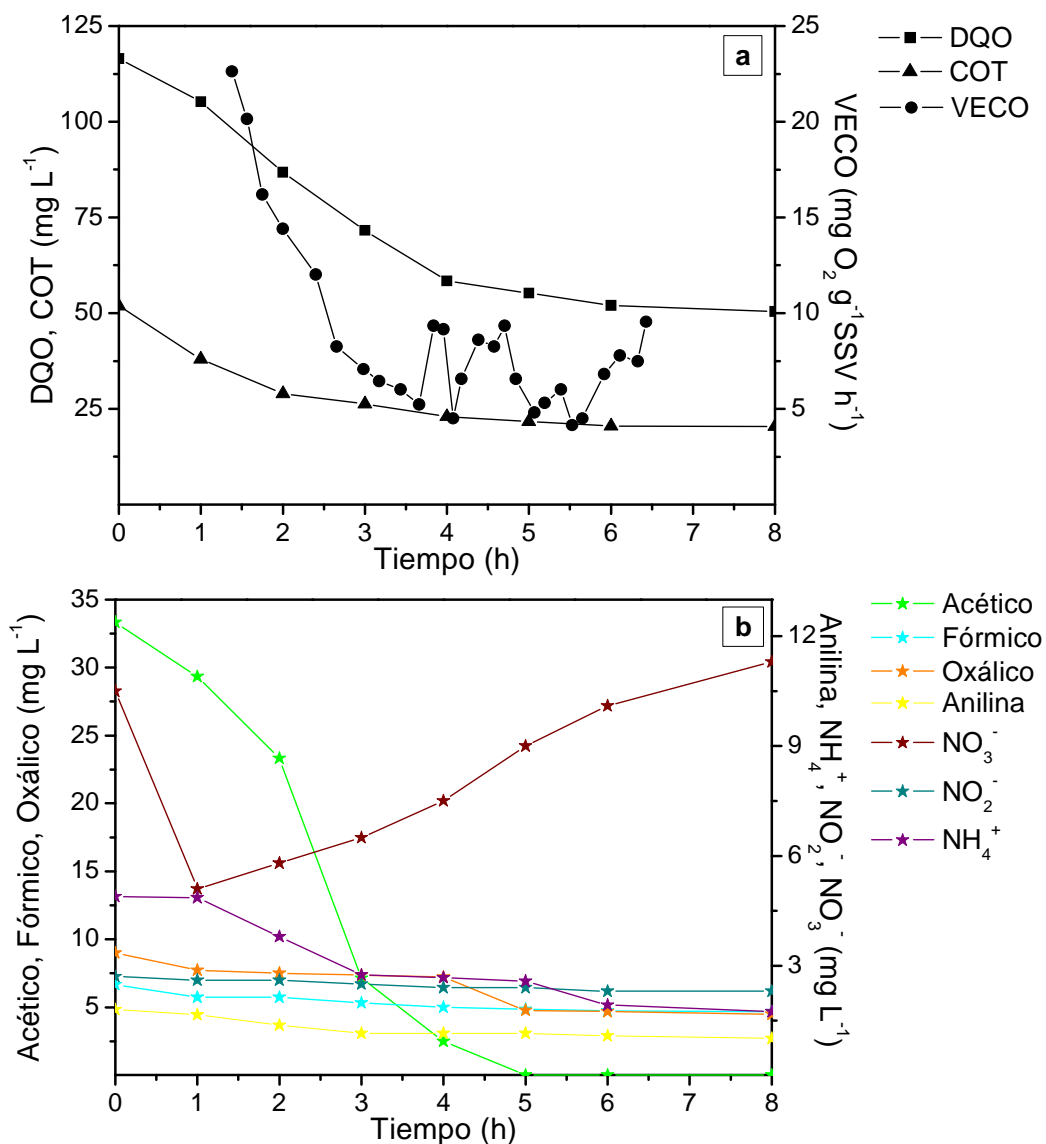


Fig. 5.22. Evolución temporal de DQO, COT y VECO (a), y de intermedios y formas nitrogenadas (b) a lo largo del cuarto ciclo de reacción durante el tratamiento biológico de los efluentes de oxidación Fenton de alacloro.

Los resultados del tratamiento biológico obtenidos para el efluente de oxidación de atrazina tratado con el 60% de la dosis estequiométrica de H_2O_2 se muestran en la Figura 5.23. Los valores de VECO registrados fueron más bajos que para los demás compuestos, observándose picos de actividad microbiana al inicio de la reacción y a las 5 h de ensayo. El ácido acético presente en el reactor tras la etapa anóxica de llenado se eliminó por completo durante las primeras horas de reacción aerobia, mientras que el ácido fórmico y el intermedio aromático DEIA fueron más difíciles de degradar, lográndose una conversión en torno al 55 y el 15%, respectivamente.

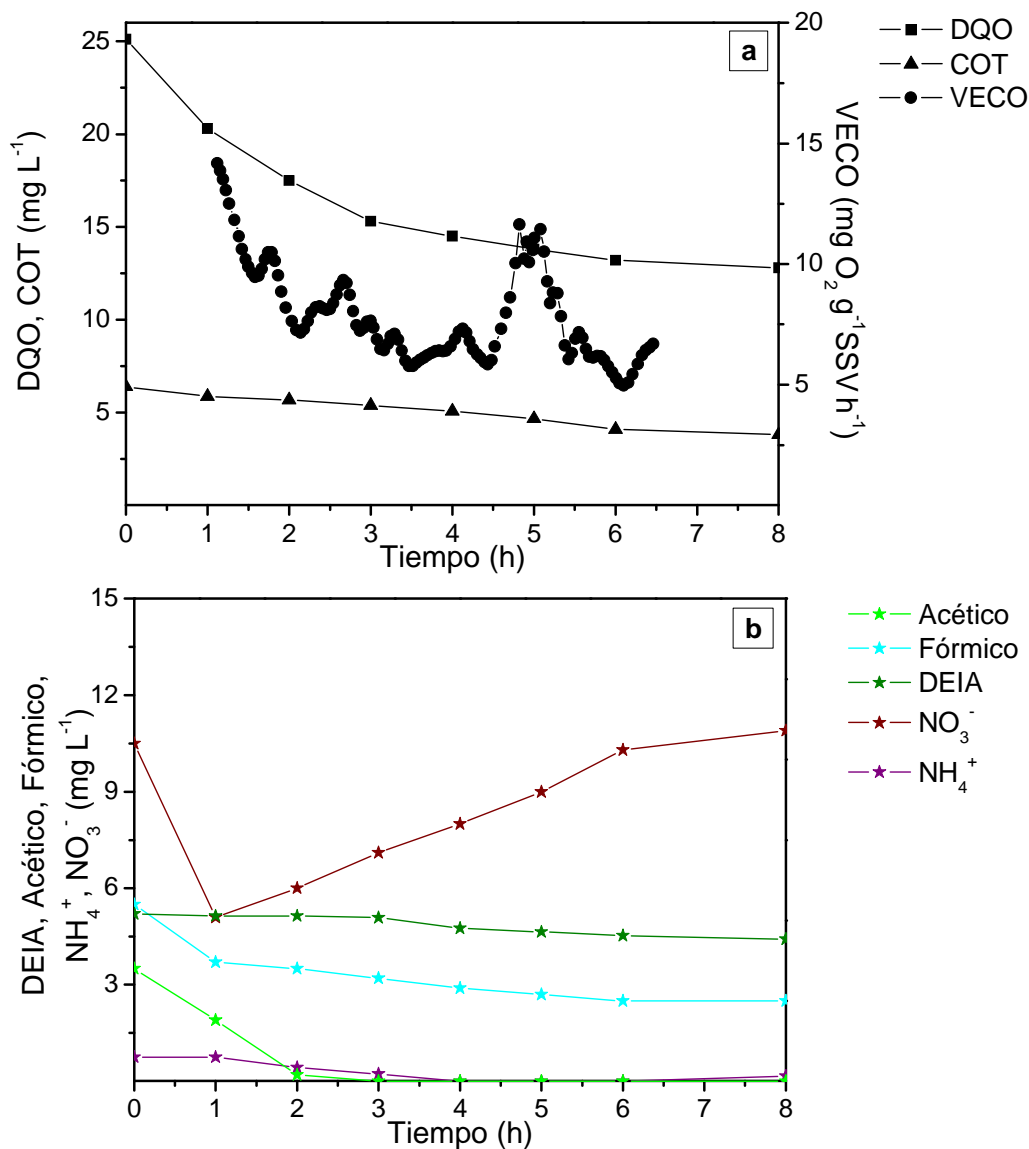


Fig. 5.23. Evolución temporal de DQO, COT y VECO (a), y de intermedios y formas nitrogenadas (b) a lo largo del séptimo ciclo de reacción durante el tratamiento biológico de los efluentes de oxidación Fenton de atrazina.

La Figura 5.24 muestra los resultados obtenidos durante un ciclo en el SBR de tratamiento del efluente de oxidación Fenton de MCPA con una dosis del 60% de la cantidad estequiométrica de peróxido de hidrógeno. El respirograma registrado mostró una importante actividad de la biomasa, que se extendió durante la mayor parte de la etapa de reacción, lográndose una eliminación significativa de materia orgánica.

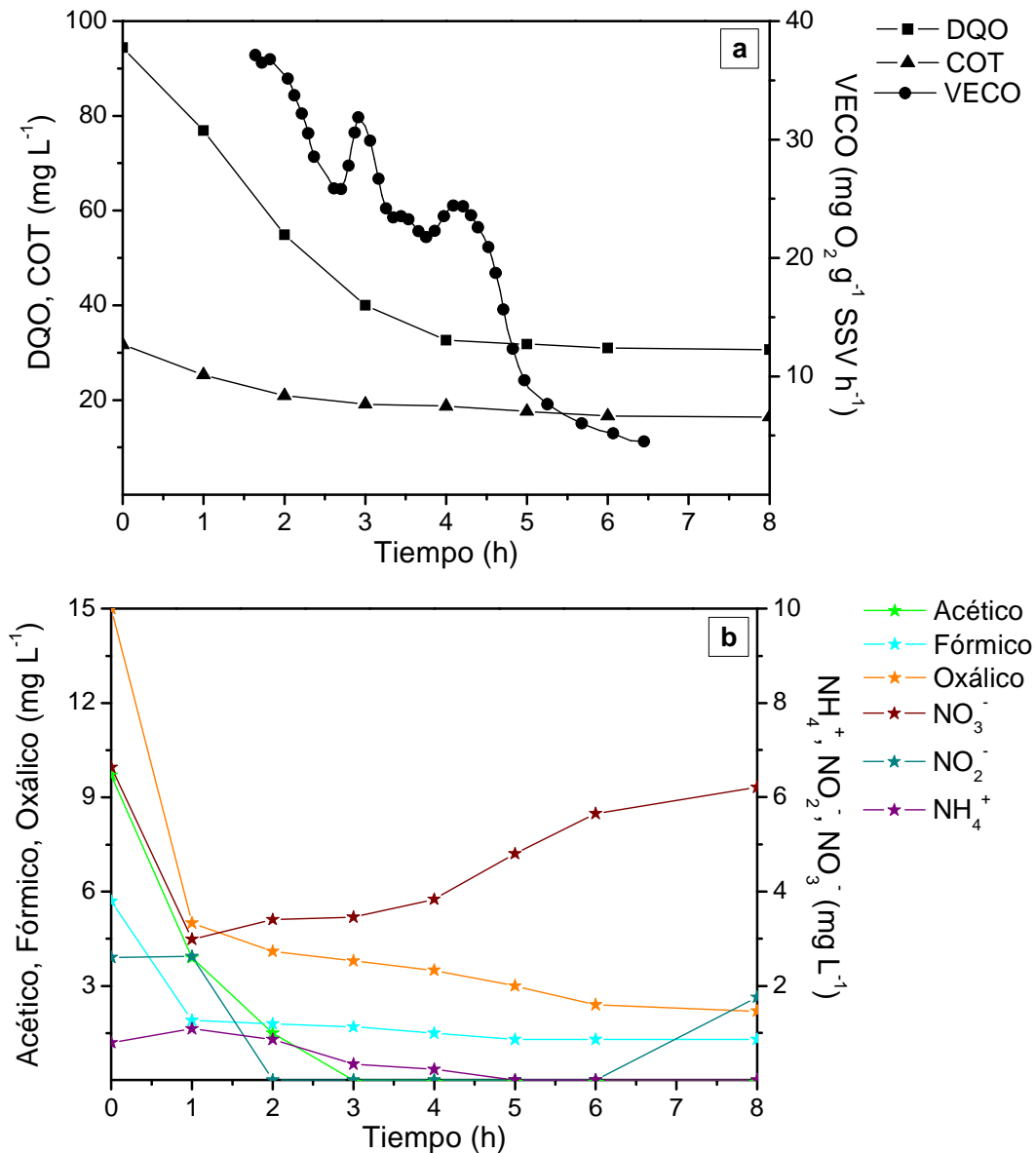


Fig. 5.24. Evolución temporal de DQO, COT y VECO (a), y de intermedios y formas nitrogenadas (b) a lo largo del séptimo ciclo de reacción durante el tratamiento biológico de los efluentes de oxidación Fenton de MCPA.

El tratamiento biológico en SBR se mantuvo durante 12 ciclos para cada uno de los efluentes de oxidación Fenton tratados a excepción del de alacloro, que alcanzó el estado estacionario tras 6 ciclos. En el Anexo V se recogen los valores de conversión de DQO y COT alcanzados de manera individual en el proceso Fenton y el sistema biológico a lo largo de los ciclos de tratamiento de cada uno de los herbicidas. La Figura 5.25 muestra los valores medidos de DQO y COT en los efluentes finales del tratamiento combinado, así como la conversión total lograda por la aplicación del proceso combinado para cada uno de los herbicidas.

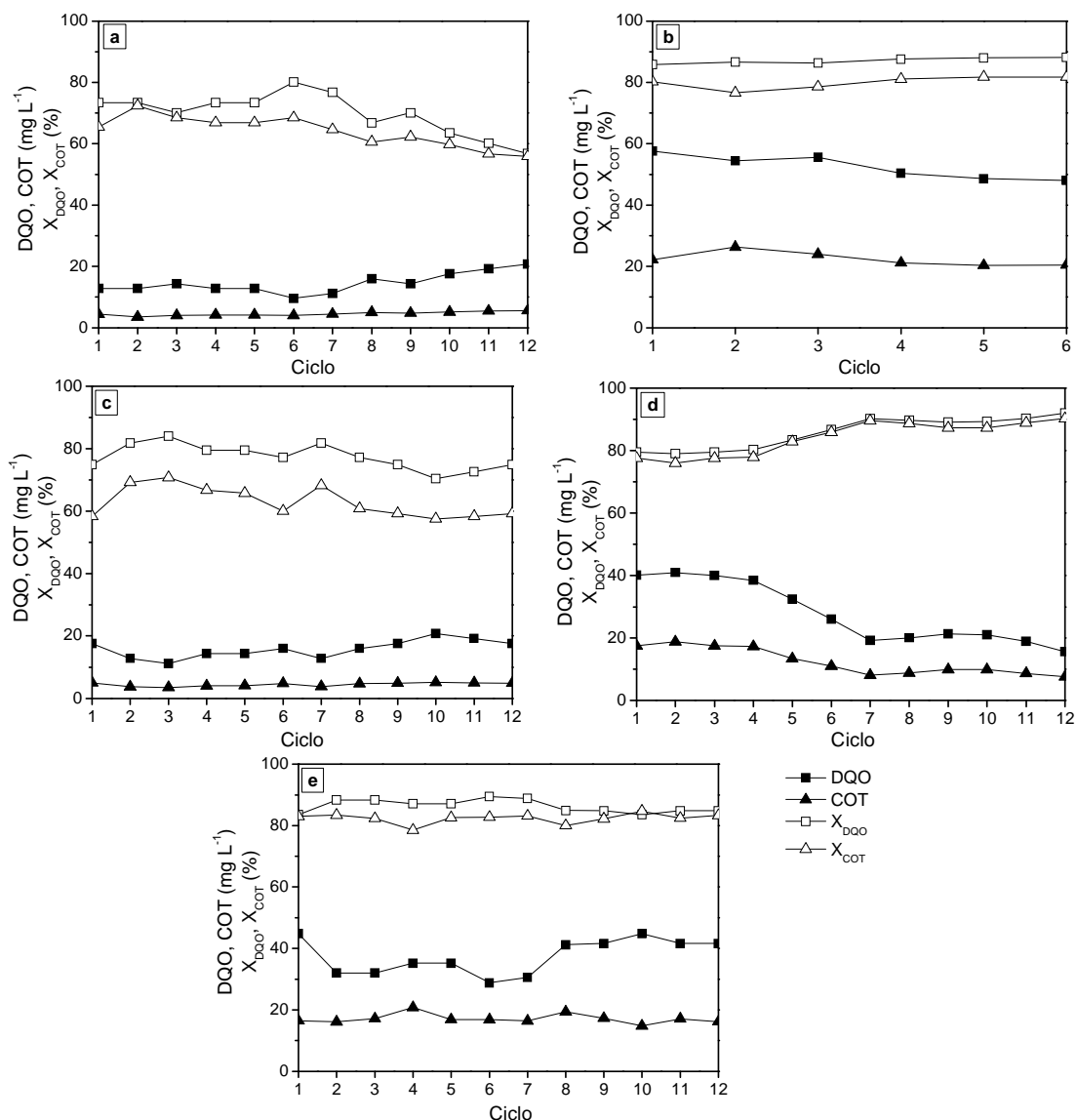


Fig. 5.25. Conversión de COT y DQO y valores de COT y DQO residual obtenidos en el tratamiento combinado Fenton-biológico de diurón (a), alacloro (b), atrazina (c), 2,4-D (d) y MCPA (e).

Los efluentes de tratamiento de alacloro, 2,4-D y MCPA, cuya concentración inicial fue de 180 mg L⁻¹, alcanzaron valores finales de DQO y COT por debajo de 60 mg L⁻¹ y 30 mg L⁻¹ respectivamente. En el tratamiento de diurón y atrazina, cuya concentración inicial fue de 27 mg L⁻¹, se obtuvieron efluentes con valores de DQO por debajo de 20 mg L⁻¹ y de COT en torno a 5 mg L⁻¹.

Los valores de DQO y COT residual de los efluentes del tratamiento combinado de diurón aumentaron con el paso de los ciclos (Figura 5.25.a), debido a la acumulación de intermedios de oxidación no biodegradables en el SBR. Esto implicó que los valores de conversión total alcanzados fueran cada vez menores, siendo al comienzo del tratamiento del orden del valor obtenido en el ensayo de biodegradabilidad rápida (Figura 5.19.a) mientras que tras 4 días descendió por debajo del 60%, pudiendo poner en peligro la eficacia del proceso combinado. En este caso, podría ser recomendable no llevar a cabo el tratamiento biológico, ya que la carga másica proporcionada por la escasa DQO procedente del tratamiento de oxidación fue demasiado escasa y podría ser la causa del funcionamiento inadecuado del reactor. Otra alternativa posible sería tratar este compuesto junto con otros sustratos, de manera que finalmente el reactor biológico recibiera materia orgánica suficiente. Farre et al. (2006) estudiaron el tratamiento combinado mediante oxidación foto-Fenton y SBR de una mezcla de diurón (42 mg L⁻¹) y linurón (75 mg L⁻¹). Los efluentes de oxidación obtenidos empleando un 68, 48 y 32% de la dosis estequiométrica de H₂O₂ lograron una conversión total de materia orgánica del 85, 80 y 50%, respectivamente. El efluente tratado con la mayor dosis de reactivo se alimentó al SBR durante 12 ciclos, manteniéndose una eliminación cercana al 80-85% durante todo el proceso.

La eliminación de materia orgánica alcanzada por el tratamiento combinado de alacloro (Figura 5.25.b), atrazina (Figura 5.25.c) y MCPA (Figura 5.25.e), se mantuvo estable a lo largo del proceso de experimentación, presentando los efluentes finales un valor de DQO y COT residual aproximadamente constante. Además, la conversión total alcanzada por ambos parámetros en el caso del tratamiento de alacloro y atrazina, fue mayor a la esperada a partir de los

resultados obtenidos en los ensayos de biodegradabilidad rápida (Figura 5.19.b y c).

Los efluentes del tratamiento combinado de 2,4-D presentaron valores de DQO y COT residual progresivamente menores, reflejando la aclimatación del fango activo a los compuestos orgánicos procedentes de la oxidación Fenton del herbicida (Figura 5.25.d). De esta forma, se alcanzaron valores de conversión total de DQO y COT del orden del 90%. El perfil respirométrico también sufrió alteraciones a lo largo de los ciclos de tratamiento, evidenciando la aclimatación de la biomasa a través del incremento de los valores de VECO inicial. El aumento de la actividad biológica experimentado especialmente durante las primeras horas de la etapa de reacción permitió alcanzar valores de conversión de DQO y COT mayores que los esperados a partir de los resultados obtenidos en el ensayo de biodegradabilidad rápida (Figura 5.19.d).

5.3.5. Ensayos de oxidación Fenton de atenolol y cafeína

La oxidación Fenton de los fármacos se orientó hacia la eliminación del compuesto para conseguir efluentes con una mayor biodegradabilidad y una toxicidad reducida, de manera que pudieran verse directamente sin necesidad de un tratamiento biológico posterior.

La Figura 5.26 muestra la evolución temporal de la conversión de compuesto, H_2O_2 y COT observada en los ensayos realizados empleando la dosis estequiométrica de peróxido de hidrógeno. Ambos compuestos pudieron eliminarse tras 30 min de tratamiento. Sin embargo, la velocidad de descomposición de H_2O_2 fue significativamente lenta, por lo que se obtuvo una conversión incompleta de oxidante. Este hecho resultó especialmente relevante en el ensayo realizado con cafeína, en el que la baja descomposición de H_2O_2 reflejó una limitación en la disponibilidad del catalizador. La conversión de COT se vio restringida en ambos casos, debido a la escasa disponibilidad de radicales hidroxilo en el tratamiento de cafeína, y a la generación de intermedios refractarios pese a la continua descomposición del H_2O_2 en el ensayo realizado con atenolol.

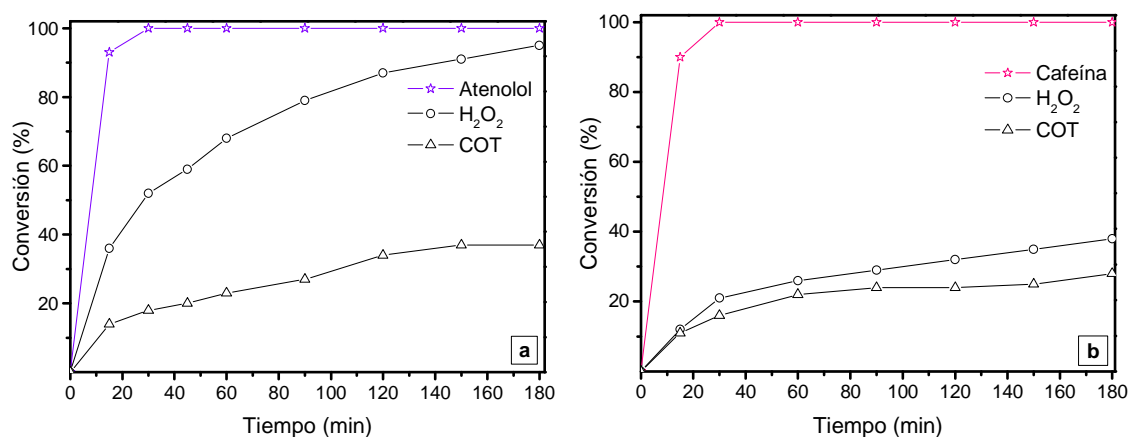


Fig. 5.26. Evolución temporal de la conversión de compuesto, H₂O₂ y COT utilizando como dosis inicial de reactivo la cantidad estequiométrica de peróxido de hidrógeno.

Una vez estudiada la evolución temporal de los diferentes parámetros empleando la dosis estequiométrica de reactivo, se llevó a cabo el análisis de la conversión final de compuesto, H₂O₂, COT y DQO empleando diferentes concentraciones iniciales de peróxido de hidrógeno. Los resultados se recogen en la Tabla 5.16.

Tabla 5.16. Conversión final de compuesto, H₂O₂, COT y DQO utilizando diferentes dosis iniciales de peróxido de hidrógeno.

		Atenolol			Cafeína		
		H ₂ O ₂ (%)	20	40	100	20	40
Conversión (%)	Compuesto	100	100	100	81	100	100
	H ₂ O ₂	77	88	98	16	27	38
	COT	24	36	45	5	23	36
	DQO	31	41	47	7	26	37

El empleo de una dosis de peróxido de hidrógeno del 20% de la cantidad estequiométrica fue insuficiente para lograr la eliminación completa de cafeína. Además, la escasa descomposición del peróxido de hidrógeno que tuvo lugar en dicho ensayo dio lugar a valores de conversión de COT y DQO significativamente bajos. En el caso del atenolol, el empleo de concentraciones subestequiométricas

de reactivo no fue tan crítico, aunque se apreció una mejora sustancial de la conversión de H_2O_2 y materia orgánica utilizando condiciones de oxidación más fuertes.

La Figura 5.27 muestra la concentración de ácidos orgánicos de cadena corta observada en los efluentes de oxidación Fenton de atenolol y cafeína obtenidos empleando diferente dosis de peróxido de hidrógeno. La tendencia mostrada por los tres ácidos detectados fue similar a la observada en los efluentes de oxidación de los herbicidas, ya que el aumento de la dosis inicial de peróxido de hidrógeno provocó la disminución de la concentración de acético y fórmico y el aumento de la concentración de oxálico, refractario al tratamiento. Sin embargo, el ácido orgánico más abundante en los efluentes de oxidación Fenton de atenolol fue el oxálico, mientras que los efluentes obtenidos en el tratamiento de cafeína mostraron una mayor concentración de ácido acético.

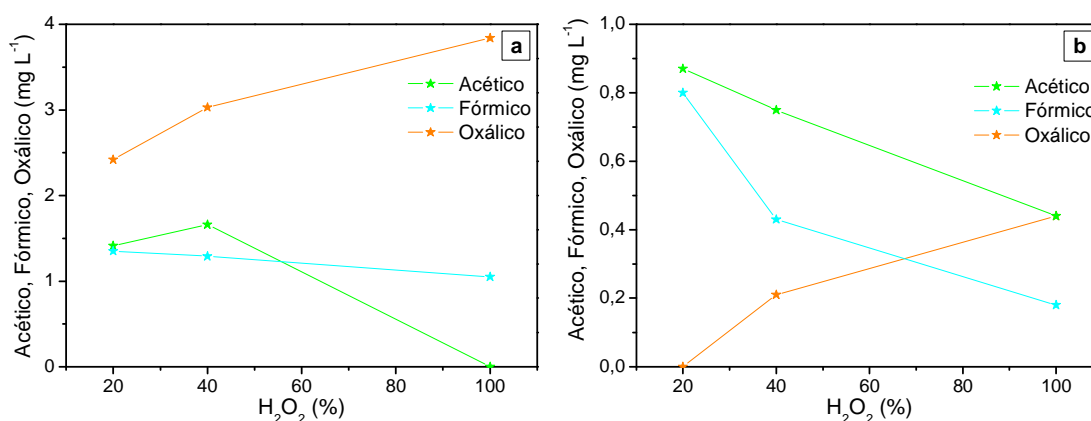


Fig. 5.27. Concentración de ácidos orgánicos en los efluentes de tratamiento por reactivo Fenton de atenolol (a) y cafeína (b).

Los balances de COT calculados a partir de las concentraciones de fármaco y ácidos de cadena corta medidas en los efluentes mostraron, en el caso de la cafeína, un decrecimiento del porcentaje de COT explicado con el aumento de la dosis inicial de H_2O_2 , variando en un intervalo del 32 al 10%. En los efluentes de atenolol, el valor más elevado de COT explicado (43%) se dio para una dosis inicial de peróxido de hidrógeno del 40% de la cantidad estequiométrica, encontrándose en torno al 36% para los demás efluentes analizados.

Existe por tanto una importante fracción de materia orgánica compuesta por intermedios que no fueron detectados. De acuerdo con la bibliografía, la mayoría de los intermedios de oxidación de **cafeína** proceden de la apertura del anillo imidazol tras la rotura del doble enlace N9-C8 de la cafeína (Rosal et al. 2009). Los mecanismos principales de transformación de **atenolol** son la hidroxilación y apertura del anillo aromático, o bien la oxidación y rotura de la cadena 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi del atenolol, generando p-hidroxifenilacetamida (Tay et al. 2011). Sin embargo, ambos estudios se han realizado utilizando ozono como oxidante, ya que no existen trabajos en la literatura sobre la identificación de intermedios de degradación de cafeína y atenolol mediante el proceso Fenton.

La dosis de H₂O₂ mínima necesaria para asegurar la posibilidad de descargar los efluentes de tratamiento de atenolol y cafeína al medio natural se estudió llevando a cabo medidas de ecotoxicidad y DBO₅. La Tabla 5.17 recoge los valores obtenidos de UT (15 min) y DBO₅/DQO para los efluentes de oxidación de ambos compuestos.

Tabla 5.17. Resultados de ecotoxicidad e índice de biodegradabilidad obtenidos para los efluentes de atenolol y cafeína tratados con diversas concentraciones iniciales de peróxido de hidrógeno.

H ₂ O ₂ (%)	Atenolol			Cafeína		
	UT	R ²	DBO ₅ /DQO (%)	UT	R ²	DBO ₅ /DQO (%)
0	2,63	0,99	2	3,85	0,94	2
20	0,27	0,99	17	1,33	0,99	10
40	<0,10	0,94	39	0,26	0,97	37
100	0,18	0,93	51	0,65	0,99	60

La oxidación Fenton de atenolol y cafeína produjo un aumento significativo de la biodegradabilidad y una reducción importante de la toxicidad. El empleo de reactivo Fenton en una dosis equivalente al 40% de la cantidad estequiométrica de H₂O₂ sería suficiente para llevar a cabo el tratamiento de atenolol y cafeína en una concentración del orden de 10 mg L⁻¹, ya que con ello se consigue la total conversión de compuesto de partida, una importante reducción de la toxicidad y un aumento significativo de la biodegradabilidad. Sin embargo, sería necesario

eliminar el peróxido de hidrógeno residual antes de llevar a cabo la descarga del efluente, ya que no se produjo la completa descomposición del mismo.

5.4. Conclusiones

El tratamiento de diurón, alacloro, atrazina, 2,4-D y MCPA mediante reactivo Fenton generó efluentes con una importante fracción de materia orgánica compuesta por ácidos orgánicos de cadena corta. Los intermedios detectados en mayor concentración en los efluentes obtenidos empleando condiciones suaves de oxidación fueron los ácidos acético y fórmico, mientras que la utilización de dosis de peróxido de hidrógeno próximas a la estequiométrica generó efluentes con un alto contenido en ácido oxálico, refractario al tratamiento.

La presencia en los efluentes de oxidación Fenton de intermedios aromáticos como 3,4-dicloroanilina (diurón), 2,6-dietilanilina (alacloro), DEIHA (atrazina) y 2,4-diclorofenol (2,4-D), además de otros compuestos no identificados, ocasionó un aumento de la toxicidad respecto de los compuestos de partida. Sin embargo, los efluentes obtenidos fueron significativamente más biodegradables, eligiéndose dicho parámetro como criterio de selección de la dosis de peróxido de hidrógeno óptima para llevar a cabo el acoplamiento del proceso Fenton con un sistema biológico. Dicha dosis fue relativamente baja para el tratamiento de diurón (40% de la dosis estequiométrica de H_2O_2) y de alacloro, atrazina y MCPA (60% de la dosis estequiométrica de H_2O_2), mientras que en el caso del 2,4-D resultó necesario emplear condiciones de oxidación ligeramente más intensas (80% de la dosis estequiométrica de H_2O_2).

Los efluentes del proceso Fenton se trataron en un SBR, logrando elevadas conversiones de materia orgánica e incluso eliminándose de manera parcial intermedios aromáticos como anilina o DEIA. Los resultados obtenidos durante el tratamiento biológico del efluente de oxidación Fenton de 2,4-D mostraron una disminución de la concentración residual gracias a la aclimatación de la biomasa. En el caso de atrazina, alacloro y MCPA, la eliminación de materia orgánica se mantuvo aproximadamente constante a lo largo de los ciclos de tratamiento,

mientras que los efluentes finales de tratamiento de diurón mostraron un aumento de la concentración residual de COT y DQO.

La oxidación mediante reactivo Fenton de soluciones acuosas de los fármacos estudiados (atenolol y cafeína) originó una disminución de la ecotoxicidad y una mejora de la biodegradabilidad en términos de relación DBO₅/DQO, obteniéndose efluentes cuyas características permitieron su vertido incluso empleando condiciones suaves de oxidación (40% de la dosis estequiométrica de peróxido de hidrógeno).

Clorpirifos
Procloraz
MCP
SBR
Metamitrona
Toxicidad
Terbutilazina
Bentonita
Adsorción

VI. Tratamiento de aguas residuales procedentes de la fabricación de productos fitosanitarios

Ain't prepared for me,
Mad cause an image I don't care to be
Realness, real shit, spít reality

WHO'S THAT GIRL (Eve)

VI. Tratamiento de aguas residuales procedentes de la fabricación de productos fitosanitarios

6.1. Introducción

El crecimiento exponencial de la agricultura intensiva que ha tenido lugar durante las últimas décadas en los países del Mediterráneo ha ocasionado no sólo un elevado consumo de agua como recurso sino también su contaminación debido a la presencia de pesticidas. Estas sustancias son, por lo general, químicamente estables y recalcitrantes, y no pueden eliminarse mediante los tratamientos convencionales de aguas residuales, pudiendo suponer un riesgo para la salud pública y el medio ambiente debido a sus efectos tóxicos a largo plazo. El desarrollo de métodos eficaces para la eliminación de estos compuestos se ha estudiado empleando compuestos puros, ya sea de manera individual ([Lapertot et al., 2006](#)) o en mezclas ([Ballesteros Martin et al. 2009a](#)), existiendo escasas referencias en el tratamiento de efluentes reales. Estas aguas residuales, generadas en el lavado de los tanques de fabricación y de los envases usados para su reutilización, se caracterizan por su extrema toxicidad, un volumen reducido y una localización bien definida ([Malato et al. 1999](#)). En España, es destacable el área agrícola de El Ejido (30000 Ha de cultivo en invernadero), en la cual se recogen para su reciclado alrededor de 2 millones de envases de pesticidas al año ([Zapata et al. 2010](#)), cuyas aguas de lavado suelen tratarse mediante el proceso foto-Fenton en la Plataforma Solar de Almería ([Blanco et al. 2004](#)). Sin embargo, los elevados costes operacionales de este tipo de tratamiento han impulsado el desarrollo de

una estrategia de acoplamiento con sistemas biológicos. De esta forma pueden aplicarse condiciones más suaves en el proceso foto-Fenton y mejorar la degradación en el sistema biológico, optimizando los costes globales. La aplicación de un tratamiento previo como la oxidación foto-Fenton permite de mejorar la biodegradabilidad de estas aguas residuales, logrando altas eficacias en la eliminación de pesticidas incluso en elevadas concentraciones (Ballesteros Martín et al. 2009b).

El empleo de tratamientos no destructivos como procesos de adsorción en combinación con sistemas biológicos para la eliminación de pesticidas en aguas residuales se encuentra menos extendido. Por lo general, estos procesos suelen utilizar como adsorbente carbón activo, por su elevada capacidad de adsorción, debido a la presencia de grupos activos sobre la superficie del carbón y la elevada área superficial. El alto coste del carbón activo ha propiciado el desarrollo de adsorbentes alternativos obtenidos a partir de residuos sólidos agrícolas (Mohan et al. 2002), lodos de depuradora (Monsalvo et al. 2012), bioadsorbentes como quitosán (Crini et al. 2008) o bien materiales naturales como arcillas (Haderlein et al. 1996) para la eliminación de diferentes contaminantes, como compuestos fenólicos (Ahmaruzzaman 2008), azul de metileno (Rafatullah et al. 2010) y otros tintes como verde de malaquita o violeta cristal (Crini 2006, Gupta et al. 2009). Entre los diferentes adsorbentes empleados, la bentonita, una arcilla montmorillonita del grupo de las esmectitas, posee una estructura y composición química que le proporciona una elevada área superficial químicamente activa, una significativa capacidad de intercambio catiónico y una importante superficie interlaminar (Ayari et al. 2005), lo cual le otorga la capacidad de adsorber cantidades significativas de compuestos orgánicos y metales pesados.

En el presente capítulo se aborda el estudio de la biodegradabilidad de un agua residual industrial procedente del lavado de los tanques de fabricación de productos fitosanitarios de la compañía Aragonesas Agro S.A. Este tipo de efluente posee una amplia heterogeneidad en su composición, con un elevado contenido en pesticidas, disolventes y otros compuestos orgánicos. La elevada DQO del agua

residual (en torno a 20 g L^{-1}) implicaría un consumo excesivo de reactivo químico en caso de aplicarse un tratamiento de oxidación como el proceso Fenton, empleado en el capítulo V para el tratamiento de soluciones acuosas de herbicidas. Por ello, se ha estudiado la posibilidad de llevar a cabo un tratamiento previo mediante adsorción con bentonita con el objetivo de disminuir la concentración de compuestos tóxicos, favoreciendo un tratamiento biológico posterior para la eliminación de la fracción biodegradable de la materia orgánica contenida en el agua residual.

6.2. Materiales y métodos

6.2.1. Ensayos de adsorción

Los ensayos de adsorción se llevaron a cabo utilizando bentonita Polyclay en una concentración de 4 g L^{-1} , establecida en ensayos previos de coagulación-adsorción con FeCl_3 como coagulante y bentonita como adsorbente, para el tratamiento de estas aguas residuales (Pliego 2012). El proceso de adsorción se llevó a cabo a temperatura ambiente en un reactor de vidrio de 1 L agitado mecánicamente (150 rpm) durante 15 min. El efluente filtrado se analizó para determinar la eliminación de DQO, COT y pesticidas, así como la ecotoxicidad y biodegradabilidad, tanto del agua bruta como del efluente obtenido en el proceso.

6.2.2. Ensayos de biodegradabilidad

La biodegradabilidad del agua bruta y del efluente de bentonita se determinó a partir de la relación DBO_5/DQO . La evaluación de la DBO_5 se llevó cabo siguiendo el protocolo 5210 (APHA 1992), empleando un equipo de Velp Scientifica y una concentración de biomasa de 75 mg SSV L^{-1} .

La evaluación de la biodegradabilidad rápida se llevó a cabo mediante respirometría siguiendo el procedimiento detallado en el capítulo II (apartado 2.2.6), basado en la determinación de la velocidad específica de consumo de

oxígeno y la conversión de DQO y COT tras 24 h de exposición de la biomasa con el agua objeto de estudio, empleando para ello una concentración de 350 mg SSV L⁻¹.

6.2.3. Reactor secuencial discontinuo

El tratamiento biológico de los efluentes del proceso de adsorción se llevó a cabo utilizando un reactor de 3 L construido en vidrio, termostatzado a 30°C mediante una camisa exterior y equipado con una sonda de oxígeno disuelto para evaluar la actividad de la biomasa a través de respirometría. La estructura y componentes de dicho reactor se detalló en el capítulo IV (apartado 4.2.1).

El SBR se operó en secuencias de 8 h formadas por las siguientes etapas: llenado anóxico (1 h), reacción aerada (5,5 h), sedimentación (1 h) y vaciado (0,5 h), empleando un tiempo de retención hidráulico (t_{RH}) de 5 d y un tiempo de retención celular (t_{RC}) de 30 d. La biomasa se mantuvo en torno a 3 g SSV L⁻¹. Se tomaron muestras durante el proceso biológico para la determinación de la concentración de pesticidas, COT y DQO, y se registró el perfil de VECO durante la fase de reacción.

El efluente obtenido en el tratamiento del agua residual mediante adsorción, filtrado para eliminar la bentonita, requirió la adición de nutrientes (sulfato amónico y ácido fosfórico) y sales minerales (CaCl₂, FeCl₃, KCl y MgSO₄) en relación DQO:N:P:micronutrientes 100:5:1:0,05. El tratamiento con bentonita proporcionó un efluente con un pH adecuado para el tratamiento biológico, por lo que no fue necesario neutralizarlo.

6.2.4. Inóculo

El inóculo empleado en los ensayos de biodegradabilidad y en el SBR se tomó del reactor biológico de mantenimiento alimentado con acetato sódico y glucosa para favorecer el crecimiento de biomasa no aclimatada (apartado 2.2.1 del capítulo II).

6.2.5. Métodos analíticos

La determinación de COT se llevó a cabo mediante un analizador COT-Vcsh, de Shimadzu (apartado 2.2.9 del capítulo II). La DQO se analizó siguiendo el protocolo

5220A (APHA 1992). La ecotoxicidad se determinó siguiendo el procedimiento Microtox®, descrito en el apartado 2.2.5 del capítulo II. La concentración de pesticidas se determinó mediante cromatografía HPLC utilizando un detector Diode Array 330 con lámpara de deuterio, que permite el análisis en diferentes longitudes de onda que corresponden al espectro de absorción del UV, y una columna Phenomenex Kromasil C18 (150x4,6 mm, 5µm). Como fase móvil se utilizó acetonitrilo y ácido acético 20 mM en agua en gradiente del 30 al 100% del primero en 45 min. La Tabla 6.1 muestra los tiempos de retención y las longitudes de onda de máxima absorbancia para los diferentes pesticidas encontrados en el agua residual bruta.

Tabla 6.1. Tiempos de retención y longitud de onda de máxima absorción para los pesticidas encontrados en el agua residual.

Compuesto	t _R (min)	λ _{max} (nm)
Metamitrona	3,7	307
Terbutilazina	15,1	226
Procloraz	20,6	202, 250
Clorpirifos	31,0	198, 228, 288
MCPP	39,5	201, 228, 279

6.3. Resultados y discusión

6.3.1. Caracterización del agua residual

El agua residual procedente del lavado de tanques de fabricación de pesticidas se analizó en términos de DQO, DBO₅, COT, pH, ecotoxicidad y concentración de

pesticidas. Una caracterización preliminar del agua residual se recoge en la Tabla 6.2.

Tabla 6.2. Características del agua residual objeto de estudio.

DQO	21,12 g L ⁻¹	Metamitrona	411 mg L ⁻¹
COT	6,76 g L ⁻¹	Terbutilazina	86 mg L ⁻¹
pH	5,7	Procloraz	1500 mg L ⁻¹
Ecotoxicidad	975 UT	Clorpirifos	740 mg L ⁻¹
DBO₅/DQO	0,28	MCPP	230 mg L ⁻¹

Los pesticidas cuantificados supusieron el 20% de COT y el 18% de DQO (medida como DQO teórica de acuerdo con el método 301 de la OECD 301 (1993)) del agua residual, lo cual reveló la presencia de una gran cantidad de otros compuestos que no fueron cuantificados. Pliego (2012) llevó a cabo una caracterización más exhaustiva de estas aguas residuales, detectando una gran cantidad de compuestos mediante cromatografía de gases con detector de masas (GC/MS). La Figura 6.1 muestra el cromatograma obtenido en dicho análisis, recogiendo los compuestos identificados en la Tabla 6.3. Trece de las especies identificadas fueron pesticidas, mayoritariamente herbicidas (34-39, 43 y 45), además de insecticidas y acaricidas (30, 32), fungicidas (44, 46) y nematocidas (42). Al tratarse de aguas residuales procedentes de la fabricación de pesticidas, pudieron identificarse también intermedios utilizados en el proceso de fabricación (7 y 27), así como adyuvantes (41), concentrados en aceite que mejoran la eficacia del herbicida permitiendo disminuir la cantidad de principio activo. El resto de los compuestos identificados se corresponden en su mayoría con disolventes orgánicos, compuestos orgánicos para síntesis y precursores químicos.

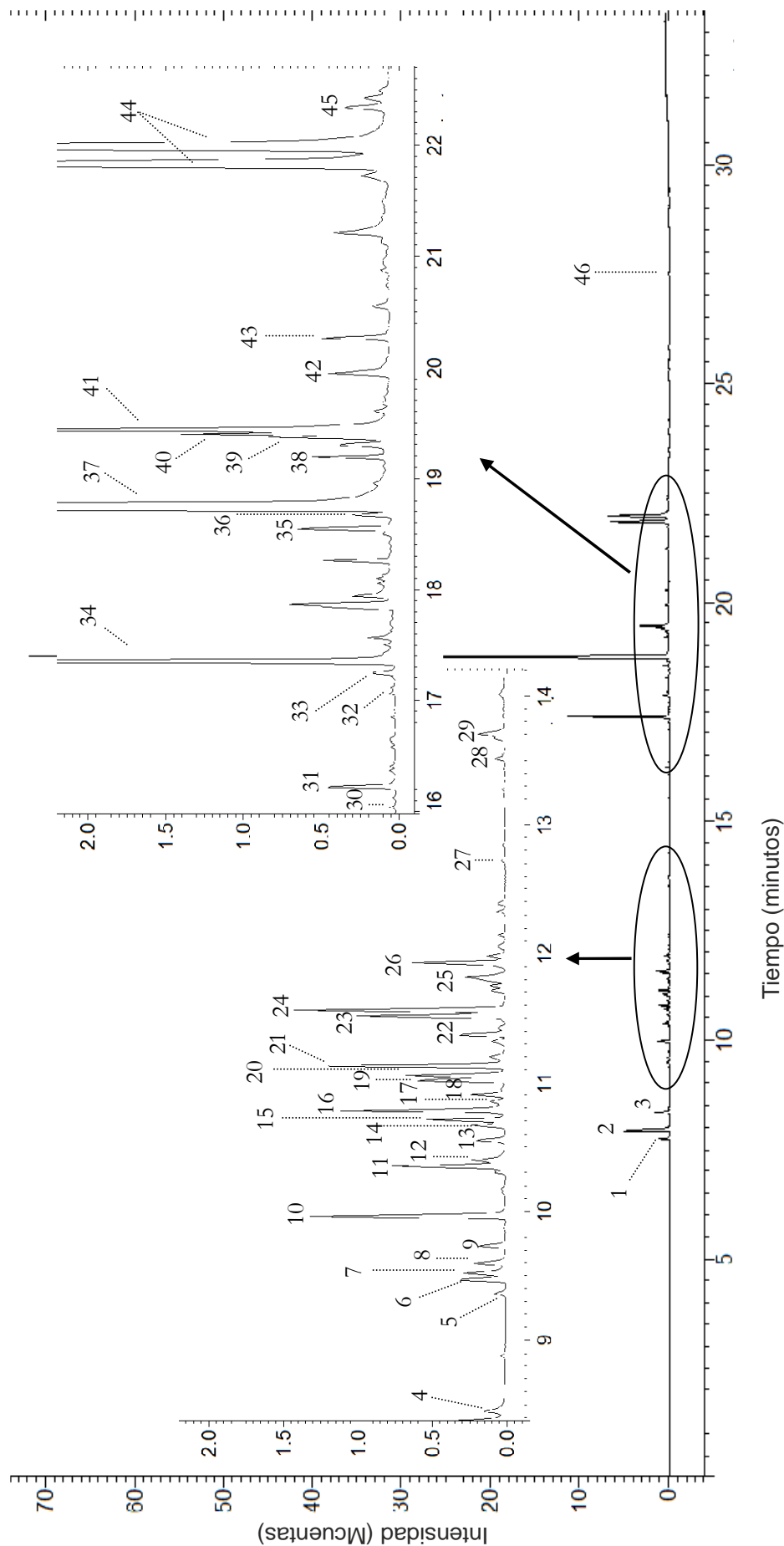


Fig. 6.1. Cromatograma obtenido por Pliego (2012) en el análisis mediante GC/MS del agua residual estudiada.

Tabla 6.3. Compuestos identificados en el agua residual mediante GC/MS (Pliego 2012).

Pico	Compuesto	Pico	Compuesto
1	m-Xileno	24	1,2,3,5-Tetrametilbenceno
2	o-Xileno	25	4-Metil-indano
3	p-Xileno	26	3-Fenilbut-1-eno
4	Ciclohexanona	27	4-Isopropilfenilisocianato
5	n-Propilbenceno	28	2-Metilnaftaleno
6	p-Etiltolueno	29	Octil metoxiacetato
7	3-(Trifluorometil)fenil isocianato	30	Bifentrin
8	1,2,4-Trimetilbenceno	31	N,N-Dimetildecanamida
9	o-Etiltolueno	32	Dimetoato
10	1,2,3-Trimetilbenceno	33	4-Piperazinoacetofenona
11	1,3,5-Trimetilbenceno	34	Terbutilazina
12	2-Etil-1-hexanol	35	Etofumesato
13	Hidrindene	36	Linurón
14	1,2-Dietilbenceno	37	Metolaclor
15	n-Propiltolueno	38	Pendimentalina
16	1,4-Dietilbenceno	39	Mecoprop-isocetil
17	Ciclohexanona oxima	40	Metil octadeca-9,12-dienoato
18	Óxido de fenilpropileno	41	Oleato de metilo
19	4-Etil-o-xileno	42	Fenamifos
20	p-Cimeno	43	Oxifluorfen
21	m-Cimeno	44	Propiconazole
22	3-Etil-o-xileno	45	Diclofop
23	1,2,3,4-Tetrametilbenceno	46	Procloraz

La Tabla 6.4 recoge los valores de EC₅₀ publicados en la literatura para los pesticidas que se pudieron cuantificar en el presente trabajo. Se puede observar que se trata de compuestos altamente tóxicos, tanto para *Vibrio fischeri* como para

otros organismos, como algas (*Scenedesmus subspicatus*), plantas (*Lemna minor*) y crustáceos (*Daphnia magna*). La elevada toxicidad del agua residual podría ser debida a la presencia de estos compuestos en concentraciones varios órdenes de magnitud superiores a su EC₅₀, sumada a la tendencia que muestran estas sustancias a desarrollar efectos sinérgicos cuando se encuentran en mezclas (Norgaard et al. 2010, Bjergager et al. 2011).

Tabla 6.4. Valores de EC₅₀ recogidos en la literatura para los pesticidas contenidos en el agua residual.

	Organismo	EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	Referencia
Metamitrona	<i>Scenedesmus</i>	2,9	Nitschke et al. 1999
	<i>subspicatus</i>	1,0	Brock et al. 2004
	<i>Lemna minor</i>	1,7	Brock et al. 2004
	<i>Daphnia magna</i>	0,13	Brock et al. 2004
Terbutilazina	<i>S. subspicatus</i>	0,016	Nitschke et al. 1999
	<i>L. minor</i>	0,23	Nitschke et al. 1999
Procloraz	<i>D. magna</i>	4,5	Bjergager et al. 2012
Clorpirifos	<i>V.fischeri</i>	0,27	Jones et al. 2003
		2,8	Palma et al. 2008
	<i>D.magna</i>	0,0007	Palma et al. 2008
MCPP	<i>S. subspicatus</i>	> 180	Nitschke et al. 1999
	<i>L. minor</i>	6,0	Nitschke et al. 1999

La elevada concentración de materia orgánica, así como la ecotoxicidad extremadamente alta, hizo necesario someter a dilución el agua residual antes de llevar a cabo los ensayos de biodegradabilidad rápida. Se emplearon diluciones 1:20, 1:50 y 1:100, conservando la concentración de biomasa en 350 mg SSV L⁻¹, con el objetivo de cubrir un intervalo significativo de relación biomasa/sustrato (de 0,6:1 a 2,6:1). Estos valores se encontraron por debajo del intervalo de 50:1 a 100:1 establecido en la descripción del método en el capítulo II (apartado 2.2.6), ya que de otra forma la enorme dilución del agua residual exigida no sería viable a la hora de llevar a cabo su tratamiento en un reactor biológico.

La Figura 6.2 muestra la evolución de la VECO a lo largo del ensayo de biodegradabilidad rápida para las diferentes diluciones estudiadas del agua residual. Los respirogramas de las Figuras 6.2.a y 6.2.b, correspondientes a las diluciones 1:20 y 1:50, mostraron una disminución progresiva de la VECO pasadas 10 h hasta alcanzar valores por debajo de $1 \text{ mg O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ SSV h}^{-1}$, lo cual reflejó una toxicidad significativa sobre la biomasa. El perfil respirométrico de la Figura 6.2.c, pese a no mostrar este efecto tóxico, permitió apreciar inhibición por sustrato, ya que los valores de VECO aumentaron gradualmente conforme se consumieron los sustratos biodegradables presentes en el agua residual, disminuyendo por tanto su concentración en el medio de reacción. En los tres casos, la actividad de la biomasa se concentró en las primeras 10 h de ensayo, observándose un aumento de los valores de VECO conforme el agua residual estuvo más diluida, debido a una reducción del efecto inhibitorio sobre el fango activo.

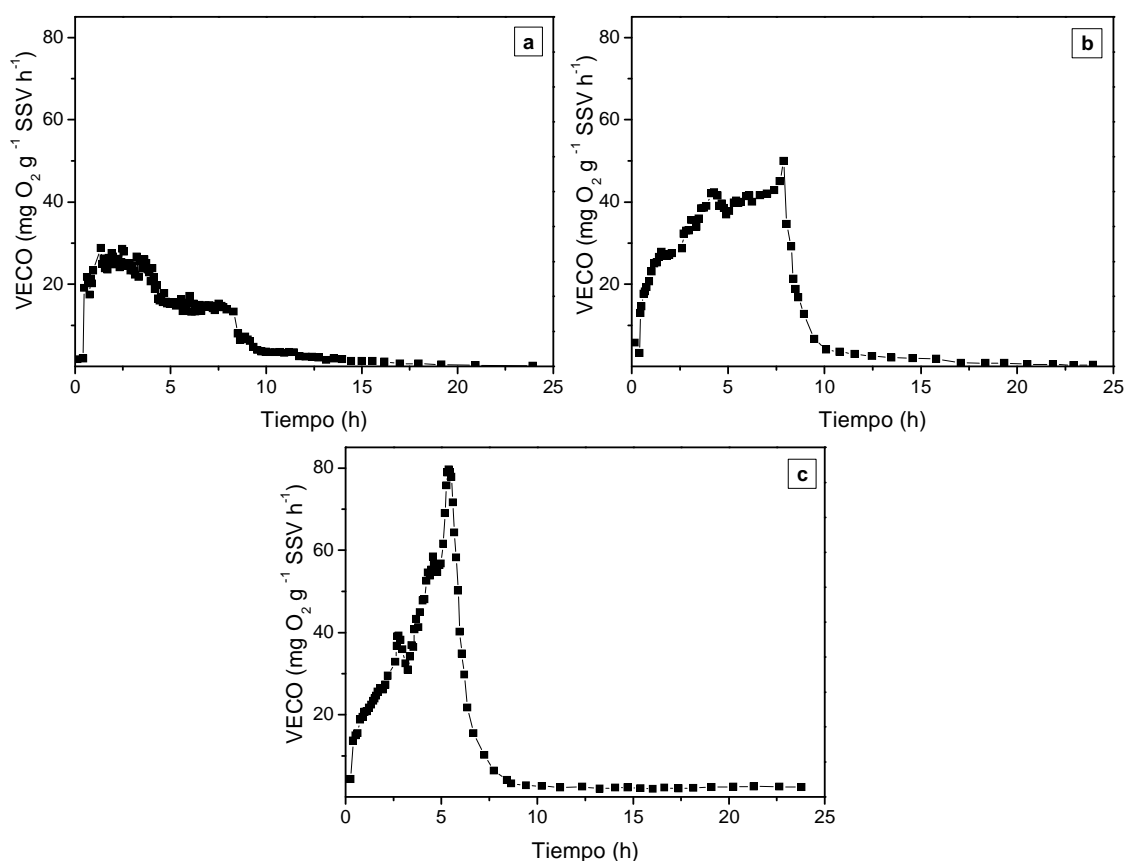


Fig. 6.2. Perfiles respirométricos obtenidos en los ensayos de biodegradabilidad rápida de las aguas residuales sometidas a una dilución 1:20 (a), 1:50 (b) y 1:100 (c).

Los ensayos de biodegradabilidad rápida se completaron con medidas de DQO y COT al inicio y al final de las 24 h de ensayo para las tres diluciones estudiadas, cuyos valores se recogen en la Tabla 6.5. En los ensayos realizados para las diluciones más bajas se observó un aumento de la concentración de la materia orgánica en disolución debido a la lisis celular provocada por los compuestos tóxicos presentes en el agua residual aún en una concentración demasiado elevada. Para la mayor dilución se logró una conversión del 35% tanto de DQO como de COT. Sin embargo, la aplicación de una dilución tan elevada a la hora de llevar a cabo un tratamiento biológico podría resultar inviable, siendo más conveniente llevar a cabo un tratamiento previo del agua residual antes de introducirla al reactor biológico.

Tabla 6.5. Valores de DQO y COT medidos al inicio y al final de los ensayos de biodegradabilidad rápida.

	Dilución 1:20		Dilución 1:50		Dilución 1:100	
	DQO (mg L ⁻¹)	COT (mg L ⁻¹)	DQO (mg L ⁻¹)	COT (mg L ⁻¹)	DQO (mg L ⁻¹)	COT (mg L ⁻¹)
Inicial	902	248	390	106	211	61
Final	1286	447	618	234	138	39

Los ensayos de biodegradabilidad realizados (DBO₅/DQO y biodegradabilidad rápida) proporcionaron resultados contradictorios. Mientras que la relación DBO₅/DQO mostró un valor de 0,28, lo que se corresponde con una biodegradabilidad moderada, los ensayos respirométricos, llevados a cabo en condiciones menos restrictivas (relación biomasa/sustrato de 10 a 40 veces mayor que en el ensayo de DBO₅), pusieron de manifiesto efectos tóxicos e inhibitorios importantes sobre la biomasa. La incongruencia entre ambos resultados refleja la importancia de las condiciones en las que se llevan a cabo los ensayos biológicos. El índice de biodegradabilidad puede ser válido para comparar diferentes aguas residuales o bien como parámetro global de vertido a cauce, pero no resulta

representativo del comportamiento que pueda desarrollar el fango activo al llevar a cabo el tratamiento de un agua residual mediante un sistema biológico.

6.3.2. Ensayos de adsorción con bentonita

La Tabla 6.6 recoge los valores de DQO, COT, pH, ecotoxicidad, índice de biodegradabilidad y concentración de pesticidas en el efluente obtenido tras el proceso de adsorción empleando bentonita.

Tabla 6.6. Valores de DQO, COT, pH, ecotoxicidad, índice de biodegradabilidad y concentración de pesticidas en las aguas residuales tratadas con bentonita.

DQO	5,92 g L ⁻¹	Metamitrona	14,6 mg L ⁻¹
COT	2,16 g L ⁻¹	Terbutilazina	7,4 mg L ⁻¹
pH	6,8	Procloraz	-
Ecotoxicidad	21 UT	Clorpirifos	-
DBO₅/DQO	0,38	MCPP	-

El tratamiento con bentonita logró una eliminación del 72% y el 68% de DQO y COT, respectivamente, con una reducción del 96% de metamitrona y el 91% de terbutilazina, y la completa desaparición del resto de pesticidas. Además, el pH tomó un valor cercano a la neutralidad, por lo que no resultó necesaria la adición de NaOH para llevar a cabo los ensayos biológicos. El índice de biodegradabilidad alcanzó un valor ligeramente superior al obtenido con el agua residual bruta y la ecotoxicidad disminuyó hasta alcanzar un valor por debajo del límite de vertido a la red integral de saneamiento (25 UT) ([Ley 10/1993](#)). El empleo de bentonita permitió llevar a cabo una adsorción selectiva de los compuestos más tóxicos, ya que la eliminación del 72% de DQO logró una reducción de más del 97% de la ecotoxicidad.

El efluente del proceso de adsorción con bentonita se sometió a una dilución 1:10, de manera que la relación biomasa/sustrato empleada tomó un valor de 1,4:1, intermedio dentro del intervalo estudiado para el agua residual bruta. La Figura

6.3 muestra el respirograma obtenido en el ensayo biodegradabilidad rápida realizado con el efluente del tratamiento con bentonita sometido a una dilución 1:10. Puede observarse una elevada actividad de los microorganismos que se prolongó hasta pasadas 15 h, tras lo cual la VECO tomó valores de respiración endógena sin toxicidad aparente. El respirograma muestra la presencia de compuestos que se consumieron a diferente velocidad, alcanzándose los valores más elevados de VECO durante las dos primeras horas y manteniéndose posteriormente en torno a los $40 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ SSV}$ hasta completar la eliminación de la materia orgánica rápidamente biodegradable. La conversión de DQO y COT lograda en el ensayo fue del 61 y el 60%, respectivamente. Estos valores, casi el doble de los obtenidos en el ensayo de biodegradabilidad rápida del agua residual bruta diluida 1:100, ponen de manifiesto nuevamente la selectividad de la bentonita, ya que la DQO residual obtenida tras el proceso de adsorción estuvo formada por una mayor proporción de compuestos biodegradables.

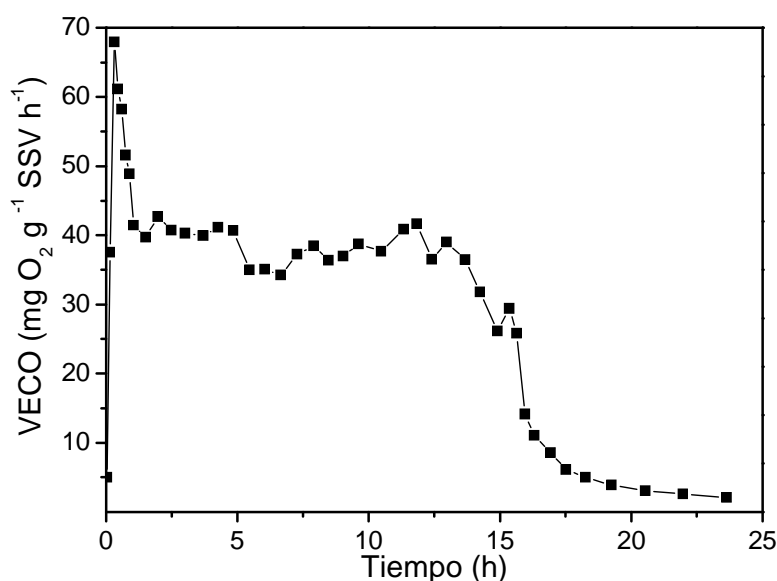


Fig. 6.3. Perfil respirométrico obtenido para una dilución 1:10 del efluente de tratamiento con bentonita del agua residual.

6.3.3. Tratamiento biológico del efluente de adsorción con bentonita

El agua residual tratada con bentonita se sometió a un proceso de degradación biológica en un SBR, utilizando una C_m de $0,4 \text{ kg DQO kg}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$, de manera que el influente sufrió una dilución 1:15 en cada ciclo. La Figura 6.4.a muestra la conversión de DQO, COT y pesticidas lograda en cada uno de los ciclos de tratamiento biológico, quedando reflejada la concentración de pesticidas, DQO y COT de los efluentes en la Figura 6.4.b.

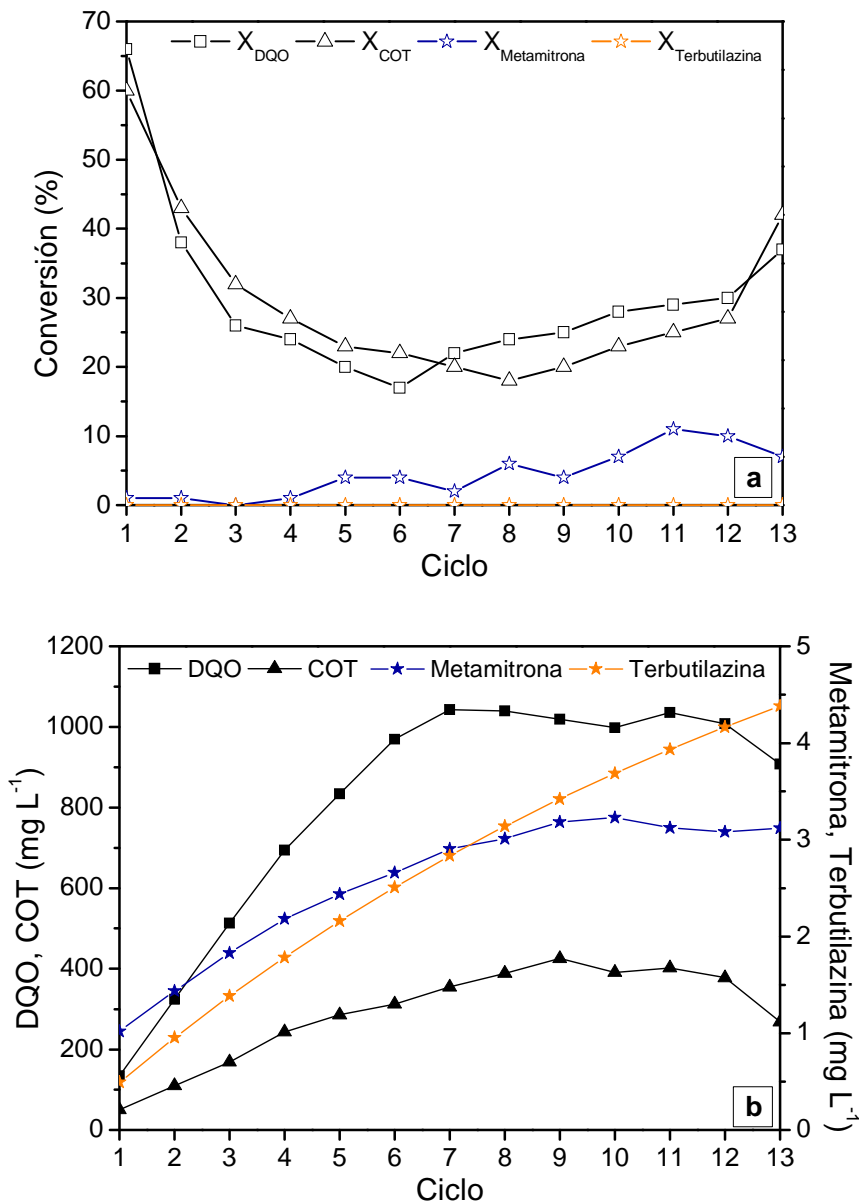


Fig. 6.4. Conversión lograda en cada ciclo de tratamiento durante el proceso biológico (a) y DQO, COT y concentración de pesticidas en los efluentes (b).

La eliminación insuficiente de materia orgánica durante los primeros ciclos provocó la acumulación de DQO y COT en el reactor. Tras un período de aclimatación, se logró una estabilización de los valores de conversión, que incluso fueron aumentando progresivamente durante los últimos ciclos de tratamiento. El proceso de aclimatación quedó a su vez reflejado en la creciente conversión de metamitrona, cuya concentración en el efluente se estabilizó a partir del décimo ciclo. La terbutilazina, sin embargo, no pudo degradarse, y su concentración en el efluente fue aumentando a lo largo de los ciclos. Nitschke et al. (1999) estudiaron la biodegradación de terbutilazina empleando un proceso de fangos activos, sin apreciar, tras 6 semanas de tratamiento, degradación biológica alguna.

La actividad de la biomasa se evaluó mediante la determinación de la VECO durante la etapa de reacción a lo largo de los ciclos de tratamiento. La Figura 6.5 muestra los respirogramas obtenidos en el primer y el décimo ciclo, así como la evolución de DQO y COT. El perfil respirométrico registrado en el décimo ciclo mostró una mayor actividad en la biomasa, correspondiéndose además con una mayor eliminación de DQO y COT. Estos datos se contradicen con los valores de conversión mostrados en la Figura 6.4.a, debido a que la acumulación de materia orgánica originó un aumento de la concentración inicial en el reactor que implicó que, aunque la cantidad de materia orgánica degradada fue mayor, el porcentaje de conversión resultara menor que el observado en el primer ciclo.

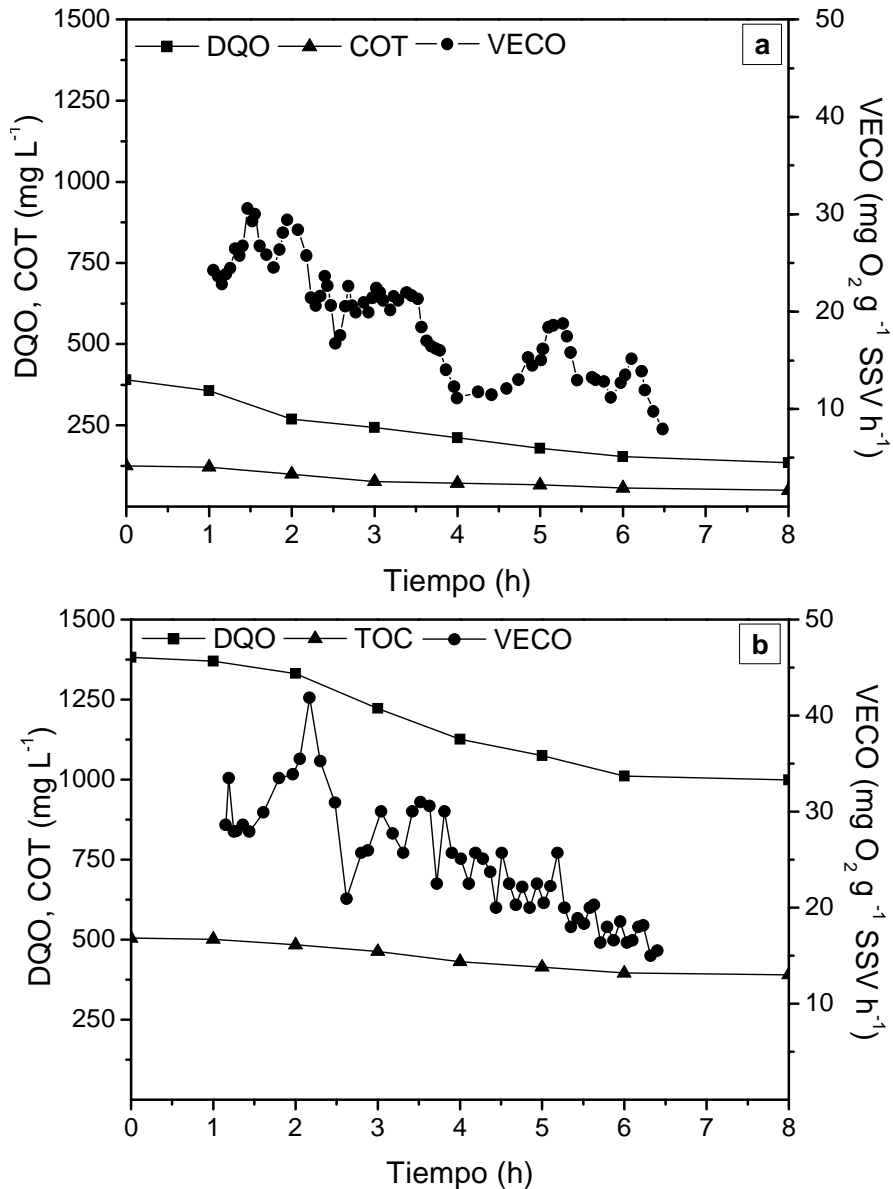


Fig. 6.5. Evolución temporal de DQO, COT y VECO a lo largo del primer (a) y décimo ciclo (b) de reacción durante el tratamiento biológico del efluente de agua residual tratado con bentonita.

La Figura 6.6 muestra la materia orgánica eliminada en términos DQO y COT en cada uno de los ciclos de tratamiento realizados a lo largo del período de experimentación con el sistema SBR. A pesar de la clara disminución de los valores de conversión obtenidos durante los primeros ciclos de acuerdo con la Figura 6.4.a, la eliminación de materia orgánica se mantuvo en valores constantes, observándose posteriormente un significativo aumento, lo que puso de manifiesto

la aclimatación de la biomasa al influente tratado. Al cabo de 13 ciclos, el sistema SBR resultó capaz de degradar 1,9 y 2,4 veces más de DQO y COT, respectivamente.

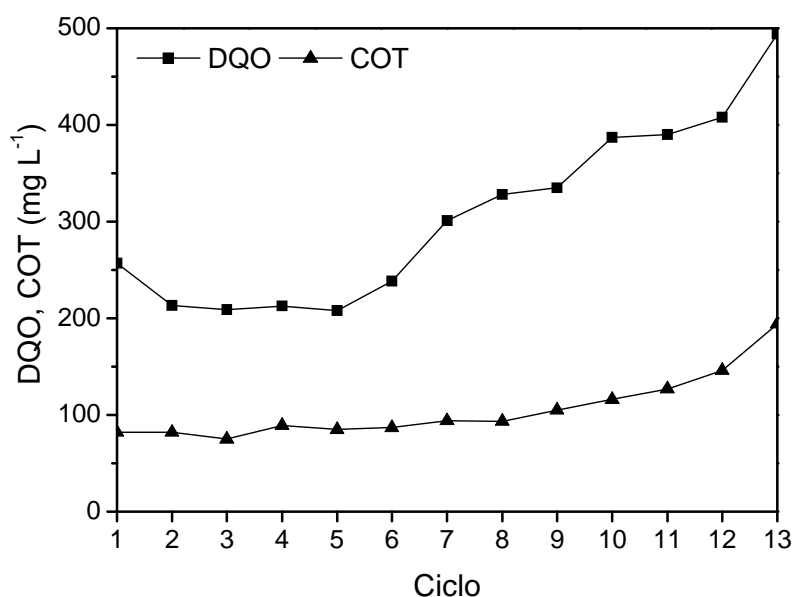


Fig. 6.6. Degradación de DQO y COT a lo largo de los ciclos de tratamiento del SBR.

6.3.4. Estimación de costes

Los efluentes obtenidos mediante el acoplamiento del proceso de adsorción con bentonita y el tratamiento biológico en SBR cumplieron los límites de vertido de la Ley 10/1993 (1750 mg DQO L⁻¹). Sin embargo, es destacable la generación de una importante cantidad de residuo en la etapa de pre-tratamiento derivada de la aplicación de bentonita como adsorbente, debido a que este tipo de arcilla posee una gran capacidad de hincharse en medio acuoso. La gestión de este residuo encarecería de manera importante el tratamiento. La Tabla 6.7 recoge una primera estimación teniendo en cuenta los principales costes de operación del proceso combinado, derivados del uso de bentonita como reactivo y la gestión del fango producido en el tratamiento previo (Pliego et al. 2012), así como del coste global de un tratamiento biológico aerobio en EDAR incluyendo energía, personal, reactivos, mantenimiento y residuos (Hernandez-Sancho et al. 2010). La cantidad de lodos generados durante el tratamiento de adsorción con bentonita se determinó experimentalmente mediante filtración por gravedad, recogándose

21,4 kg de lodos por m³ de agua tratada. Los resultados se presentan tanto en € m⁻³ de agua tratada como en € kg⁻¹ DQO eliminada.

Tabla 6.7. Estimación de los principales costes de operación del tratamiento de las aguas residuales objeto de estudio mediante un proceso combinado de adsorción con bentonita y biológico.

	Precio (€ kg ⁻¹)	€ m ⁻³	€ kg ⁻¹ DQO
Bentonita	1,03	4,12	
Lodos	0,09	1,93	
Pre-tratamiento		6,05	0,40
Tratamiento biológico		0,20	0,04
Total		6,25	0,44

El coste global del tratamiento fue relativamente bajo en términos de € kg⁻¹ DQO eliminada, teniendo en cuenta la elevada concentración inicial de materia orgánica de las aguas tratadas y la importante conversión de DQO obtenida finalmente. El coste principal resultó del empleo de bentonita como reactivo, que encareció significativamente el tratamiento previo en comparación con el sistema biológico. Sin embargo, la reducción de la toxicidad y la importante eliminación de materia orgánica logradas en el proceso de adsorción fueron claves para conseguir el correcto funcionamiento del reactor biológico y la eficacia global del tratamiento combinado.

Estas aguas residuales han sido tratadas previamente mediante la combinación de un proceso de coagulación-adsorción con bentonita y FeCl₃ junto con una oxidación Fenton a alta temperatura (Pliego 2012). Este tratamiento logró una conversión final de DQO similar a la obtenida en el presente capítulo (en torno al 97%) pero a un coste mucho más elevado (1,65 € kg⁻¹ DQO), principalmente relacionado con los requerimientos de H₂O₂. Por ello, aunque el empleo de un sistema biológico hizo necesario un mayor tiempo de reacción (la duración de los

ciclos del sistema SBR fue de 8 h, mientras que el tratamiento por reactivo Fenton pudo aplicarse en 4 h), la utilización de un proceso biológico podría resultar más conveniente en términos económicos.

El coste estimado en el presente trabajo para el tratamiento del agua residual estudiada resultó similar al obtenido para diferentes efluentes industriales. Sattler et al. (2004) llevaron a cabo el tratamiento de un efluente pre-tratado de una industria papelera con una DQO inicial de 150 mg L⁻¹ mediante oxidación con TiO₂/UV solar, logrando un 90% de eliminación de materia orgánica a un coste de 7,6 € m⁻³. El tratamiento de efluentes procedentes de la fabricación de madera, con una DQO inicial de 3 g L⁻¹ mediante foto-Fenton solar proporcionó una eliminación del 90% de DQO a un coste de 9 € m⁻³ (Machado et al. 2004), mientras que el tratamiento combinado mediante coagulación y oxidación Fenton de un alpechín con una DQO de 34 g L⁻¹ supuso un coste de 4,3 € m⁻³, lográndose una conversión de DQO del 93% (Mert et al 2010).

6.4. Conclusiones

La caracterización de las aguas residuales objeto de estudio mostró un alto contenido en materia orgánica y una concentración importante de pesticidas. La elevada toxicidad de las aguas residuales hizo inviable la aplicación de un proceso biológico para el tratamiento de este tipo de efluentes. La aplicación de un tratamiento de adsorción con bentonita permitió una importante reducción de la concentración de materia orgánica, generando un efluente con una toxicidad significativamente menor y una mayor biodegradabilidad, logrando la eliminación de la mayor parte de los pesticidas recalcitrantes, a excepción de metamitrona y terbutilazina, cuya concentración quedó significativamente reducida. El efluente obtenido presentó unas características adecuadas para ser sometido a tratamiento biológico, en el cual, tras la acumulación de compuestos durante los primeros ciclos, se observó un proceso de aclimatación de la biomasa, lográndose una importante eliminación de materia orgánica, e incluso la degradación de una significativa proporción de metamitrona. Los resultados obtenidos permitieron concluir que este tipo de efluentes industriales pueden tratarse mediante la

combinación de procesos a un coste razonable, pese a que el empleo de bentonita como adsorbente da lugar a la generación de un importante volumen de lodo que debe ser gestionado correctamente.

Biodegradabilidad
Eliminación
Inhibición
SBR
Fenton
Bentonita
Acoplamiento
Cinética
Clorofenoles
Toxicidad
SB-MBR
Compuestos Emergentes
Degradación

CONCLUSIONES

Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo han permitido establecer las siguientes conclusiones:

1. Los métodos respirométricos de determinación de la **inhibición** y la **biodegradabilidad rápida** permiten realizar una evaluación sencilla y realista de la viabilidad del tratamiento de compuestos xenobióticos mediante procesos de fangos activos. El ensayo de inhibición permite determinar el valor de la EC_{50} incluso en compuestos de escasa solubilidad. El procedimiento de determinación de la biodegradabilidad rápida muestra el comportamiento de estos compuestos en un sistema de tratamiento biológico con biomasa no aclimatada.
2. De los compuestos estudiados, los derivados fenólicos clorados presentaron un notable comportamiento inhibitorio, que aumentó con el número de átomos de cloro de la molécula y especialmente cuando las sustituciones ocuparon posiciones *meta*- y *para*-. Sin embargo, en concentraciones por debajo de su EC_{50} , 4CC y 4CP se eliminarían en procesos convencionales de fangos activos, mientras que 24DCP y 246TCP podrían degradarse utilizando biomasa aclimatada. La inhibición causada por los derivados fenólicos no clorados resultó significativamente menor, especialmente en el caso de los productos de la hidrogenación de fenol (C-OL y C-ONA). Estos

compuestos, junto con el fenol y el catecol, podrían eliminarse biológicamente en un período equivalente al tiempo de retención hidráulico de una EDAR. HQ y BQ presentaron una EC_{50} extremadamente baja, que haría inviable su tratamiento mediante sistemas biológicos. Los compuestos emergentes estudiados, pese a ejercer una inhibición significativamente baja, mostraron una biodegradabilidad muy limitada, especialmente aquéllos que presentaron nitrógeno en su composición.

3. La evaluación de la VECO mediante respirometría permitió determinar la **cinética** de degradación de fenol, C-OL y C-ONA por un fango activo aclimatado, empleando el modelo de Haldane para el ajuste de datos respirométricos. El fenol mostró una inhibición por sustrato superior a la observada para ciclohexanol y ciclohexanona, aunque se degradó a una mayor velocidad. Los valores de la constante de inhibición mostraron que estos compuestos podrían eliminarse de las aguas residuales en concentraciones elevadas empleando un tratamiento biológico con biomasa aclimatada, que se vería favorecido con el aumento moderado de la temperatura.
4. El tratamiento de diurón y atrazina en reactores **SBR** requirió elevados tiempos de aclimatación para conseguir una degradación efectiva de los herbicidas. La aclimatación de 2,4-D y MCPA fue sensiblemente más rápida. Las eficiencias de eliminación biológica de los herbicidas ensayados alcanzaron valores superiores al 65%, llegando hasta el 95% en el caso del 2,4-D.
5. El empleo de sistemas **SB-MBR** de fibra hueca para la eliminación de **2,4-D** permitió disminuir el tiempo de aclimatación de la biomasa y aumentar la carga tratada respecto a la empleada en el SBR, obteniéndose elevadas conversiones tanto de herbicida como del sustrato biogénico.
6. La **combinación** de un proceso de oxidación Fenton con un sistema biológico empleando un reactor SBR permitió llevar a cabo la eliminación eficaz de concentraciones elevadas de **alacloro**, **2,4-D** y **MCPA**,

obteniéndose compuestos más biodegradables y lográndose elevadas conversiones de materia orgánica, con una significativa reducción en el consumo de reactivos. El tratamiento mediante reactivo Fenton de **diurón** y **atrazina** resultó más efectivo de manera individual que en combinación con un proceso biológico, ya que la carga orgánica proporcionada por los efluentes de oxidación de dichos compuestos resultó excesivamente baja.

7. Entre las alternativas estudiadas, la eliminación más efectiva de los herbicidas ensayados se obtendría empleando reactivo Fenton para diurón y atrazina, y a través del acoplamiento de dicho proceso con un sistema biológico para alacloro y MCPA. La eliminación de 2,4-D podría llevarse a cabo mediante un tratamiento biológico en reactores SB-MBR o bien, para elevadas concentraciones, mediante el acoplamiento de oxidación Fenton y reactores SBR.
8. El empleo de **reactivo Fenton** para el tratamiento de **cafeína** y **atenolol** generó efluentes cuyas características, incluidas ecotoxicidad y biodegradabilidad, permitirían su vertido incluso utilizando dosis de peróxido de hidrógeno inferiores a la cantidad estequiométrica.
9. El empleo de **bentonita** como tratamiento previo de un agua residual procedente de la producción de fitosanitarios permitió reducir la toxicidad del efluente de partida, lo que facilitó la aplicación de un sistema biológico, consiguiendo eficiencias elevadas en la eliminación de la materia orgánica. El efluente obtenido tras el tratamiento combinado cumplió los parámetros de vertido a la red integral de saneamiento, según la Ley 10/1993 de la Comunidad de Madrid.

DEHA APHA CAO ARIE COI DEIA HPLCSB-MBR VECPPS C-FC HQ MBR EDAR UTSBR
C-ONA 35DCP ICP/MS AOPS DEHA VEC COI DEIA HPLCSB-MBR VECPPS C-FC HQ MBR EDAR UTSBR
NIR 4-COT PCP ACN WAO GC/MC MS 4CPS 246TCP EF A PPCPS VEC HQ CMCPP DIC50
WAO GC/MC MS 4CPS 246TCP EF A PPCPS VEC HQ CMCPP DIC50
AOPS DEHA VEC COI DEIA HPLCSB-MBR VECPPS C-FC HQ MBR EDAR UTSBR
GC/MC MS 4CPS 246TCP EF A PPCPS VEC HQ CMCPP DIC50
246TCP EF A PPCPS VEC HQ CMCPP DIC50
PPCPS VEC HQ CMCPP DIC50
VEC HQ CMCPP DIC50
HQ CMCPP DIC50
CMCPP DIC50
DIC50
YXS cm
OECD 4
MCPA CUS
VEComax SSV

NOMENCLATURA

Nomenclatura

2,4-D – Ácido 2,4-diclorofenoxiacético

246TCP – 2,4,6-triclorofenol

24DCP – 2,4-diclorofenol

35DCP – 3,5-diclorofenol

4CC – 4-clorocatecol

4CP – 4-clorofenol

AcNa – Acetato sódico

AOPs – *Advanced Oxidation Processes*- Procesos de oxidación avanzada

APHA – *American Public Health Association* – Asociación americana de salud pública

ARI – Aguas residuales industriales

ATP – Adenosín-trifosfato

BOCM – Boletín Oficial de la Comunidad de Madrid

BOE – Boletín Oficial del Estado

BQ – p-benzoquinona

C-OL – Ciclohexanol

C-ONA – Ciclohexanona

CAO – Consumo acumulado de oxígeno

- CAO_{ex}** – Consumo acumulado de oxígeno exógeno
- CDEFMA** – 2-cloro-2,6-dietilfenil-N-(metil)acetamida
- C_m** – Carga másica
- COT** – Carbono orgánico total
- CWAO** – *Catalytic Wet Air Oxidation* – Oxidación húmeda catalítica
- CWPO** – *Catalytic Wet Peroxide Oxidation* – Oxidación húmeda catalítica con peróxido de hidrógeno
- DBO** – Demanda biológica de oxígeno
- DEHA** – Desetil-2-hidroxiatrazina
- DEIA** – Desetildesisopropil atrazina
- DEIHA** – Desetildesisopropil-2-hidroxiatrazina
- DQO** – Demanda química de oxígeno
- EC₅₀** – Mitad de la concentración efectiva máxima
- EDAR** – Estación depuradora de aguas residuales
- GC/FID** – *Gas Chromatography/Flame Ionization Detector* – Cromatografía de gases con detector de ionización de llama
- GC/MS** – *Gas Chromatography/Mass Spectrometry* – Cromatografía de gases con espectrometría de masas
- HPLC** – *High-Performance Liquid Chromatography* – Cromatografía líquida de alta eficacia
- HQ** – Hidroquinona
- IC₅₀** – Mitad de la concentración inhibitoria máxima
- ICP/MS** – *Inductively Coupled Plasma/Mass Spectrometry* – Espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo
- IR** – Índice de refracción
- IWA** – *International Water Association* – Asociación internacional del agua
- K_i** – Constante de inhibición
- K_s** – Constante de saturación
- m-** – *meta-*
- MBR** – *Membrane Bioreactor* – Reactor biológico de membrana
- MCPA** – Ácido (4-cloro-2metilfenoxi)acético

MCPP – Ácido 2-(4-cloro-2metilfenoxi)propanoico

MMDEFHA – N-(metoximetil)-N-(2,6-dietilfenil)-2-hidroxiacetamida

o- – *orto-*

OD – Oxígeno disuelto

OECD – *Organization for Economic Co-operation and Development* – Organización para la cooperación y el desarrollo económico

p- – *para-*

PCCPs – *Pharmaceuticals and Personal Care Products* – Fármacos y productos de cuidado personal

PCP – Pentaclorofenol

R² – Coeficiente de correlación

RD – Real Decreto

S – Concentración de sustrato

SB-MBR – *Sequencing Batch-Membrane Bioreactor* – Reactor biológico secuencial de membrana

SBR – *Sequencing Batch Reactor* – Reactor secuencial discontinuo

SSV – Sólidos en suspensión volátiles

T – Temperatura

t_{RC} – Tiempo de retención celular

t_{RH} – Tiempo de retención hidráulico

USDA – *United States Department of Agriculture* – Departamento de agricultura de Estados Unidos

USEPA – *United States Environmental Protection Agency* – Agencia de protección medioambiental de Estados Unidos

US – Ultrasonidos

UT – Unidades de toxicidad

UV - Ultravioleta

VCO – Velocidad de consumo de oxígeno

VCO_{max} – Velocidad máxima de consumo de oxígeno

VECO – Velocidad específica de consumo de oxígeno

VECO_{exR} – Velocidad específica de consumo de oxígeno exógena debida al consumo del compuesto de referencia

VECO_{exT} – Velocidad específica de consumo de oxígeno exógena debida al consumo del compuesto de referencia en presencia de tóxico

VECO_i – Velocidad específica de consumo de oxígeno inicial

VECO_{max} – Velocidad específica máxima de consumo de oxígeno

WAO – *Wet Air Oxidation* – Oxidación húmeda

X – Conversión

Y_{XS} – Rendimiento biomasa/sustrato

α y β – Ordenada en el origen y pendiente del modelo lineal empleado para la determinación del valor de EC₅₀

γ – Parámetro que relaciona la VECO_{exR} y la VECO_{exT} en el modelo lineal empleado para la determinación del valor de EC₅₀

μ – Velocidad de crecimiento de la biomasa

μ_{max} – Velocidad máxima de crecimiento de la biomasa

ω – Constante del modelo logístico de inhibición de biomasa

Balci
Monsalvo
Dalzell
Tomei
Farre
Drzewicz
Suarez
Andreozzi
Kaiser
Rodriguez
OEC
ISO
Zazo
Ojeda
Lapertot
Carreras
Brillas
APHA
Rizzo
Chica
Oller
Ballesteros-Martin
Rico
Buitron
Mantzavinos

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

- Abegglen C., Joss A., McArdell C., Fink G., Schluesener M., Ternes T. and Siegrist H. (2009). The fate of selected micropollutants in a single-house MBR. *Water Res.* **43**(7), 2036-2046.
- Abu-Hassan M., Kim J., Metcalfe I. and Mantzavinos D. (2006). Kinetics of low frequency sonodegradation of linear alkylbenzene sulfonate solutions. *Chemosphere.* **62**(5), 749-755.
- Adams C., Scanlan P. and Secrist N. (1994). Oxidation and biodegradability enhancement of 1,4-dioxane using hydrogen-peroxide and ozone. *Environ Sci Technol.* **28**(11), 1812-1818.
- Agarry S. E., Durojaiye A. O. and Solomon B. O. (2008). Microbial degradation of phenols: a review. *Int J Environ Pollut.* **32**(1), 12-28.
- Aggelis G., Ehaliotis C., Nerud F., Stoychev I., Lyberatos G. and Zervakis G. (2002). Evaluation of white-rot fungi for detoxification and decolorization of effluents from the green olive debittering process. *Appl Microbiol Biotechnol.* **59**(2-3), 353-360.
- Agrios A., Pichat P. (2005). State of the art and perspectives on materials and applications of photocatalysis over TiO₂. *J Appl Electrochem.* **35**(7-8), 655-663.
- Ahlborg U. and Thunberg T. (1980). Chlorinated phenols- occurrence, toxicity, metabolism, and environmental-impact. *CRC Crit Rev Toxicol.* **7**(1), 1-35.
- Ahmaruzzaman M. (2008). Adsorption of phenolic compounds on low-cost adsorbents: A review. *Adv Colloid Interface Sci.* **143**(1-2), 48-67.

- Al Momani F., Sans C., Contreras S. and Esplugas S. (2006). Degradation of 2,4-dichlorophenol by combining photo-assisted Fenton reaction and biological treatment. *Water Environ Res.* **78**(6), 590-597.
- Allsop P., Chisti Y., Mooyoung M. and Sullivan G. (1993). Dynamics of phenol degradation by *Pseudomonas putida*. *Biotechnol Bioeng.* **41**(5), 572-580.
- Al-Rifai J. H., Gabefish C. L. and Schaefer A. I. (2007). Occurrence of pharmaceutically active and non-steroidal estrogenic compounds in three different wastewater recycling schemes in Australia. *Chemosphere.* **69**(5), 803-815.
- Amat A., Arques A., Miranda M. and Lopez F. (2005). Use of ozone and/or UV in the treatment of effluents from board paper industry. *Chemosphere.* **60**(8), 1111-1117.
- Andreozzi R., Caprio V., Insola A. and Marotta R. (1999). Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catalysis Today.* **53**(1), 51-59.
- Andreozzi R., Caprio V., Marotta R. and Radovnikovic A. (2003a). Ozonation and H₂O₂/UV treatment of clofibric acid in water: a kinetic investigation. *J Hazard Mater.* **103**(3), 233-246.
- Andreozzi R., Caprio V., Marotta R. and Vogna D. (2003b). Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and H₂O₂/UV system. *Water Res.* **37**(5), 993-1004.
- Andreozzi R., Canterino M., Marotta R. and Paxeus N. (2005). Antibiotic removal from wastewaters: The ozonation of amoxicillin. *J Hazard Mater.* **122**(3), 243-250.
- APHA (1992). Standards methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington.
- Aruoja V., Sihtmae M., Dubourguier H. and Kahru A. (2011). Toxicity of 58 substituted anilines and phenols to algae *Pseudokirchneriella subcapitata* and bacteria *Vibrio fischeri*: Comparison with published data and QSARs. *Chemosphere.* **84**(10), 1310-1320.
- Ashton D., Hilton M. and Thomas K. (2004). Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci Total Environ.* **333**(1-3), 167-184.
- ATSDR. (2007). Comprehensive environmental response, compensation, and liability act (CERCLA) Priority List of Hazardous Substances. .

- Avcioglu E., Orhon D. and Sozen S. (1998). A new method for the assessment of heterotrophic endogenous respiration rate under aerobic and anoxic conditions. *Water Science and Technology*. **38**(8-9), 95-103.
- Ayari F., Srasra E. and Trabelsi-Ayadi M. (2005). Characterization of bentonitic clays and their use as adsorbent. *Desalination*. **185**(1-3), 391-397.
- Babu G. and Varghese W. (1999). Biodegradation of cyclohexanone and cyclohexanol by the activated sludge process. *Journal of Scientific & Industrial Research*. **58**(11), 864-868.
- Badellino C., Rodrigues C. A. and Bertazzoli R. (2007). Oxidation of herbicides by in situ synthesized hydrogen peroxide and Fenton's reagent in an electrochemical flow reactor: study of the degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *J Appl Electrochem*. **37**(4), 451-459.
- Bagg W. K. and Lock R. R. (1995). Treatment and reuse of effluents from an integrated steelworks in combination with domestic sewage. In: Second International Symposium on Wastewater Reclamation and Reuse, Books 1 and 2, A. Angelakis, T. Asano, E. Diamadopoulos, G. Tchobanoglous (eds.), 791-802.
- Balci B., Oturan N., Cherrier R. and Oturan M. A. (2009). Degradation of atrazine in aqueous medium by electrocatalytically generated hydroxyl radicals. A kinetic and mechanistic study. *Water Res*. **43**(7), 1924-1934.
- Balcioglu I. and Otker M. (2003). Treatment of pharmaceutical wastewater containing antibiotics by O₃ and O₃/H₂O₂ processes. *Chemosphere*. **50**(1), 85-95.
- Ballesteros Martin M. M., Sanchez Perez J. A., Garcia Sanchez J. L., Montes de Oca L., Casas Lopez J. L., Oller I. and Malato Rodriguez S. (2008). Degradation of alachlor and pyrimethanil by combined photo-Fenton and biological oxidation. *J Hazard Mater*. **155**(1-2), 342-9.
- Ballesteros Martin M. M., Sanchez Perez J. A., Casas Lopez J. L., Oller I. and Malato Rodriguez S. (2009a). Degradation of a four-pesticide mixture by combined photo-Fenton and biological oxidation. *Water Res*. **43**(3), 653-660.
- Ballesteros Martin M. M., Sanchez Perez J. A., Garcia Sanchez J. L., Casas Lopez J. L. and Malato Rodriguez S. (2009b). Effect of pesticide concentration on the degradation process by combined solar photo-Fenton and biological treatment. *Water Res*. **43**(15), 3838-3848.
- Ballesteros Martin M. M., Casas Lopez J. L., Oller I., Malato S. and Sanchez Perez J. A. (2010). A comparative study of different tests for biodegradability enhancement determination during AOP treatment of recalcitrant toxic aqueous solutions. *Ecotoxicol Environ Saf*. **73**(6), 1189-1195.
- Baloga J. M. (1971). A solution to the phenolic problem in fiberglass plants. *Water Sewage Works*. **118**, 117-180.

- Barriuso E., Houot S. and SerraWittling C. (1997). Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides. *Pestic Sci.* **49**(1), 65-75.
- Barron M., Heintz R. and Krahn M. (2003). Contaminant exposure and effects in pinnipeds: implications for Steller sea lion declines in Alaska. *Sci Total Environ.* **311**(1-3), 111-133.
- BASF AG. (2000). Department of product safety, regulations, toxicology and ecology, unpublished data (00/0360/21/1), 10-31-00.
- Batista J. A., Santos F. N., Barros Jr. L. M., Schmidell W. and Macedo G. R. (2005). Uso da respirometria na avaliação da toxicidade do fenol em um lodo doméstico. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica.
- Bautista P., Mohedano A. F., Gilarranz M. A., Casas J. A. and Rodriguez J. J. (2007). Application of Fenton oxidation to cosmetic wastewaters treatment. *J Hazard Mater.* **143**(1-2), 128-134.
- Bautista P., Mohedano A. F., Casas J. A., Zazo J. A. and Rodriguez J. J. (2008). An overview of the application of Fenton oxidation to industrial wastewaters treatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology.* **83**(10), 1323-1338.
- Beltrame P., Beltrame P. and Carniti P. (1984). Inhibiting action of chloro-phenols and nitro-phenols on biodegradation of phenol- A structure-toxicity relationship. *Chemosphere.* **13**(1), 3-9.
- Beltran F., Garcia-Araya J. and Alvarez P. (2001). pH sequential ozonation of domestic and wine-distillery wastewaters. *Water Res.* **35**(4), 929-936.
- Benitez F., Acero J., Real F., Rubio F. and Leal A. (2001). The role of hydroxyl radicals for the decomposition of p-hydroxy phenylacetic acid in aqueous solutions. *Water Res.* **35**(5), 1338-1343.
- Benoit-Guyod J., Bruckner C. and Benoit-Guyod M. (1994). Degradation of chlorophenols by ozone and light. *Fresenius Environ Bull.* **3**(6), 331-338.
- Berberidou C., Poullos I., Xekoukoulotakis N. P. and Mantzavinos D. (2007). Sonolytic, photocatalytic and sonophotocatalytic degradation of malachite green in aqueous solutions. *Applied Catalysis B-Environmental.* **74**(1-2), 63-72.
- Bernet N., Habouzit F. and Moletta R. (1996). Use of an industrial effluent as a carbon source for denitrification of a high-strength wastewater. *Appl Microbiol Biotechnol.* **46**(1), 92-97.
- Berryman D., Houde F., DeBlois C. and O'Shea M. (2004). Nonylphenolic compounds in drinking and surface waters downstream of treated textile and pulp and paper effluents: a survey and preliminary assessment of their potential effects on public health and aquatic life. *Chemosphere.* **56**(3), 247-255.

- Bjergager M., Hanson M., Lissemore L., Henriquez N., Solomon K. and Cedergreen N. (2011). Synergy in microcosms with environmentally realistic concentrations of prochloraz and esfenvalerate. *Aquatic Toxicology*. **101**(2), 412-422.
- Bjergager M., Hanson M., Solomon K. and Cedergreen N. (2012). Synergy between prochloraz and esfenvalerate in *Daphnia magna* from acute and subchronic exposures in the laboratory and microcosms. *Aquatic Toxicology*. **110**, 17-24.
- Blanco J., Malato S., Maldonado M. I., Vincent J. P., Vincent M. and Sanchez E. (2004). Myro, The Albaida plant: first commercial step in solar detoxification. In: Global Symposium on Recycling, Waste Treatment and Clean Technology. Vol. II, I. Gaballah, B. Mishra, R. Solozabla, M. Tanaka (eds.), Inasmet, San Sebastian, España, 1425-1436.
- Bogaerts P., Bohatier J. and Bonnemoy F. (2001). Use of the ciliated protozoan *Tetrahymena pyriformis* for the assessment of toxicity and quantitative structure-activity relationships of xenobiotics: Comparison with the Microtox® test. *Ecotoxicol Environ Saf.* **49**(3), 293-301.
- Bojanowska-Czajka A., Drzewicz P., Kozyra C., Nalecz-Jawecki G., Sawicki J., Szostek B. and Trojanowicz M. (2006). Radiolytic degradation of herbicide 4-chloro-2-methyl phenoxyacetic acid (MCPA) by gamma-radiation for environmental protection. *Ecotoxicol Environ Saf.* **65**(2), 265-277.
- Boncz M., Bruning H., Rulkens W., Sudholter E., Harmsen G. and Bijsterbosch J. (1997). Kinetic and mechanistic aspects of the oxidation of chlorophenols by ozone. *Water Science and Technology*. **35**(4), 65-72.
- Bonnemoy F., Lavedrine B. and Boulkamh A. (2004). Influence of UV irradiation on the toxicity of phenylurea herbicides using Microtox® test. *Chemosphere*. **54**(8), 1183-1187.
- Bonnet J. L., Bonnemoy F., Dusser M. and Bohatier J. (2007). Assessment of the potential toxicity of herbicides and their degradation products to nontarget cells using two microorganisms, the bacteria *Vibrio fischeri* and the ciliate *Tetrahymena pyriformis*. *Environ Toxicol*. **22**(1), 78-91.
- Borja R., Martin A., Maestro R., Luque M. and Duran M. (1993). Enhancement of the anaerobic-digestion of wine distillery waste-water by the removal of phenolic inhibitors. *Bioresour Technol*. **45**(2), 99-104.
- Brand D., Pandey A., Roussos S. and Soccol C. (2000). Biological detoxification of coffee husk by filamentous fungi using a solid state fermentation system. *Enzyme Microb Technol*. **27**(1-2), 127-133.
- Brillas E., Calpe J. C. and Casado J. (2000). Mineralization of 2,4-D by advanced electrochemical oxidation processes. *Water Res*. **34**(8), 2253-2262.

- Brillas E., Boye B. and Dieng M. M. (2003). General and UV-assisted cathodic Fenton treatments for the mineralization of herbicide MCPA. *J Electrochem Soc.* **150**(11), 583-589.
- Brock T., Crum S., Deneer J., Heimbach F., Roijackers R. and Sinkeldam J. (2004). Comparing aquatic risk assessment methods for the photosynthesis-inhibiting herbicides metribuzin and metamitron. *Environmental Pollution.* **130**(3), 403-426.
- Buenrostro-Zagal J. F., Ramirez-Oliva A., Caffarel-Mendez S., Schettino-Bermudez B. and Poggi-Varaldo H. M. (2000). Treatment of a 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) contaminated wastewater in a membrane bioreactor. *Water Science and Technology.* **42**(5-6), 185-192.
- Buffle M., Schumacher J., Salhi E., Jekel M. and von Gunten U. (2006). Measurement of the initial phase of ozone decomposition in water and wastewater by means of a continuous quench-flow system: Application to disinfection and pharmaceutical oxidation. *Water Res.* **40**(9), 1884-1894.
- Buitron G. and Capdeville B. (1995). Enhancement of the biodegradation activity by the acclimation of the inoculum. *Environ Technol.* **16**(12), 1175-1184.
- Buitron G. and Gonzalez A. (1996). Characterization of the microorganisms from an acclimated activated sludge degrading phenolic compounds. *Water Science and Technology.* **34**(5-6), 289-294.
- Buitron G., Gonzalez A. and Lopez-Marin L. (1998). Biodegradation of phenolic compounds by an acclimated activated sludge and isolated bacteria. *Water Science and Technology.* **37**(4-5), 371-378.
- Burgess J., Quarmby J. and Stephenson T. (1999). Role of micronutrients in activated sludge-based biotreatment of industrial effluents. *Biotechnol Adv.* **17**(1), 49-70.
- Busca G., Berardinelli S., Resini C. and Arrighi L. (2008). Technologies for the removal of phenol from fluid streams: A short review of recent developments. *J Hazard Mater.* **160**(2-3), 265-288.
- Buxton G., Greenstock C., Helman W. and Ross A. (1988). Critical-review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen-atoms and hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}/\cdot\text{O}$) in aqueous-solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data.* **17**(2), 513-886.
- Calvo L., Mohedano A. F., Casas J. A., Gilarranz M. A. and Rodriguez J. J. (2004). Treatment of chlorophenols-bearing wastewaters through hydrodechlorination using Pd/activated carbon catalysts. *Carbon.* **42**(7), 1377-1381.
- Calvo L., Gilarranz M. A., Casas J. A., Mohedano A. F. and Rodriguez J. J. (2006). Hydrodechlorination of 4-chlorophenol in aqueous phase using Pd/AC catalysts

- prepared with modified active carbon supports. *Applied Catalysis B-Environmental*. **67**(1-2), 68-76.
- Calvo L., Gilarranz M. A., Casas J. A., Mohedano A. F. and Rodriguez J. J. (2008). Hydrodechlorination of alachlor in water using Pd, Ni and Cu catalysts supported on activated carbon. *Applied Catalysis B-Environmental*. **78**, 259-266.
- Calvo L., Gilarranz M. A., Casas J. A., Mohedano A. F. and Rodriguez J. J. (2010). Hydrodechlorination of diuron in aqueous solution with Pd, Cu and Ni on activated carbon catalysts. *Chem Eng J*. **163**(3), 212-218.
- Canizares P., Saez C., Lobato J. and Rodrigo M. (2006). Detoxification of synthetic industrial waste-waters using electrochemical oxidation with boron-doped diamond anodes. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. **81**(3), 352-358.
- Carini D., Dunn I. and Morbidelli M. (2003). Water treatment using sequenced ozonation and SBR biofilm reactors. *J Chem Technol Biotechnol*. **78**(11), 1157-1165.
- Carrera J., Martin-Hernandez M., Suarez-Ojeda M. E. and Perez J. (2011). Modelling the pH dependence of the kinetics of aerobic p-nitrophenol biodegradation. *J Hazard Mater*. **186**(2-3), 1947-1953.
- Celis E., Elefsiniotis P. and Singhal N. (2008). Biodegradation of agricultural herbicides in sequencing batch reactors under aerobic or anaerobic conditions. *Water Res*. **42**(12), 3218-3224.
- Chamarro E., Marco A. and Esplugas S. (2001). Use of Fenton reagent to improve organic chemical biodegradability. *Water Res*. **35**(4), 1047-1051.
- Chan C. Y., Tao S., Dawson R. and Wong P. K. (2004). Treatment of atrazine by integrating photocatalytic and biological processes. *Environmental Pollution*. **131**(1), 45-54.
- Chan K. H. and Chu W. (2006). Model applications and intermediates quantification of atrazine degradation by UV-enhanced Fenton process. *J Agric Food Chem*. **54**(5), 1804-1813.
- Chan Y. J., Chong M. F., Law C. L. and Hassell D. G. (2009). A review on anaerobic-aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. *Chem Eng J*. **155**(1-2), 1-18.
- Charizopoulos E. and Papadopoulou-Mourkidou E. (1999). Occurrence of pesticides in rain of the Aries River Basin, Greece. *Environ Sci Technol*. **33**(14), 2363-2368.

- Chatzitakis A., Berberidou C., Paspaltsis I., Kyriakou G., Sklaviadis T. and Poullos I. (2008). Photocatalytic degradation and drug activity reduction of chloramphenicol. *Water Res.* **42**(1-2), 386-394.
- Chelme-Ayala P., El-Din M. G. and Smith D. W. (2010). Degradation of bromoxynil and trifluralin in natural water by direct photolysis and UV plus H₂O₂ advanced oxidation process. *Water Res.* **44**(7), 2221-2228.
- Chen R. Z. and Pignatello J. J. (1997). Role of quinone intermediates as electron shuttles in Fenton and photoassisted Fenton oxidations of aromatic compounds. *Environ Sci Technol.* **31**(8), 2399-2406.
- Cheng Q., Thomas S. M., Kostichka K., Valentine J. R. and Nagarajan V. (2000). Genetic analysis of a gene cluster for cyclohexanol oxidation in *Acinetobacter sp strain SE19* by in vitro transposition. *J Bacteriol.* **182**(17), 4744-4751.
- Chica A., Martin A., Vazquez F. J., Carmona F. J. and Mohedo J. J. (2007). Respirometer to analyze measure dissolved oxygen and oxygen demand of microbes in leachate from municipal waste. Patent ES 2283171.
- Dios M., Arcos M. A., Martín M. A., Corredera A. B. and Chica A. F. (2009). Relationship between respirometric stability and agricultural maturity in compost from municipal solid waste. *Dynamic Soil Dynamic Plants*, **3**(1), 78-85.
- Chiron S., Fernandez-Alba A., Rodriguez A. and Garcia-Calvo E. (2000). Pesticide chemical oxidation: state-of-the-art. *Water Res.* **34**(2), 366-377.
- Chong N. M. and Lin T. Y. (2007). Measurement of the degradation capacity of activated sludge for a xenobiotic organic. *Bioresour Technol.* **98**(5), 1124-1127.
- Chong N., Maily L. and Hwu C. (2012). Biogenic substrate benefits activated sludge in acclimation to a xenobiotic. *Bioresour Technol.* **104**, 181-186.
- Coca M., Pena M. and Gonzalez G. (2005). Variables affecting efficiency of molasses fermentation wastewater ozonation. *Chemosphere.* **60**(10), 1408-1415.
- Codina J., Perez Garcia A., Romero P. and de Vicente A. (1993). A comparison of microbial bioassays for the detection of metal toxicity. *Arch Environ Contam Toxicol.* **25**(2), 250-254.
- Cokgor E., Alaton I., Karahan O., Dogruel S. and Orhon D. (2004). Biological treatability of raw and ozonated penicillin formulation effluent. *J Hazard Mater.* **116**(1-2), 159-166.
- Comninellis C., Kapalka A., Malato S., Parsons S. A., Poullos L. and Mantzavinos D. (2008). Advanced oxidation processes for water treatment: advances and trends for R&D. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology.* **83**(6), 769-776.

- Contreras E. M., Albertario M. E., Bertola N. C. and Zaritzky N. E. (2008). Modelling phenol biodegradation by activated sludges evaluated through respirometric techniques. *J Hazard Mater.* **158**(2-3), 366-74.
- Correia P. F. M. M. and de Carvalho J. M. R. (2003). Recovery of phenol from phenolic resin plant effluents by emulsion liquid membranes. *J Membr Sci.* **225**(1-2), 41-49.
- Crane M., Watts C. and Boucard T. (2006). Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals. *Sci Total Environ.* **367**(1), 23-41.
- Crini G. (2006). Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. *Bioresour Technol.* **97**(9), 1061-1085.
- Crini G. and Badot P. M. (2008). Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. *Progress in Polymer Science.* **33**(4).
- Cronin M., Dearden J. and Dobbs A. (1991). QSAR studies of comparative toxicity in aquatic organisms. *Sci Total Environ.* **109**, 431-439.
- Cullington J. E. and Walker A. (1999). Rapid biodegradation of diuron and other phenylurea herbicides by a soil bacterium. *Soil Biology & Biochemistry.* **31**(5), 677-686.
- Dabrowski A., Podkoscielny P., Hubicki Z. and Barczak M. (2005). Adsorption of phenolic compounds by activated carbon- a critical review. *Chemosphere.* **58**(8), 1049-1070.
- Dalrymple O., Yeh D. and Trotz M. (2007). Removing pharmaceuticals and endocrine-disrupting compounds from wastewater by photocatalysis. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology.* **82**(2), 121-134.
- Dalzell D. J. B., Alte S., Aspichueta E., de la Sota A., Etxebarria J., Gutierrez M., Hoffmann C. C., Sales D., Obst U. and Christofi N. (2002a). A comparison of five rapid direct toxicity assessment methods to determine toxicity of pollutants to activated sludge. *Chemosphere.* **47**(5), 535-545.
- Dalzell D. J. B. and Christofi N. (2002b). An ATP luminescence method for direct toxicity assessment of pollutants impacting on the activated sewage sludge process. *Water Res.* **36**(6), 1493-1502.
- Dantas R. F., Contreras S., Sans C. and Esplugas S. (2008). Sulfamethoxazole abatement by means of ozonation. *J Hazard Mater.* **150**(3), 790-794.
- De Laat J., Gallard H., Ancelin S. and Legube B. (1999). Comparative study of the oxidation of atrazine and acetone by H₂O₂/UV, Fe(III)/UV, Fe(III)/H₂O₂/UV and Fe(II) or Fe(III)/H₂O₂. *Chemosphere.* **39**(15), 2693-2706.

- Deborde M., Rabouan S., Duguet J. and Legube B. (2005). Kinetics of aqueous ozone-induced oxidation of some endocrine disruptors. *Environ Sci Technol.* **39**(16), 6086-6092.
- Decisión nº 2455/2001/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de noviembre de 2001, por la que se aprueba la lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas, y por la que se modifica la Directiva 2000/60/CE.
- del Castillo I., Hernandez P., Lafuente A., Rodriguez-Llorente I. D., Caviedes M. A. and Pajuelo E. (2012). Self-bioremediation of cork-processing wastewaters by (chloro)phenol-degrading bacteria immobilised onto residual cork particles. *Water Res.* **46**(6), 1723-1734.
- DeLorenzo M., Scott G. and Ross P. (2001). Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **20**(1), 84-98.
- Diaz E., Mohedano A. F., Calvo L., Gilarranz M. A., Casas J. A. and Rodriguez J. J. (2007). Hydrogenation of phenol in aqueous phase with palladium on activated carbon catalysts. *Chem Eng J.* **131**(1-3), 65-71.
- Diaz E., Casas J. A., Mohedano A. F., Calvo L., Gilarranz M. A. and Rodriguez J. J. (2008). Kinetics of the hydrodechlorination of 4-chlorophenol in water using Pd, Pt, and Rh. *Ind Eng Chem Res.* **47**(11), 3840-3846.
- Diaz E., Casas J. A., Mohedano A. F., Calvo L., Gilarranz M. A. and Rodriguez J. J. (2009). Kinetics of 4-chlorophenol hydrodechlorination with alumina and activated carbon-supported Pd and Rh catalysts. *Ind Eng Chem Res.* **48**(7), 3351-3358.
- Diaz E., Mohedano A. F., Casas J. A., Calvo L., Gilarranz M. A. and Rodriguez J. J. (2011). Comparison of activated carbon-supported Pd and Rh catalysts for aqueous-phase hydrodechlorination. *Applied Catalysis B-Environmental.* **106**(3-4), 469-475.
- Dios M. (2008). Estudio y desarrollo de técnicas respirométricas para el control de la estabilidad del compost. PhD Thesis. Universidad de Cordoba. España.
- Dircks K., Pind P., Mosbaek H. and Henze M. (1999). Yield determination by respirometry- The possible influence of storage under aerobic conditions in activated sludge. *Water Sa.* **25**(1), 69-74.
- Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000, por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. .
- Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas, por la que se modifican y derogan ulteriormente las Directivas

- 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE y 86/280/CEE del Consejo, y por la que se modifica la Directiva 2000/60/CE.
- Directiva 91/271/CEE del Consejo, de 21 de mayo de 1991, relativa al tratamiento de las aguas residuales urbanas.
- Directiva 96/61/CE del Consejo, de 24 de septiembre de 1996, relativa a la prevención y al control integrados de la contaminación.
- Doherty F., Qureshi A. and Razza J. (1999). Comparison of the *Ceriodaphnia dubia* and Microtox® inhibition tests for toxicity assessment of industrial and municipal wastewaters. *Environ Toxicol.* **14**(4), 375-382.
- Doll T. and Frimmel F. (2003). Fate of pharmaceuticals-photodegradation by simulated solar UV-light. *Chemosphere.* **52**(10), 1757-1769.
- Drzewicz P., Nalecz-Jawecki G., Gryz M., Sawicki J., Bojanowska-Czajka A., Gluszewski W., Kulisa K., Wolkowicz S. and Trojanowicz M. (2004). Monitoring of toxicity during degradation of selected pesticides using ionizing radiation. *Chemosphere.* **57**(2), 135-145.
- Edalatmanesh M., Mehrvar M. and Dhib R. (2008). Optimization of phenol degradation in a combined photochemical-biological wastewater treatment system. *Chemical Engineering Research & Design.* **86**(11A), 1243-1252.
- Eisenberg G. M. (1943). Colorimetric determination of hydrogen peroxide. *Industrial and Engineering Chemistry-Analytical Edition.* **15**, 327-328.
- Elmolla E. and Chaudhuri M. (2012). The feasibility of using combined Fenton-SBR for antibiotic wastewater treatment. *Desalination.* **285**, 14-21.
- Environmental Agency. (2009). Pesticides report. Available on: <http://www.environment-agency.gov.uk/research/library/data/34397.aspx>.
- Esplugas S., Gimenez J., Contreras S., Pascual E. and Rodriguez M. (2002). Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation. *Water Res.* **36**(4), 1034-1042.
- Fallmann H., Krutzler T., Bauer R., Malato S. and Blanco J. (1999). Applicability of the Photo-Fenton method for treating water containing pesticides. *Catalysis Today.* **54**(2-3), 309-319.
- Farre M. J., Franch M. I., Malato S., Ayllon J. A., Peral J. and Domenech X. (2005). Degradation of some biorecalcitrant pesticides by homogeneous and heterogeneous photocatalytic ozonation. *Chemosphere.* **58**(8), 1127-1133.
- Farre M. J., Domenech X. and Peral J. (2006). Assessment of photo-Fenton and biological treatment coupling for diuron and linuron removal from water. *Water Res.* **40**(13), 2533-2540.

- Farre M. J., Brosillon S., Domenech X. and Peral J. (2007a). Evaluation of the intermediates generated during the degradation of diuron and linuron herbicides by the photo-Fenton reaction. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry*. **189**(2-3), 364-373.
- Farre M. J., Franch M., Ayllon J., Peral J. and Domenech X. (2007b). Biodegradability of treated aqueous solutions of biorecalcitrant pesticides by means of photocatalytic ozonation. *Desalination*. **211**(1-3), 22-33.
- Farre M. J., Maldonado M. I., Gernjak W., Oller I., Malato S., Domenech X. and Peral J. (2008). Coupled solar photo-Fenton and biological treatment for the degradation of diuron and linuron herbicides at pilot scale. *Chemosphere*. **72**(4), 622-629.
- Feakin S. J., Blackburn E. and Burns R. G. (1995a). Inoculation of granular activated carbon in a fixed-bed with s-triazine-degrading bacteria as a water-treatment process. *Water Res.* **29**(3), 819-825.
- Feakin S. J., Gubbins B., Mcghee I., Shaw L. J. and Burns R. G. (1995b). Inoculation of granular activated carbon with s-triazine-degrading bacteria for water-treatment at pilot-scale. *Water Res.* **29**(7), 1681-1688.
- Felis V., De Bellefon C., Fouilloux P. and Schweich D. (1999). Hydrodechlorination and hydrodearomatisation of monoaromatic chlorophenols into cyclohexanol on Ru/C catalysts applied to water depollution: influence of the basic solvent and kinetics of the reactions. *Applied Catalysis B-Environmental*. **20**(2), 91-100.
- Fernandez-Alba A. R., Guil M. D. H., Lopez G. D. and Chisti Y. (2002). Comparative evaluation of the effects of pesticides in acute toxicity luminescence bioassays. *Anal Chim Acta*. **451**(2), 195-202.
- Field J. and Lettinga G. (1991). Treatment and detoxification of aqueous spruce bark extracts by *Aspergillus niger*. *Water Science and Technology*. **24**(3-4), 127-137.
- Fiuza A. M. A. and Vila M. C. C. (2005). An insight into soil bioremediation through respirometry. *Environ Int.* **31**(2), 179-183.
- Fletcher G. W., Thomas S. H. and Cross D. (1972). Development and operation of a closed wastewater system for the fibre glass industry. In: 45th Annual Water Pollution Control Meeting.
- Gagne F., Blaise C. and Andre C. (2006). Occurrence of pharmaceutical products in a municipal effluent and toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Ecotoxicol Environ Saf.* **64**(3), 329-336.
- Garcia E. (1999). Tratamiento biológico de residuos peligrosos. In: Los residuos peligrosos. Caracterización, tratamiento y gestión. J. Rodriguez, A. Irabien (eds.), 1ª eds, Editorial Síntesis S.A., Madrid, 143-168.

- Garcia-Molina V., Kallas J. and Esplugas S. (2007). Wet oxidation of 4-chlorophenol- Kinetic study. *Chem Eng J.* **126**(1), 59-65.
- Gaudy A., Lowe W., Rozixh A. and Colvin R. (1988). Practical methodology for predicting critical operating range of biological systems treating inhibitory substrates. *Journal Water Pollution Control Federation.* **60**(1), 77-85.
- Gaudy A., Ekambaram A. and Rozich A. (1989). A respirometric method for biokinetic characterization of toxic wastes. In: Proceedings 43rd Purdue Industrial Waste Conference, Lewis Publishers Inc., Chelsea, Michigan, 35-44.
- Gendig C., Domogala G., Agnoli F., Pagga U. and Strotmann U. (2003). Evaluation and further development of the activated sludge respiration inhibition test. *Chemosphere.* **52**(1), 143-149.
- Ghaly M., Hartel G., Mayer R. and Haseneder R. (2001). Photochemical oxidation of p-chlorophenol by UV/H₂O₂ and photo-Fenton process. A comparative study. *Waste Manage.* **21**(1), 41-47.
- Ghatbandhe A. S. and Yenkie M. K. N. (2008). 2, 4 dichlorophenol (2, 4-DCP) sorption from aqueous solution using granular activated carbon and polymeric adsorbents and studies on effect of temperature on activated carbon adsorption. *Journal of environmental science engineering.* **50**, 163-168.
- Ghyoot W. and Verstraete W. (2000). Reduced sludge production in a two-stage membrane-assisted bioreactor. *Water Res.* **34**(1), 205-215.
- Giesy J. and Hoke R. (1989). Fresh-water sediment toxicity bioassessment- Rationale for species selection and test design. *J Great Lakes Res.* **15**(4), 539-569.
- Goebel A., McArdell C. S., Joss A., Siegrist H. and Giger W. (2007). Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. *Sci Total Environ.* **372**(2-3), 361-371.
- Goel M., Chovelon J. M., Ferronato C., Bayard R. and Sreekrishnan T. R. (2010). The remediation of wastewater containing 4-chlorophenol using integrated photocatalytic and biological treatment. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology.* **98**(1), 1-6.
- Gogate P. (2002). Cavitation: an auxiliary technique in wastewater treatment schemes. *Adv Environ Res.* **6**(3), 335-358.
- Gogate P. and Pandit A. (2004a). A review of imperative technologies for wastewater treatment I: Oxidation technologies at ambient conditions. *Adv Environ Res.* **8**(3-4), 501-551.
- Gogate P. and Pandit A. (2004b). A review of imperative technologies for wastewater treatment II: Hybrid methods. *Adv Environ Res.* **8**(3-4), 553-597.

- Goi D., Di Giorgio G., Cimarosti I., Mion M. and Dolcetti G. (2006). An approach to the simulation of a batch-respirometer. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*. **20**(2), 197-202.
- Gomez M. J., Bueno M. J. M., Lacorte S., Fernandez-Alba A. R. and Aguera A. (2007). Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast. *Chemosphere*. **66**(6), 993-1002.
- Gonzalez S., Mueller J., Petrovic M., Barcelo D. and Knepper T. P. (2006). Biodegradation studies of selected priority acidic pesticides and diclofenac in different bioreactors. *Environ Pollut*. **144**(3), 926-932.
- Goudar C., Ganji S., Pujar B. and Strevett K. (2000). Substrate inhibition kinetics of phenol biodegradation. *Water Environ Res*. **72**(1), 50-55.
- Grady C. P. L. J., Daigger G. T. and Lim H. C. (1999). Biological wastewater treatment. CRC Press.
- Grimwood M. and Mascarenhas R. (1997). Proposed environmental quality standards for 2-, 3- and 4-chlorophenol and 2,4-dichlorophenol in water, Environment Agency Technical Report P46/i688, WRc Report No. EA4215.
- Guisasola A., Baeza J. A., Carrera J., Casas C. and Lafuente J. (2003). An off-line respirometric procedure to determine inhibition and toxicity of biodegradable compounds in biomass from an industrial WWTP. *Water Science and Technology*. **48**(11-12), 267-275.
- Gunnarsson L., Adolfsson-Erici M., Bjorlenius B., Rutgersson C., Forlin L. and Larsson D. G. J. (2009). Comparison of six different sewage treatment processes-Reduction of estrogenic substances and effects on gene expression in exposed male fish. *Sci Total Environ*. **407**(19), 5235-5242.
- Gupta V. K. and Suhas. (2009). Application of low-cost adsorbents for dye removal- A review. *J Environ Manage*. **90**(8), 2313-2342.
- Gutierrez M., Etxebarria J. and de las Fuentes L. (2002). Evaluation of wastewater toxicity: comparative study between Microtox® and activated sludge oxygen uptake inhibition. *Water Res*. **36**(4), 919-924.
- Haderlein S. B., Weissmahr K. W. and Schwarzenbach R. P. (1996). Specific adsorption of nitroaromatic: Explosives and pesticides to clay minerals. *Environ Sci Technol*. **30**(2).
- Halling-Sorensen B., Nielsen S., Lanzky P., Ingerslev F., Lutzhoft H. and Jorgensen S. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere*. **36**(2), 357-394.

- Hallmann E., Tomczak-Wandzel R. and Medrzycka K. (2012). Combined chemical-biological treatment of effluents from soil remediation processes by surfactants solutions flushing. *Ecol Chem Eng S-*. **19**(1), 9-18.
- Hameed B. H., Chin L. H. and Rengaraj S. (2008). Adsorption of 4-chlorophenol onto activated carbon prepared from rattan sawdust. *Desalination*. **225**(1-3), 185-198.
- Hapeman C. J., Shelton D. R., Peyton G. R., Bell O. J. and LeFaivre M.H. (1994). Oxidation and microbial mineralization to remediate pesticide contaminated waters-overcoming the technical challenges. In: First International Conference on Advanced Oxidation Technologies for Water and Air Remediation, London, Ontario.
- Hayward K. (1998). Drinking water contaminant hit-list for USEPA. *Water*. **21**(4).
- Heberer T. (2002). Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *Journal of Hydrology*. **266**(3-4), 175-189.
- Hernandez-Sancho F., Molinos-Senante M. and Sala-Garrido R. (2010). Estudio de viabilidad económica para el tratamiento de aguas residuales a traves de un analisis coste beneficio. *Revista Electrónica de Comunicaciones y Trabajos de ASEPUMA*. **11**, 1-25.
- Hernando M., Fernandez-Alba A., Tauler R. and Barcelo D. (2005). Toxicity assays applied to wastewater treatment. *Talanta*. **65**(2), 358-366.
- Hess T. F., Schmidt S. K., Silverstein J. and Howe B. (1990). Supplemental substrate enhancement of 2,4-dinitrophenol mineralization by a bacterial consortium. *Appl Environ Microbiol*. **56**(6), 1551-1558.
- Hoar S., Blair A., Holmes F., Boysen C., Robel R., Hoover R. and Fraumeni J. (1986). Agricultural herbicide use and risk of lymphoma and soft-tissue sarcoma. *Jama-Journal of the American Medical Association*. **256**(9), 1141-1147.
- Hoke J., Gramiccioni G. and Balko E. (1992). Catalytic hydrodechlorination of chlorophenols. *Applied Catalysis B-Environmental*. **1**(4), 285-296.
- Hood R., Patterson B., Thacker G., Sloan G. and Szczech G. (1979). Prenatal effects of 2,4,5-T, 2,4,5-trichlorophenol, and phenoxyacetic acid in mice. *Journal of Environmental Science and Health Part C-Environmental Health Sciences*. **13**(3), 189-204.
- Horvath R. S. (1972). Microbial co-metabolism and degradation of organic compounds in nature. *Bacteriol Rev*. **36**(2), 146-155.
- Hu H. Y., Nozawa M., Fujie K., Makabe T. and Urano K. (1998). Analysis of microbial acclimation to refractory chemicals in wastewater using respiratory quinone profiles. *Water Science and Technology*. **37**(4-5), 407-411.

- Hu J. Y., Aizawa T. and Magara Y. (1999). Analysis of pesticides in water with liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Water Res.* **33**(2), 417-425.
- Hu Z., Ferraina R., Ericson J., MacKay A. and Smets B. (2005). Biomass characteristics in three sequencing batch reactors treating a wastewater containing synthetic organic chemicals. *Water Res.* **39**(4), 710-720.
- Hutter H., Wallner P., Moshhammer H., Hartl W., Sattelberger R., Lorbeer G. and Kundi M. (2005). Blood concentrations of polycyclic musks in healthy young adults. *Chemosphere.* **59**(4), 487-492.
- Ide T. (1967). Investigation on phenolic wastes treatment in an oxidation ditch. In: *Advances in water pollution research. Munich Conference, Vol. 2.* Pergamon Press Publishers, Elmsford, New York, 285-295.
- Iniesta J., Michaud P., Panizza M., Cerisola G., Aldaz A. and Comninellis C. (2001). Electrochemical oxidation of phenol at boron-doped diamond electrode. *Electrochim Acta.* **46**(23), 3573-3578.
- ISO 10712. (1995). Water Quality: *Pseudomonas putida* growth inhibition test (Pseudomonas cell multiplication inhibition test). *International Standardization Organization, Geneva.*
- ISO 11348-3. (1998). Water Quality: Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test)-Part 3: Method using freeze-dried bacteria. *International Standardization Organization, Geneva.*
- ISO 15522. (1995). Water Quality: Determination of the inhibitory effect of the water constituents on the growth of activated sludge micro-organism. *International Standardization Organization, Geneva.*
- ISO 6341. (1996). Water quality: Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna Strauss* (Cladocera, Crustacea). *International Standardization Organization, Geneva.*
- ISO 8192. (1986). Water Quality: Test for inhibition of oxygen consumption by activated sludge. *International Standardization Organization, Geneva.*
- ISO 8692. (1989). Water quality: Freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae. *International Standardization Organization, Geneva.*
- Iwaki H., Hasegawa Y., Teraoka M., Tokuyama T., Bernard L. and Lau P. C. K. (2003). Cyclohexanol biodegradation genes: A pathway of opportunities. *Biocatalysis in Polymer Science.* **840**, 80-92.

- Jeffrey P., Seaton R., Stephenson T. and Parsons S. (1998). Infrastructure configurations for wastewater treatment and reuse: A simulation based study of membrane bioreactors. *Water Science and Technology*. **38**(11), 105-111.
- Jennings V. L. K., Rayner-Brandes M. H. and Bird D. J. (2001). Assessing chemical toxicity with the bioluminescent photobacterium (*Vibrio fischeri*): A comparison of three commercial systems. *Water Res.* **35**(14), 3448-3456.
- Jett D. A. (2011). Neurotoxic pesticides and neurologic effects. *Neurol Clin.* **29**(3), 667-677.
- Jiang Y., Petrier C. and Waite T. (2006). Sonolysis of 4-chlorophenol in aqueous solution: Effects of substrate concentration, aqueous temperature and ultrasonic frequency. *Ultrason Sonochem.* **13**(5), 415-422.
- Joglekar H. S., Samant S. D. and Joshi J. B. (1991). Kinetics of wet air oxidation of phenol and substituted phenols. *Water Res.* **25**(2), 135-145.
- Jones C. W. (1999). Applications of Hydrogen Peroxide and Derivates. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- Jones K. D. and Huang W. H. (2003). Evaluation of toxicity of the pesticides, chlorpyrifos and arsenic, in the presence of compost humic substances in aqueous systems. *J Hazard Mater.* **103**(1-2), 93-105.
- Jordan W., van Barneveld H., Gerlich O., Kleine-Boymann M. and Ullrich J. (2002). Phenol. In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH Verlag.
- Jubany I., Baeza J. A., Carrera J. and Lafuente J. (2005). Respirometric calibration and validation of a biological nitrite oxidation model including biomass growth and substrate inhibition. *Water Res.* **39**(18), 4574-4584.
- Jubany I., Carrera J., Lafuente J. and Baeza J. A. (2008). Start-up of a nitrification system with automatic control to treat highly concentrated ammonium wastewater: Experimental results and modeling. *Chem Eng J.* **144**(3), 407-419.
- Kahru A., Tomson K., Pall T. and Kulm I. (1996). Study of toxicity of pesticides using luminescent bacteria *Photobacterium phosphoreum*. *Water Science and Technology*. **33**(6), 147-154.
- Kaiser K. (1988). *Photobacterium phosphoreum* toxicity bioassay .2. Toxicity Data Compilation. *Toxicity Assessment*. **3**(2), 195-237.
- Kaiser K. and Palabrica V. (1991). *Photobacterium phosphoreum* toxicity data index. *Water Pollution Research Journal of Canada*. **26**, 361-364.
- Kang N., Lee D. S. and Yoon J. (2002). Kinetic modeling of Fenton oxidation of phenol and monochlorophenols. *Chemosphere*. **47**(9), 915-924.

- Kappeler J. and Gujer W. (1992). Estimation of kinetic-parameters of heterotrophic biomass under aerobic conditions and characterization of waste-water for activated-sludge modeling. *Water Science and Technology*. **25**(6), 125-139.
- Kassinou D., Varnava N., Michael C. and Piera P. (2009). Homogeneous oxidation of aqueous solutions of atrazine and fenitrothion through dark and photo-Fenton reactions. *Chemosphere*. **74**(6), 866-872.
- Kastanek F., Maletkova Y. and Kastanek P. (2007). Combination of advanced oxidation and/or reductive dehalogenation and biodegradation for the decontamination of waters contaminated with chlorinated organic compounds. *Sep Sci Technol*. **42**(7), 1613-1625.
- Katsumata H., Kaneko S., Suzuki T., Ohta K. and Yobiko Y. (2006). Photo-Fenton degradation of alachlor in the presence of citrate solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry*. **180**(1-2), 38-45.
- Kaur S. and Singh V. (2007). TiO₂ mediated photocatalytic degradation studies of Reactive Red 198 by UV irradiation. *J Hazard Mater*. **141**(1), 230-236.
- Keane M. (2005). A review of catalytic approaches to waste minimization: case study- liquid-phase catalytic treatment of chlorophenols. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. **80**(11), 1211-1222.
- Keith L. and Telliard W. (1979). Priority pollutants I- A perspective view. *Environ Sci Technol*. **13**(4), 416-423.
- Khare U. K., Bose P. and Vankar P. S. (2007). Impact of ozonation on subsequent treatment of azo dye solutions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. **82**(11), 1012-1022.
- Khetan S. K. and Collins T. J. (2007). Human pharmaceuticals in the aquatic environment: A challenge to green chemistry. *Chem Rev*. **107**(6), 2319-2364.
- Kidak R. and Ince N. H. (2007). Catalysis of advanced oxidation reactions by ultrasound: A case study with phenol. *J Hazard Mater*. **146**(3), 630-635.
- Kim J., Oh K., Lee S., Kim S. and Hong S. (2002). Biodegradation of phenol and chlorophenols with defined mixed culture in shake-flasks and a packed bed reactor. *Process Biochemistry*. **37**(12), 1367-1373.
- Kim S., Cho J., Kim I., Vanderford B. and Snyder S. (2007). Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. *Water Res*. **41**(5), 1013-1021.
- Kitsiou V., Filippidis N., Mantzavinos D. and Poulios I. (2009). Heterogeneous and homogeneous photocatalytic degradation of the insecticide imidacloprid in aqueous solutions. *Applied Catalysis B-Environmental*. **86**(1-2), 27-35.

- Kiwi J., Pulgarin C., Peringer P. and Graztel M. (1993). Beneficial-effects of homogeneous photo-fenton pretreatment upon the biodegradation of anthraquinone sulfonate in waste-water treatment. *Applied Catalysis B-Environmental*. **3**(1), 85-99.
- Klavarioti M., Mantzavinos D. and Kassinos D. (2009). Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environ Int*. **35**(2), 402-417.
- Klimiuk E. and Kulikowska D. (2006). Organics removal from landfill leachate and activated sludge production in SBR reactors. *Waste Manage*. **26**(10).
- Koboyashi H. and Rittman B. F. (1982). Microbial removal of hazardous organic compounds. *Environmental Science and Technology*. **16**, 170-183.
- Kolpin D. W., Thurman E. M. and Linhart S. M. (2000). Finding minimal herbicide concentrations in ground water? Try looking for their degradates. *Sci Total Environ*. **248**(2-3), 115-122.
- Kolpin D. W., Furlong E., Meyer M., Thurman E. M., Zaugg S., Barber L. and Buxton H. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance. *Environ Sci Technol*. **36**(6), 1202-1211.
- Korbahti B. and Tanyolac A. (2009). Electrochemical treatment of simulated industrial paint wastewater in a continuous tubular reactor. *Chem Eng J*. **148**(2-3), 444-451.
- Kotturi G., Robinson C. and Inniss W. (1991). Phenol degradation by a psychrotrophic strain of *Pseudomonas putida*. *Appl Microbiol Biotechnol*. **34**(4), 539-543.
- Kuba T., Smolders G., Vanloosdrecht M. and Heijnen J. (1993). Biological phosphorus removal from waste-water by anaerobic-anoxic sequencing batch reactor. *Water Science and Technology*. **27**(5-6), 241-252.
- Kulkarni M. and Chaudhari A. (2006). Biodegradation of p-nitrophenol by *P. putida*. *Bioresour Technol*. **97**(8), 982-988.
- Kumar A., Kumar S. and Kumar S. (2005). Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonas putida* MTCC 1194. *Biochem Eng J*. **22**(2), 151-159.
- Kumaran P., Paruchuri Y. L. (1997). Kinetics of phenol biotransformation. *Water Res*. **31**(1), 11-22.
- Kusic H., Koprivanac N., Horvat S., Bakija S. and Bozic A. L. (2009). Modeling dye degradation kinetic using dark- and photo-Fenton type processes. *Chem Eng J*. **155**(1-2), 144-154.

- Laera G., Jin B. and Lopez A. (2011). Application of sequencing batch membrane bioreactors (SB-MBR) for the treatment of municipal wastewater. *Water Sci Technol.* **64**(2), 391-396.
- Lapertot M. and Pulgarin C. (2006a). Biodegradability assessment of several priority hazardous substances: Choice, application and relevance regarding toxicity and bacterial activity. *Chemosphere.* **65**(4), 682-690.
- Lapertot M., Pulgarin C., Fernandez-Ibanez P., Maldonado M. I., Perez-Estrada L., Oller I., Gernjak W. and Malato S. (2006b). Enhancing biodegradability of priority substances (pesticides) by solar photo-Fenton. *Water Res.* **40**(5), 1086-1094.
- Lapertot M., Ebrahimi S., Dazio S., Rubinelli A. and Pulgarin C. (2007). Photo-Fenton and biological integrated process for degradation of a mixture of pesticides. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry.* **186**(1), 34-40.
- Lapertot M., Ebrahimi S., Oller I., Maldonado M. I., Gernjak W., Malato S. and Pulgarin C. (2008). Evaluating Microtox® as a tool for biodegradability assessment of partially treated solutions of pesticides using Fe³⁺ and TiO₂ solar photo-assisted processes. *Ecotoxicol Environ Saf.* **69**(3), 546-555.
- LeBlanc M. A. (1998). Control of filamentous bulking and oxygen transfer in a pulp and paper sequential batch reactor (SBR). In: Proc. Int. Environ. Conf. Exhibit, TAPPI Press, Vancouver.
- Lee D. S., Jeon C. O. and Park J. M. (2001). Biological nitrogen removal with enhanced phosphate uptake in a sequencing batch reactor using single sludge system. *Water Res.* **35**(16).
- Lee L. Y., Hu J. Y., Ong S. L., Ng W. J., Ren J. H. and Wong S. H. (2004). Two-stage SBR for treatment of oil refinery wastewater. *Water Science and Technology.* **50**(10).
- Legrini O., Oliveros E. and Braun A. (1993). Photochemical processes for water-treatment. *Chem Rev.* **93**(2), 671-698.
- Lendenmann U., Snozzi M. and Egli T. (1996). Kinetics of the simultaneous utilization of sugar mixtures by *Escherichia coli* in continuous culture. *Appl Environ Microbiol.* **62**(5), 1493-1499.
- Lepik R. and Tenno T. (2011). Biodegradability of phenol, resorcinol and 5-methylresorcinol as single and mixed substrates by activated sludge. *Oil Shale.* **28**(3).
- Levec J. and Pintar A. (2007). Catalytic wet-air oxidation processes: A review. *Catalysis Today.* **124**(3-4), 172-184.

- Ley 10/1993 de 26 de octubre, sobre vertidos líquidos industriales al sistema integral de saneamiento de la Comunidad de Madrid. BOCM nº269 de 12/11/1993.
- Ley 16/2002 de 1 de julio, de Prevención y control integrados de la contaminación. BOE nº157 de 2 de julio de 2002.
- Leyva-Ramos R., Diaz-Flores P. E., Leyva-Ramos J. and Femat-Flores R. A. (2007). Kinetic modeling of pentachlorophenol adsorption from aqueous solution on activated carbon fibers. *Carbon*. **45**(11), 2280-2289.
- Li Z., Dong L., Shi H. and Wang D. (2004). Oxidation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by Fenton reagent. *Lixueban*. **31**(4), 442-445.
- Liess M. and von der Ohe P. (2005). Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **24**(4), 954-965.
- Liu D., Thomson K. and Kaiser K. (1982). Quantitative structure-toxicity relationship of halogenated phenols on bacteria. *Bull Environ Contam Toxicol*. **29**(2), 130-136.
- Livingston A. G. and Chase H. A. (1989). Modeling phenol degradation in a Fluidized-Bed Bioreactor. *AIChE J*. **35**(12).
- Lu M. C. and Chen J. N. (1997). Pretreatment of pesticide wastewater by photocatalytic oxidation. *Water Science and Technology*. **36**(2-3), 117-122.
- Lynge E. (1985). A follow-up-study of cancer incidence among workers in manufacture of phenoxy herbicides in Denmark. *Br J Cancer*. **52**(2), 259-270.
- Mace S. and Mata-Alvarez J. (2002). Utilization of SBR technology for wastewater treatment: An overview. *Ind Eng Chem Res*. **41**(23), 5539-5553.
- Mahadewswamy M., Mall I. D., Prasad B. and Mishra I. M. (1997). Removal of phenol by adsorption of coal fly ash and activated carbon. *Pollution Research*. **16**(3), 170-175.
- Malato S., Blanco J., Richter C., Milow B. and Maldonado M. (1999). Pre-industrial experience in solar photocatalytic mineralization of real wastewaters. Application to pesticide container recycling. *Water Science and Technology*. **40**(4-5), 123-130.
- Malato S., Blanco J., Estrada C. A. and Bandala E. R. (2001). Degradación de plaguicidas In: Eliminación de contaminantes por fotocatalisis heterogenea, M.A. Blesa (ed.), Digital Grafic, La Plata, Argentina, 269-281.
- Malato S., Caceres J., Fernandez-Alba A. R., Piedra L., Hernando M. D., Aguera A. and Vial J. (2003). Photocatalytic treatment of diuron by solar photocatalysis:

- Evaluation of main intermediates and toxicity. *Environ Sci Technol.* **37**(11), 2516-2524.
- Mangat S. S. and Elefsiniotis P. (1999). Biodegradation of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in sequencing batch reactors. *Water Res.* **33**(3), 861-867.
- Manilal V., Haridas A., Alexander R. and Surender G. (1992). Photocatalytic treatment of toxic organics in wastewater- Toxicity of photodegradation products. *Water Res.* **26**(8), 1035-1038.
- Mantzavinos D., Sahibzada M., Livingston A., Metcalfe I. and Hellgardt K. (1999). Wastewater treatment: wet air oxidation as a precursor to biological treatment. *Catalysis Today.* **53**(1), 93-106.
- Mantzavinos D. and Psillakis E. (2004). Enhancement of biodegradability of industrial wastewaters by chemical oxidation pre-treatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology.* **79**(5), 431-454.
- Marrot B., Barrios-Martinez A., Moulin P. and Roche N. (2006). Biodegradation of high phenol concentration by activated sludge in an immersed membrane bioreactor. *Biochem Eng J.* **30**(2), 174-183.
- Marrot B., Barrios-Martinez A., Moulin P. and Roche N. (2008). Biodegradation of high phenol concentration in a membrane bioreactor. *Int J Chem React Eng.* **6**, A8, 1-12.
- Martin R., Navalon S., Alvaro M. and Garcia H. (2011). Optimized water treatment by combining catalytic Fenton reaction using diamond supported gold and biological degradation. *Applied Catalysis B-Environmental.* **103**(1-2), 246-252.
- Martin-Hernandez M., Carrera J., Perez J. and Suarez-Ojeda M. E. (2009). Enrichment of a K-strategist microbial population able to biodegrade p-nitrophenol in a sequencing batch reactor. *Water Res.* **43**(15), 3871-3883.
- Martin-Hernandez M., Carrera J., Eugenia Suarez-Ojeda M., Besson M. and Descorme C. (2012). Catalytic wet air oxidation of a high strength p-nitrophenol wastewater over Ru and Pt catalysts: Influence of the reaction conditions on biodegradability enhancement. *Applied Catalysis B-Environmental.* **123**, 141-150.
- Martins R. C., Rossi A. F. and Quinta-Ferreira R. M. (2010). Fenton's oxidation process for phenolic wastewater remediation and biodegradability enhancement. *J Hazard Mater.* **180**(1-3), 716-721.
- Marttinen S., Kettunen R., Sormunen K., Soimasuo R. and Rintala J. (2002). Screening of physical-chemical methods for removal of organic material, nitrogen and toxicity from low strength landfill leachates. *Chemosphere.* **46**(6), 851-858.

- Matilainen A. and Sillanpaa M. (2010). Removal of natural organic matter from drinking water by advanced oxidation processes. *Chemosphere*. **80**(4), 351-365.
- Maurer M., Escher B. I., Richle P., Schaffner C. and Alder A. C. (2007). Elimination of beta-blockers in sewage treatment plants. *Water Res.* **41**(7), 1614-1622.
- Mayer P., Wernsing J., Tolls J., de Maagd P. and Sijm D. (1999). Establishing and controlling dissolved concentrations of hydrophobic organics by partitioning from a solid phase. *Environ Sci Technol.* **33**(13), 2284-2290.
- McNicholl B. P., McGrath J. W. and Quinn J. P. (2007). Development and application of a resazurin-based biomass activity test for activated sludge plant management. *Water Res.* **41**(1), 127-133.
- Meric S., Eremektar G., Ciner F. and Tunay O. (2003). An OUR-based approach to determine the toxic effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in activated sludge. *J Hazard Mater.* **101**(2), 147-155.
- Mert B. K., Yonar T., Kilic M. Y. and Kestioglu K. (2010). Pre-treatment studies on olive oil mill effluent using physicochemical, Fenton and Fenton-like oxidations processes. *J Hazard Mater.* **174**(1-3), 122-128.
- Mijangos F., Varona F. and Villota N. (2006). Changes in solution color during phenol oxidation by Fenton reagent. *Environ Sci Technol.* **40**(17), 5538-5543.
- Mishra V., Mahajani V. and Joshi J. (1995). Wet Air Oxidation. *Ind Eng Chem Res.* **34**(1), 2-48.
- Mohan D. and Singh K. P. (2002). Single- and multi-component adsorption of cadmium and zinc using activated carbon derived from bagasse - an agricultural waste. *Water Res.* **36**(9), PII S0043-1354(01)00447-X.
- Molina C. B., Calvo L., Gilarranz M. A., Casas J. A. and Rodriguez J. J. (2009). Hydrodechlorination of 4-chlorophenol in aqueous phase with Pt-Al pillared clays using formic acid as hydrogen source. *Appl Clay Sci.* **45**(4), 206-212.
- Molina C. B., Pizarro A. H., Monsalvo V. M., Polo A. M., Mohedano A. F. and Rodriguez J. J. (2010). Integrated CWPO and biological treatment for the removal of 4-chlorophenol from water. *Sep Sci Technol.* **45**(11), 1595-1602.
- Monsalvo V. M., Mohedano A. F., Casas J. A. and Rodriguez J. J. (2009). Cometabolic biodegradation of 4-chlorophenol by sequencing batch reactors at different temperatures. *Bioresour Technol.* **100**(20), 4572-4578.
- Monsalvo V. M., Mohedano A. F. and Rodriguez J. J. (2012). Adsorption of 4-chlorophenol by inexpensive sewage sludge-based adsorbents. *Chem Eng Res Des.* **90**, 1807-1814.

- Monteiro A. A. M. G., Boaventura R. A. R. and Rodrigues A. E. (2000). Phenol biodegradation by *Pseudomonas putida* DSM 548 in a batch reactor. *Biochem Eng J.* **6**(1), 45-49.
- Moreno G. and Buitron G. (2004). Influence of the origin of the inoculum and the acclimation strategy on the degradation of 4-chlorophenol. *Bioresour Technol.* **94**(2), 215-218.
- Moreno J. and Buitron G. (1998). Respirometry based optimal control of an aerobic bioreactor for the industrial waste water treatment. *Water Science and Technology.* **38**(3), 219-226.
- Moreno-Andrade I. and Buitron G. (2004). Variation of the microbial activity during the acclimation phase of a SBR system degrading 4-chlorophenol. *Water Science and Technology.* **50**(10), 251-258.
- Muller R. H., Jorks S., Kleinstauber S. and Babel W. (1999). *Comamonas acidovorans* strain MC1: a new isolate capable of degrading the chiral herbicides dichlorprop and mecoprop and the herbicides 2,4-D and MCPA. *Microbiol Res.* **154**(3), 241-246.
- Muneer M., Theurich J. and Bahnemann D. (1999). Formation of toxic intermediates upon the photocatalytic degradation of the pesticide diuron. *Research on Chemical Intermediates.* **25**(7), 667-683.
- Munoz I., Rieradevall J., Torrades F., Peral J. and Domenech X. (2005). Environmental assessment of different solar driven advanced oxidation processes. *Solar Energy.* **79**(4), 369-375.
- Munoz I., Rodriguez A., Rosal R. and Fernandez-Alba A. R. (2009). Life Cycle Assessment of urban wastewater reuse with ozonation as tertiary treatment- A focus on toxicity-related impacts. *Sci Total Environ.* **407**(4), 1245-1256.
- Munoz M., de Pedro Z. M., Casas J. A. and Rodriguez J. J. (2011). Assessment of the generation of chlorinated byproducts upon Fenton-like oxidation of chlorophenols at different conditions. *J Hazard Mater.* **190**(1-3), 993-1000.
- Muthukumar M., Sargunamani D., Selvakumar N. and Rao J. (2004). Optimisation of ozone treatment for colour and COD removal of acid dye effluent using central composite design experiment. *Dyes and Pigments.* **63**(2), 127-134.
- Naddeo V., Belgiorno V., Kassinos D., Mantzavinos D. and Meric S. (2010). Ultrasonic degradation, mineralization and detoxification of diclofenac in water: Optimization of operating parameters. *Ultrason Sonochem.* **17**(1), 179-185.
- Nair C. I., Jayachandran K. and Shashidhar S. (2008). Biodegradation of phenol. *African Journal of Biotechnology.* **7**(25), 4951-4958.

- Neri G., Visco A. M., Donato A., Milone C., Malentacchi M. and Gubitosa G. (1994). Hydrogenation of phenol to cyclohexanone over palladium and alkali-doped palladium catalysts. *Applied Catalysis A-General*. **110**(1), 49-59.
- Neumegen R. A., Fernandez-Alba A. R. and Chisti Y. (2005). Toxicities of triclosan, phenol, and copper sulfate in activated sludge. *Environ Toxicol*. **20**(2), 160-164.
- Neyens E. and Baeyens J. (2003). A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *J Hazard Mater*. **98**(1-3), 33-50.
- Nirmalakhandan N., Arulgnanendran V., Mohsin M., Sun B. and Cadena F. (1994). Toxicity of mixtures of organic-chemicals to microorganisms. *Water Res*. **28**(3), 543-551.
- Nitschke L., Wilk A., Schussler W., Metzner G. and Lind G. (1999). Biodegradation in laboratory activated sludge plants and aquatic toxicity of herbicides. *Chemosphere*. **39**(13), 2313-2323.
- Norgaard K. and Cedergreen N. (2010). Pesticide cocktails can interact synergistically on aquatic crustaceans. *Environmental Science and Pollution Research*. **17**(4), 957-967.
- Nuhoglu A. and Yalcin B. (2005). Modelling of phenol removal in a batch reactor. *Process Biochemistry*. **40**(3-4), 1233-1239.
- Oboirien B. O., Amigun B., Ojumu T. V., Ogunkunle O. A., Adetunji O. A., Betiku E. and Solomon B. O. (2005). Substrate inhibition kinetics of phenol degradation by *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescense*. *Biotechnology*. **4**(1), 56-61.
- OECD 203. (1992). Fish, Acute Toxicity Test. *OECD Guidelines for testing chemicals*.
- OECD 208. (1984). Terrestrial Plants: Growth Test. *OECD Guidelines for testing chemicals*.
- OECD 209. (1984). Activated sludge, Respiration inhibition test. *OECD Guidelines for testing chemicals*.
- OECD 301. (1993). Ready Biodegradability. *OECD Guidelines for testing chemicals*.
- OECD 302 B. (1992). Zahn-Wellens\EMPTA Test. *OECD Guidelines for testing chemicals*.
- OECD 303. (1993). A simulation test—aerobic sewage treatment. *OECD guidelines for testing of chemicals*.
- Ohtani B. (2010). Photocatalysis A to Z—What we know and what we do not know in a scientific sense. *Journal of Photochemistry and Photobiology C-Photochemistry Reviews*. **11**(4), 157-178.

- Okaygun M., Green L. and Akgerman A. (1992). Effects of consecutive pulsing of an inhibitory substrate on biodegradation kinetics. *Environ Sci Technol.* **26**(9), 1746-1752.
- Oller I., Malato S., Sanchez-Perez J. A., Maldonado M. I. and Gasso R. (2007). Detoxification of wastewater containing five common pesticides by solar AOPs-biological coupled system. *Catalysis Today.* **129**, 69-78.
- Oller I., Malato S. and Sanchez-Perez J. A. (2011). Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination-A review. *Sci Total Environ.* **409**(20), 4141-4166.
- Ollers S., Singer H., Fassler P. and Muller S. (2001). Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/L level in surface and waste water. *Journal of Chromatography a.* **911**(2), 225-234.
- Onesios K. M., Yu J. T. and Bouwer E. J. (2009). Biodegradation and removal of pharmaceuticals and personal care products in treatment systems: a review. *Biodegradation.* **20**(4), 441-466.
- Oral R., Meric S., De Nicola E., Petruzzelli D., Della Rocca C. and Pagano G. (2007). Multi-species toxicity evaluation of a chromium-based leather tannery wastewater. *Desalination.* **211**(1-3), 48-57.
- Orupold K., Masirin A. and Tenno T. (2001). Estimation of biodegradation parameters of phenolic compounds on activated sludge by respirometry. *Chemosphere.* **44**(5), 1273-1280.
- Osano O., Admiraal W., Klamer H. J. C., Pastor D. and Bleeker E. A. J. (2002). Comparative toxic and genotoxic effects of chloroacetanilides, formamidines and their degradation products on *Vibrio fischeri* and *Chironomus riparius*. *Environmental Pollution.* **119**(2), 195-202.
- Otto S., Altissimo L. and Zanin G. (2007). Terbutylazine contamination of the aquifer north of Vicenza (North-East Italy). *Environmental Science and Pollution Research.* **14**(2), 109-113.
- Oturan M., Oturan N., Edelahe M., Podvorica F. and El Kacemi K. (2011). Oxidative degradation of herbicide diuron in aqueous medium by Fenton's reaction based advanced oxidation processes. *Chem Eng J.* **171**(1), 127-135.
- Ozbelge T. A., Ozbelge O. H. and Baskaya S. Z. (2002). Removal of phenolic compounds from rubber-textile wastewaters by physico-chemical methods. *Chem Eng Process.* **41**(8), 719-730.
- Padilla B., Diez F. V. and Ordonez S. (2005). Tratamiento de efluentes acuosos contaminados. *Ingeniería del Agua.* **12**, 361-375.

- Pagga U. (1997). Testing biodegradability with standardized methods. *Chemosphere*. **35**(12), 2953-2972.
- Pagga U., Bachner J. and Strotmann U. (2006). Inhibition of nitrification in laboratory tests and model wastewater treatment plants. *Chemosphere*. **65**(1), 1-8.
- Palacio S. M., Espinoza-Quinones F. R., Modenes A. N., Oliveira C. C., Borba F. H. and Silva F. G., Jr. (2009). Toxicity assessment from electro-coagulation treated-textile dye wastewaters by bioassays. *J Hazard Mater*. **172**(1), 330-337.
- Palma P., Palma V. L., Fernandes R. M., Soares A. M. V. M. and Barbosa I. R. (2008). Acute toxicity of atrazine, endosulfan sulphate and chlorpyrifos to *Vibrio fischeri*, *Thamnocephalus platyurus* and *Daphnia magna*, relative to their concentrations in surface waters from the Alentejo region of Portugal. *Bull Environ Contam Toxicol*. **81**(5), 485-489.
- Papanastasiou A. and Maier W. (1982). Kinetics of biodegradation of 2,4-dichlorophenoxy-acetate in the presence of glucose. *Biotechnol Bioeng*. **24**(9), 2001-2011.
- Parra S., Sarria V., Malato S., Peringer P. and Pulgarin C. (2000). Photochemical versus coupled photochemical-biological flow system for the treatment of two biorecalcitrant herbicides: metobromuron and isoproturon. *Applied Catalysis B-Environmental*. **27**(3), 153-168.
- Pawlowsk U. and Howell J. A. (1973). Mixed culture biooxidation of phenol .1. Determination of kinetic parameters. *Biotechnol Bioeng*. **15**(5).
- Pedroza A. M., Mosqueda R., Alonso-Vante N. and Rodriguez-Vazquez R. (2007). Sequential treatment via *Trametes versicolor* and UV/TiO₂/RuxSey to reduce contaminants in waste water resulting from the bleaching process during paper production. *Chemosphere*. **67**(4), 793-801.
- Pera-Titus M., Garcia-Molina V., Banos M., Gimenez J. and Esplugas S. (2004). Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review. *Applied Catalysis B-Environmental*. **47**(4), 219-256.
- Perez M., Penuela G., Maldonado M., Malato O., Fernandez-Ibanez P., Oller I., Gernjak W. and Malato S. (2006). Degradation of pesticides in water using solar advanced oxidation processes. *Appl Catal B-Environ*. **64**(3-4), 272-281.
- Perez-Estrada L., Malato S., Gernjak W., Aguera A., Thurman E., Ferrer I. and Fernandez-Alba A. (2005). Photo-fenton degradation of diclofenac: Identification of main intermediates and degradation pathway. *Environ Sci Technol*. **39**(21), 8300-8306.
- Peschka M., Müller J. and Knepper T. (2005). Trends and entry in the river Rhine. In: The Handbook of environmental chemistry, Vol. 5, Part L eds, The Rhine.

- Petrovic M., Gonzalez S. and Barcelo D. (2003). Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. **22**(10), 685-696.
- Pi Y., Zhang L. and Wang H. (2007). The formation and influence of hydrogen peroxide during ozonation of para-chlorophenol. *J Hazard Mater*. **141**(3), 707-712.
- Pignatello J. J. (1992). Dark and photoassisted Fe³⁺-catalyzed degradation of chlorophenoxy herbicides by hydrogen-peroxide. *Environ Sci Technol*. **26**(5), 944-951.
- Pimentel D. (1996). Green revolution agriculture and chemical hazards. *Sci Total Environ*. **188**, 86-98.
- Pliego G. (2012). Intensificación del proceso Fenton para el tratamiento de aguas residuales industriales. PhD Thesis. Universidad Autonoma de Madrid. España.
- Pliego G., Zazo J., Blasco S., Casas J. and Rodriguez J. (2012). Treatment of highly polluted hazardous industrial wastewaters by combined coagulation-adsorption and high-temperature fenton oxidation. *Ind Eng Chem Res*. **51**(7), 2888-2896.
- Polo A. M., Tobajas M., Sanchis S., Mohedano A. F. and Rodriguez J. J. (2011). Comparison of experimental methods for determination of toxicity and biodegradability of xenobiotic compounds. *Biodegradation*. **22**, 751-761.
- Poulopoulos S. G., Nikolaki M., Karampetsos D. and Philippopoulos C. J. (2008). Photochemical treatment of 2-chlorophenol aqueous solutions using ultraviolet radiation, hydrogen peroxide and photo-Fenton reaction. *J Hazard Mater*. **153**(1-2), 582-587.
- Pramparo L., Eugenia Suarez-Ojeda M., Perez J. and Carrera J. (2012). Kinetics of aerobic biodegradation of dihydroxybenzenes by a p-nitrophenol-degrading activated sludge. *Bioresour Technol*. **110**, 57-62.
- Pratt S., Yuan Z. G. and Keller J. (2004). Modeling aerobic carbon oxidation and storage by integrating respirometric, titrimetric, and off-gas CO₂ measurements. *Biotechnol Bioeng*. **88**(2), 135-147.
- Pulgarin C., Invernizzi M., Parra S., Sarria V., Polania R. and Peringer P. (1999). Strategy for the coupling of photochemical and biological flow reactors useful in mineralization of biorecalcitrant industrial pollutants. *Catalysis Today*. **54**(2-3), 341-352.
- Qiao C., Yan Y., Shang H., Zhou X. and Zhang Y. (2003). Biodegradation of pesticides by immobilized recombinant *Escherichia coli*. *Bull Environ Contam Toxicol*. **71**(2), 370-374.

- Qin J. Y., Zhang Q. L. and Chuang K. T. (2001). Catalytic wet oxidation of p-chlorophenol over supported noble metal catalysts. *Applied Catalysis B-Environmental*. **29**(2), 115-123.
- Quan X. C., Shi H. C., Liu H., Wang J. L. and Qian Y. (2004). Removal of 2,4-dichlorophenol in a conventional activated sludge system through bioaugmentation. *Process Biochemistry*. **39**(11), 1701-1707.
- Quintana J. B., Weiss S. and Reemtsma T. (2005). Pathway's and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Res.* **39**(12), 2654-2664.
- Quintanilla A., Casas J. A., Zazo J. A., Mohedano A. F. and Rodriguez J. J. (2006). Wet air oxidation of phenol at mild conditions with a Fe/activated carbon catalyst. *Applied Catalysis B-Environmental*. **62**(1-2).
- Quintanilla A., Casas J. A. and Rodriguez J. J. (2007). Catalytic wet air oxidation of phenol with modified activated carbons and Fe/activated carbon catalysts. *Applied Catalysis B-Environmental*. **76**(1-2).
- Rafatullah M., Sulaiman O., Hashim R. and Ahmad A. (2010). Adsorption of methylene blue on low-cost adsorbents: A review. *J Hazard Mater.* **177**(1-3), 70-80.
- Rajagopal C. and Kapoor J. C. (2001). Development of adsorptive removal process for treatment of explosives contaminated wastewater using activated carbon. *J Hazard Mater.* **87**(1-3), 73-98.
- Reardon, K. F.; Mosteller, D. C. and Rogers, J. D. B. (2000). Biodegradation kinetics of benzene, toluene, and phenol as single and mixed substrates for *Pseudomonas putida F1*. *Biotechnol Bioeng* **69**(4), 385-400.
- Ren S. J. (2004). Assessing wastewater toxicity to activated sludge: recent research and developments. *Environ Int.* **30**(8), 1151-1164.
- Reuschenbach P., Pagga U. and Strotmann U. (2003). A critical comparison of respirometric biodegradation tests based on OECD 301 and related test methods. *Water Res.* **37**(7), 1571-1582.
- Ribo J. and Kaiser K. (1987). Photobacterium-Phosphoreum toxicity bioassay .1. Test procedures and applications. *Toxicity Assessment*. **2**(3), 305-323.
- Ribo J. (1997). Interlaboratory comparison studies of the luminescent bacteria toxicity bioassay. *Environ Toxicol Water Qual.* **12**(4), 283-294.
- Ricco G., Tomei M. C., Ramadori R. and Laera G. (2004). Toxicity assessment of common xenobiotic compounds on municipal activated sludge: comparison between respirometry and Microtox®. *Water Res.* **38**(8), 2103-2110.

- Rivas J., Gimeno O. and Beltran F. (2009). Wastewater recycling: Application of ozone based treatments to secondary effluents. *Chemosphere*. **74**(6), 854-859.
- Rizzo L., Belgiorno V., Gallo M. and Meric S. (2005). Removal of THM precursors from a high-alkaline surface water by enhanced coagulation and behaviour of THMFP toxicity on *D. magna*. *Desalination*. **176**(1-3), 177-188.
- Rizzo L., Lofrano G., Grassi M. and Belgiorno V. (2008). Pre-treatment of olive mill wastewater by chitosan coagulation and advanced oxidation processes. *Separation and Purification Technology*. **63**(3), 648-653.
- Rizzo L. (2011). Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. *Water Res*. **45**(15), 4311-4340.
- Rosal R., Rodriguez A., Perdigon-Melon J. A., Mezcua M., Hernando M. D., Leton P., Garcia-Calvo E., Aguera A. and Fernandez-Alba A. R. (2008). Removal of pharmaceuticals and kinetics of mineralization by O_3/H_2O_2 in a biotreated municipal wastewater. *Water Res*. **42**(14), 3719-3728.
- Rosal R., Rodriguez A., Perdigon-Melon J. A., Petre A., Garcia-Calvo E., Gomez M. J., Agueera A. and Fernandez-Alba A. R. (2009). Degradation of caffeine and identification of the transformation products generated by ozonation. *Chemosphere*. **74**(6), 825-831.
- Rosal R., Rodriguez A., Perdigon-Melon J. A., Petre A., Garcia-Calvo E., Gomez M. J., Aguera A. and Fernandez-Alba A. R. (2010). Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. *Water Res*. **44**(2), 578-588.
- Rossner A., Snyder S. and Knappe D. (2009). Removal of emerging contaminants of concern by alternative adsorbents. *Water Res*. **43**(15), 3787-3796.
- Rozich A. F. and Gaudy A. F. (1985). Response of phenol-acclimated activated-sludge process to quantitative shock loading. *Journal Water Pollution Control Federation*. **57**(7).
- Rubalcaba A., Suarez-Ojeda M. E., Stueber F., Fortuny A., Bengoa C., Metcalfe I., Font J., Carrera J. and Fabregat A. (2007). Phenol wastewater remediation: advanced oxidation processes coupled to a biological treatment. *Water Sci Technol*. **55**(12), 221-227.
- Rustrian E., Delgenes J. P., Bernet N. and Moletta R. (1997). Nitrate reduction in acidogenic reactor: Influence of wastewater COD/N- NO_3 ratio on denitrification and acidogenic activity. *Environ Technol*. **18**(3), 309-315.
- Salvestrini S., Di Cerbo P. and Capasso S. (2002). Kinetics of the chemical degradation of diuron. *Chemosphere*. **48**(1), 69-73.

- Sanchez Arias V., Fernandez F. J., Rodriguez L. and Villasenor J. (2012). Respiration indices and stability measurements of compost through electrolytic respirometry. *J Environ Manage.* **95**, 134-138.
- Santos A., Yustos P., Quintanilla A., Garcia-Ochoa F., Casas J. A. and Rodriguez J. J. (2004). Evolution of toxicity upon wet catalytic oxidation of phenol. *Environ Sci Technol.* **38**(1), 133-138.
- Santos J. L., Aparicio I. and Alonso E. (2007). Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater treatment plants. A case study: Seville city (Spain). *Environ Int.* **33**(4), 596-601.
- Saravanan P., Pakshirajan K. and Saha P. (2008). Kinetics of phenol and m-cresol biodegradation by an indigenous mixed microbial culture isolated from a sewage treatment plant. *Journal of Environmental Sciences-China.* **20**(12), 1508-1513.
- Sarria V., Kenfack S., Guillod O. and Pulgarin C. (2003). An innovative coupled solar-biological system at field pilot scale for the treatment of biorecalcitrant pollutants. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry.* **159**(1), 89-99.
- Scott J. and Ollis D. (1995). Integration of chemical and biological oxidation processes for water treatment: Review and recommendations. *Environ Prog.* **14**(2), 88-103.
- Seel P., Knepper T. P., Gabriel S., Anke W. and Haberer K. (1994). Entry of pesticides into a surface water- an attempt at a mass balance. *Vom Wasser.* **83**, 357-372.
- Seker S., Beyenal H., Salih B. and Tanyolac A. (1997). Multi-substrate growth kinetics of *Pseudomonas putida* for phenol removal. *Appl Microbiol Biotechnol.* **47**(5).
- Serra A., Brillas E., Domenech X. and Peral J. (2011). Treatment of biorecalcitrant alpha-methylphenylglycine aqueous solutions with a solar photo-Fenton-aerobic biological coupling: Biodegradability and environmental impact assessment. *Chem Eng J.* **172**(2-3), 654-664.
- Shemer H., Kunukcu Y. and Linden K. (2006). Degradation of the pharmaceutical metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes. *Chemosphere.* **63**(2), 269-276.
- Shoji R., Sakoda A., Sakai Y. and Suzuki M. (2000). Formulating biosay data of chemicals and environmental water. *Water Science and Technology.* **42**(3-4), 115-123.
- Sierka R. and Bryant C. (1994). Enhancement of biotreatment effluent quality by illuminated titanium-dioxide and membrane pretreatment of the kraft

- extraction waste stream and by increased chlorine dioxide substitution. *Water Science and Technology*. **29**(5-6), 209-218.
- Sinclair C. J. and Boxall A. B. A. (2003). Assessing the ecotoxicity of pesticide transformation products. *Environ Sci Technol*. **37**(20), 4617-4625.
- Singh M. and Srivastava R. (2011). Sequencing batch reactor technology for biological wastewater treatment: a review. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*. **6**(1), 3-13.
- Sirtori C., Zapata A., Oller I., Gernjak W., Aqueera A. and Malato S. (2009). Decontamination industrial pharmaceutical wastewater by combining solar photo-Fenton and biological treatment. *Water Res*. **43**(3), 661-668.
- Skark C., Zullei-Seibert N., Willme U., Gatzemann U. and Schlett C. (2004). Contribution of non-agricultural pesticides to pesticide load in surface water. *Pest Manag Sci*. **60**(6), 525-530.
- Smejkal C. W., Vallaeyts T., Burton S. K. and Lappin-Scott H. M. (2001). A rapid method to screen degradation ability in chlorophenoxyalkanoic acid herbicide-degrading bacteria. *Lett Appl Microbiol*. **32**(4), 273-277.
- Smets B. F., Jobbagy A., Cowan R. M. and Grady C. P. L. (1996). Evaluation of respirometric data: Identification of features that preclude data fitting with existing kinetic expressions. *Ecotoxicol Environ Saf*. **33**(1), 88-99.
- Snyder S., Adham S., Redding A., Cannon F., DeCarolis J., Oppenheimer J., Wert E. and Yoon Y. (2007). Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals. *Desalination*. **202**(1-3), 156-181.
- Somich C., Muldoon M. and Kearney P. (1990). On-site treatment of pesticide waste and rinsate using ozone and biologically-active soil. *Environ Sci Technol*. **24**(5), 745-749.
- Sreenivasulu C. and Aparna Y. (2001). Bioremediation of methylparathion by free and immobilized cells of *Bacillus sp.* isolated from soil. *Bull Environ Contam Toxicol*. **67**(1), 98-105.
- Stalter D., Magdeburg A., Weil M., Knacker T. and Oehlmann J. (2010). Toxication or detoxication? In vivo toxicity assessment of ozonation as advanced wastewater treatment with the rainbow trout. *Water Res*. **44**(2), 439-448.
- Stasinakis A., Kotsifa S., Gatidou G. and Mamais D. (2009). Diuron biodegradation in activated sludge batch reactors under aerobic and anoxic conditions. *Water Res*. **43**(5), 1471-1479.
- Stavarache C., Yim B., Vinatoru M. and Maeda Y. (2002). Sonolysis of chlorobenzene in Fenton-type aqueous systems. *Ultrason Sonochem*. **9**(6), 291-296.

- Suarez-Ojeda M. E., Stuber F., Fortuny A., Fabregat A., Carrera J. and Font J. (2005). Catalytic wet air oxidation of substituted phenols using activated carbon as catalyst. *Applied Catalysis B-Environmental*. **58**(1-2), 105-114.
- Suarez-Ojeda M., Guisasola A., Baeza J., Fabregat A., Stuber F., Fortuny A., Font J. and Carrera J. (2007). Integrated catalytic wet air oxidation and aerobic biological treatment in a municipal WWTP of a high-strength o-cresol wastewater. *Chemosphere*. **66**(11), 2096-2105.
- Suarez-Ojeda M. E., Carrera J., Metcalfe I. S. and Font J. (2008). Wet air oxidation (WAO) as a precursor to biological treatment of substituted phenols: Refractory nature of the WAO intermediates. *Chem Eng J*. **144**(2), 205-212.
- Suarez-Ojeda M. E., Guisasola A. and Carrera J. (2010). Inhibitory impact of quinone-like compounds over partial nitrification. *Chemosphere*. **80**(4), 474-480.
- Sun H., Lu J. and Zhai H. (2005). Study on degradation of 2, 4- D by Fenton and photo- Fenton reaction. *Huanjing Huaxue*. **24**(4), 365-369.
- Suty H., De Traversay C. and Cost M. (2004). Applications of advanced oxidation processes: present and future. *Water Science and Technology*. **49**(4), 227-233.
- Svenson A. and Zhang L. (1995). Acute aquatic toxicity of protolyzing substances studied as the Microtox® effect. *Ecotoxicol Environ Saf*. **30**(3), 283-288.
- Szpyrkowicz L., Juzzolino C. and Kaul S. (2001). A comparative study on oxidation of disperse dyes by electrochemical process, ozone, hypochlorite and Fenton reagent. *Water Res*. **35**(9), 2129-2136.
- Tabak H. H. and Govind R. (1997). Protocol for determining bioavailability and biokinetics of organic pollutants in dispersed, compacted and intact soil systems to enhance in situ bioremediation. *J Ind Microbiol Biotechnol*. **18**(5), 330-339.
- Tahmasseb L. A., Nelieu S., Kerhoas L. and Einhorn J. (2002). Ozonation of chlorophenylurea pesticides in water: reaction monitoring and degradation pathways. *Sci Total Environ*. **291**(1-3), 33-44.
- Talukdar A. K., Bhattacharyya K. G. and Sivasanker S. (1993). Hydrogenation of phenol over supported platinum and palladium catalysts. *Applied Catalysis A-General*. **96**(2), 229-239.
- Tamer E., Hamid Z., Aly A., Ossama E., Bo M. and Benoit G. (2006). Sequential UV-biological degradation of chlorophenols. *Chemosphere*. **63**(2), 277-284.
- Tan I. A. W., Ahmad A. L. and Hameed B. H. (2009). Adsorption isotherms, kinetics, thermodynamics and desorption studies of 2,4,6-trichlorophenol on oil palm empty fruit bunch-based activated carbon. *J Hazard Mater*. **164**(2-3), 473-482.

- Tanabe S. (2005). Synthetic musks- arising new environmental menace? *Mar Pollut Bull.* **50**(10), 1025-1026.
- Tay K., Rahman N. and Bin Abas M. (2011). Characterization of atenolol transformation products in ozonation by using rapid resolution high-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. *Microchemical Journal.* **99**(2), 312-326.
- Ternes T., Bonerz M. and Schmidt T. (2001). Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography a.* **938**(1-2), 175-185.
- Ternes T., Meisenheimer M., McDowell D., Sacher F., Brauch H., Gulde B., Preuss G., Wilme U. and Seibert N. (2002). Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environ Sci Technol.* **36**(17), 3855-3863.
- Ternes T., Stuber J., Herrmann N., McDowell D., Ried A., Kampmann M. and Teiser B. (2003). Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? *Water Res.* **37**(8), 1976-1982.
- Tezcanli-Guyer G. and Ince N. (2004). Individual and combined effects of ultrasound, ozone and UV irradiation: a case study with textile dyes. *Ultrasonics.* **42**(1-9), 603-609.
- Tisler T., Zagorc-Koncan J., Cotman M. and Drolc A. (2004). Toxicity potential of disinfection agent in tannery wastewater. *Water Res.* **38**(16), 3503-3510.
- Tixier C., Sancelme M., Ait-Aissa S., Widehem P., Bonnemoy F., Cuer A., Truffaut N. and Veschambre H. (2002). Biotransformation of phenylurea herbicides by a soil bacterial strain, *Arthrobacter sp N2*: structure, ecotoxicity and fate of diuron metabolite with soil fungi. *Chemosphere.* **46**(4), 519-526.
- Tixier C., Singer H., Oellers S. and Muller S. (2003). Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. *Environ Sci Technol.* **37**(6), 1061-1068.
- Tobajas M., Monsalvo V. M., Mohedano A. F. and Rodriguez J. J. (2012). Enhancement of cometabolic biodegradation of 4-chlorophenol induced with phenol and glucose as carbon sources by *Comamonas testosteroni*. *J Environ Manage.* **95**, S116-S121.
- Tomei M. C., Annesini M. C., Luberti R., Cento G. and Senia A. (2003). Kinetics of 4-nitrophenol biodegradation in a sequencing batch reactor. *Water Res.* **37**(16), 3803-3814.
- Tomei M. C., Annesini M. C. and Bussoletti S. (2004). 4-nitrophenol biodegradation in a sequencing batch reactor: kinetic study and effect of filling time. *Water Res.* **38**(2), 375-384.

- Tora J. A., Baeza J. A., Carrera J. and Oleszkiewicz J. A. (2011). Denitritation of a high-strength nitrite wastewater in a sequencing batch reactor using different organic carbon sources. *Chem Eng J.* **172**(2-3), 994-998.
- Tremier A., de Guardia A., Massiani C., Paul E. and Martel J. L. (2005). A respirometric method for characterising the organic composition and biodegradation kinetics and the temperature influence on the biodegradation kinetics, for a mixture of sludge and bulking agent to be co-composted. *Bioresour Technol.* **96**(2), 169-180.
- US Department of Agriculture. (1995). Agricultural chemical usage 1994 field crop summary. N.A.S.S., & E.R.S. Ag Ch 1, 95.
- USEPA. (1989). Protocols for short term toxicity screening of hazardous waste sites. *United States Environmental Protection Agency.*
- USEPA. (2002). Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. *United States Environmental Protection Agency.*
- Urbano F. J. and Marinas J. M. (2001). Hydrogenolysis of organohalogen compounds over palladium supported catalysts. *Journal of Molecular Catalysis A-Chemical.* **173**(1-2), 329-345.
- vanDijk L. and Roncken G. C. G. (1997). Membrane bioreactors for wastewater treatment: The state of the art and new developments. *Water Science and Technology.* **35**(10), 35-41.
- Vargas A., Moreno-Andrade I. and Buitron G. (2008). Controlled backwashing in a membrane sequencing batch reactor used for toxic wastewater treatment. *J Membr Sci.* **320**(1-2), 185-190.
- Vasseur P., Ferard J., Vial J. and Larbaigt G. (1984). Comparison of the Microtox® and *Daphnia* tests for the evaluation of the acute toxicity of industrial effluent. *Environmental Pollution Series A-Ecological and Biological.* **34**(3), 225-235.
- Vieno N., Tuhkanen T. and Kronberg L. (2007). Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland. *Water Res.* **41**(5), 1001-1012.
- Vijayan P., Mahendiran C., Suresh C. and Shanthi K. (2009). Photocatalytic activity of iron doped nanocrystalline titania for the oxidative degradation of 2,4,6-trichlorophenol. *Catalysis Today.* **141**(1-2), 220-224.
- Vineis P. and Simonato L. (1986). Estimates of the proportion of bladder cancers attributable to occupation. *Scandinavian Journal of Work Environment & Health.* **12**(1), 55-60.
- Vismara C. and Garavaglia A. (1997). 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid containing compounds. Genotoxicity evaluation by Mutatox® assay and

- comparison with acute (Microtox®) and embryo (FETAX) toxicities. *Bull Environ Contam Toxicol.* **58**(4), 582-588.
- Von Gunten U. (2003). Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Res.* **37**(7), 1443-1467.
- Wackett L. P., Sadowsky M. J., Martinez B. and Shapir N. (2002). Biodegradation of atrazine and related s-triazine compounds: from enzymes to field studies. *Appl Microbiol Biotechnol.* **58**(1), 39-45.
- Wake H. (2005). Oil refineries: a review of their ecological impacts on the aquatic environment. *Estuarine Coastal and Shelf Science.* **62**(1-2), 131-140.
- Walsh G., Bahner L. and Horning W. (1980). Toxicity of textile mill effluents to fresh-water and estuarine algae, crustaceans and fishes. *Environmental Pollution Series A-Ecological and Biological.* **21**(3), 169-179.
- Wang C., Fu H., Lu Y. and Zhao X. (2012). Combined Fenton's oxidation and biological aerated filter process reduces chemical dosage. *Environ Eng Sci.* **29**(4), 248-254.
- Wang S. J., Loh K. C. (1999). Modeling the role of metabolic intermediates in kinetics of phenol biodegradation. *Enzyme Microb Technol.* **25**(3-5), 177-184.
- Weber M., Weber M. and Kleine-Boymann M. (2004). Phenol. In: Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH.
- Wei Y. S., Van Houten R. T., Borger A. R., Eikelboom D. H. and Fan Y. B. (2003). Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment. *Water Res.* **37**(18), 4453-4467.
- Wiggings B. A., Jones S. H. and Alexander M. A. (1987). Explanations for the acclimation period preceding the mineralization of organic chemicals in aquatic environments. *Applied and Environmental Microbiology.* **53**, 791-796.
- Wilcox J., Bahr J., Hedman C., Hemming J., Barman M. and Bradbury K. (2009). Removal of organic wastewater contaminants in septic systems using advanced treatment technologies. *J Environ Qual.* **38**(1), 149-156.
- Wilderer P., Irvine R. and Goronszy M. (2001). Sequencing batch reactor technology. IWA Publishing, London.
- Wilson C., Suidan M., Maloney S. and Brenner R. (1997). The biodegradation of 2,4-D industrial wastewater utilizing a pilot-scale anaerobic GAC-FBR in Eastern Europe. In: Proceedings WEFTEC '97. 70th Annual Conference and Exposition of the Water Environment Federation, Chicago, IL., 18-22.

- Wu Y., Li T. and Yang L. (2012). Mechanisms of removing pollutants from aqueous solutions by microorganisms and their aggregates: A review. *Bioresour Technol.* **107**, 10-18.
- Yang R. and Humphrey A. (1975). Dynamic and steady-state studies of phenol biodegradation in pure and mixed cultures. *Biotechnol Bioeng.* **17**(8), 1211-1235.
- Yeoh B. G. (1995). Anaerobic treatment of industrial wastewaters in Malaysia. In: Post Conference Seminar on Industrial Wastewater Management in Malaysia, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Yi T., Lee E., Ahn Y., Hwang G. and Cho K. (2011). Novel biodegradation pathways of cyclohexane by *Rhodococcus* sp. EC1. *J Hazard Mater.* **191**(1-3), 393-396.
- Yoong E. T., Lant P. A. and Greenfield P. F. (2000). In situ respirometry in an SBR treating wastewater with high phenol concentrations. *Water Res.* **34**(1), 239-245.
- Yuan G. and Keane M. (2003). Liquid phase catalytic hydrodechlorination of chlorophenols at 273 K. *Catalysis Communications.* **4**, 195-201.
- Zanetti L., Frison N., Nota E., Tomizioli M., Bolzonella D. and Fatone F. (2012). Progress in real-time control applied to biological nitrogen removal from wastewater. A short-review. *Desalination.* **286**, 1-7.
- Zapata A., Oller I., Sirtori C., Rodríguez A., Sánchez-Pérez J. A., López A., Mezcua M. and Malato S. (2010). Decontamination of industrial wastewater containing pesticides by combining large-scale homogeneous solar photocatalysis and biological treatment. *Chem Eng J.* **160**(2), 447-456.
- Zazo J. A., Casas J. A., Mohedano A. F., Gilarranz M. A. and Rodriguez J. J. (2005). Chemical pathway and kinetics of phenol oxidation by Fenton's reagent. *Environ Sci Technol.* **39**(23), 9295-9302.
- Zazo J. A., Casas J. A., Molina C. B., Quintanilla A. and Rodriguez J. J. (2007). Evolution of ecotoxicity upon Fenton's oxidation of phenol in water. *Environ Sci Technol.* **41**, 7164-7170.
- Zimbron J. and Reardon K. (2011). Continuous combined Fenton's oxidation and biodegradation for the treatment of pentachlorophenol-contaminated water. *Water Res.* **45**(17), 5705-5714.
- Zinovyev S. S., Shinkova N. A., Perosa A. and Tundo P. (2005). Phase-transfer promotion of hydrodechlorination of chlorophenoxy-pesticides over Pd/C and Raney-Ni. *Applied Catalysis B-Environmental.* **55**(1), 49-56.

Zona R. and Solar S. (2003). Oxidation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by ionizing radiation: degradation, detoxification and mineralization. *Radiat Phys Chem.* **66**(2), 137-143.

A word cloud containing the following terms: Diurón, 2,4-D, Ciclohexanol, Cafeína, Alacloro, Clorofenoles, Atrazina, Inhibición, Respirómetro, Ciclohexanona, Fenol, MCPA, and Atenolol. The words are arranged in a roughly circular pattern with varying orientations and colors (shades of blue, green, and grey).

ANEXO I

Anexo I

Perfiles de concentración de oxígeno disuelto obtenidos en los ensayos de inhibición de fango activo

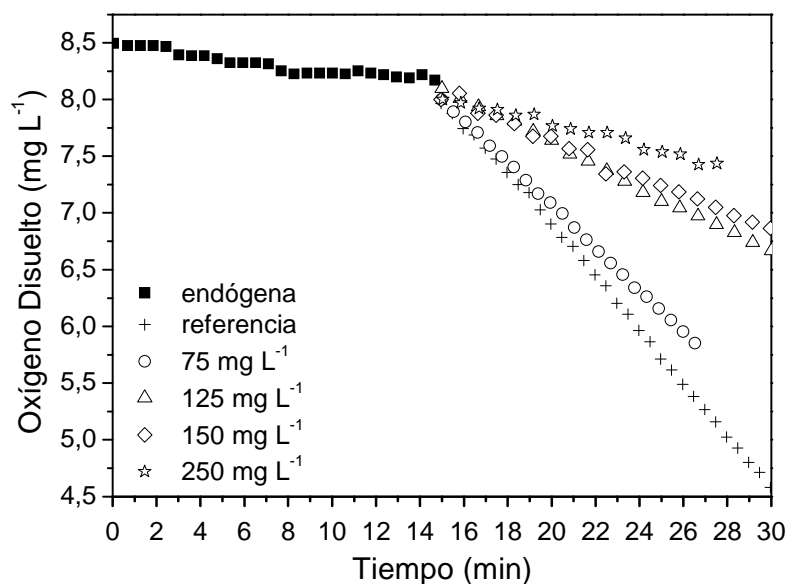


Fig. I.1. Perfil de concentración de oxígeno para 4-clorocatecol.

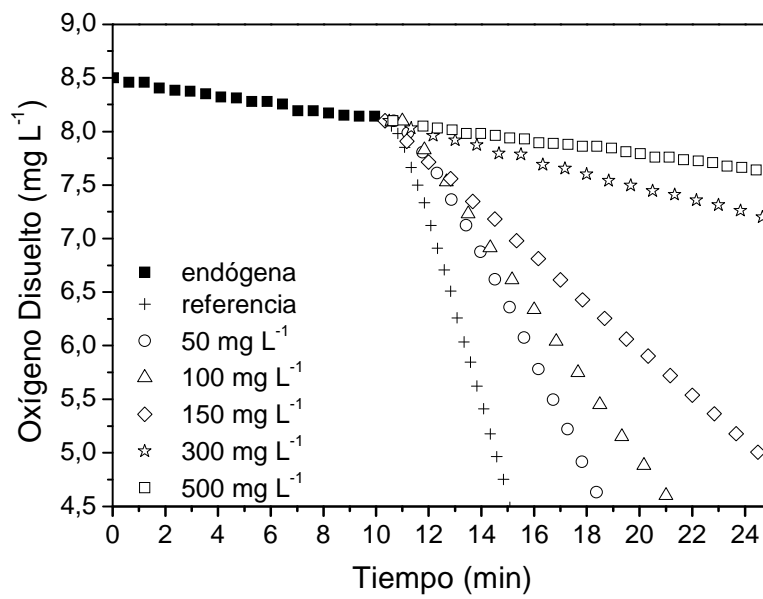


Fig. I.2. Perfil de concentración de oxígeno para 4-clorofenol.

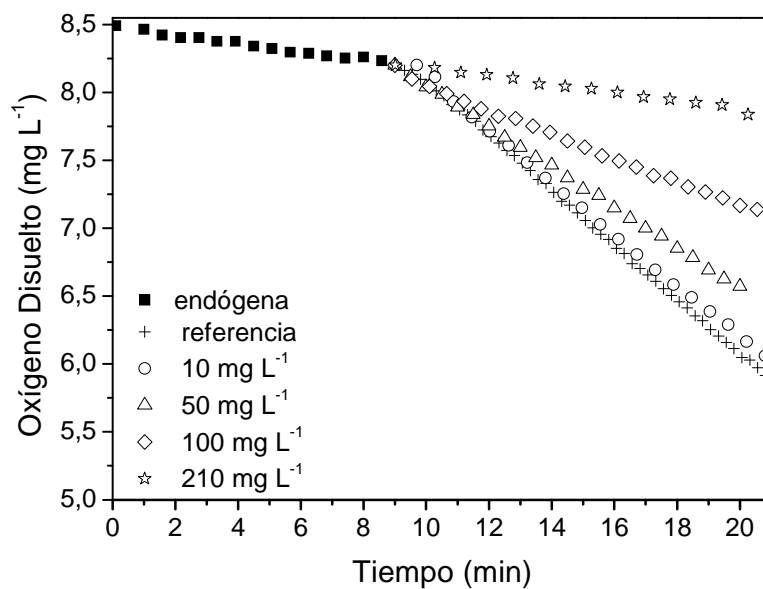


Fig. I.3. Perfil de concentración de oxígeno para 2,4-diclorofenol.

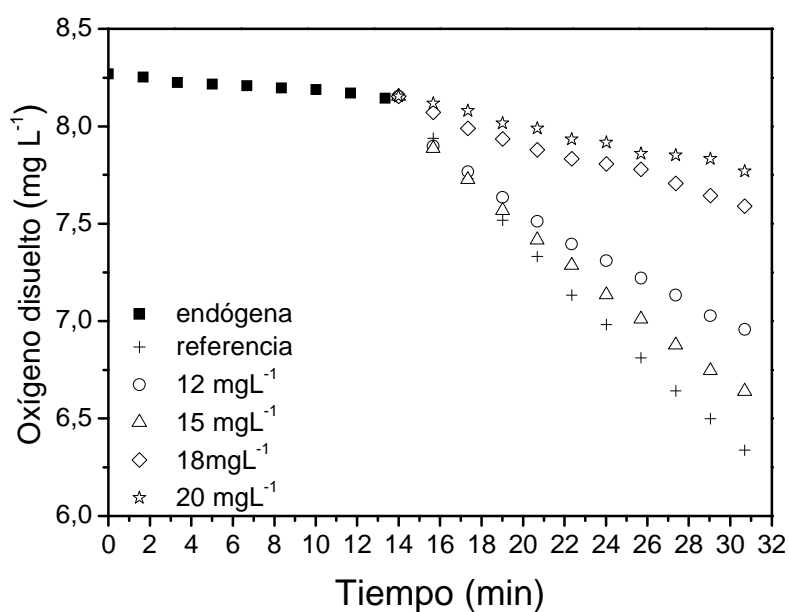


Fig. I.4. Perfil de concentración de oxígeno para 3,5-diclorofenol.

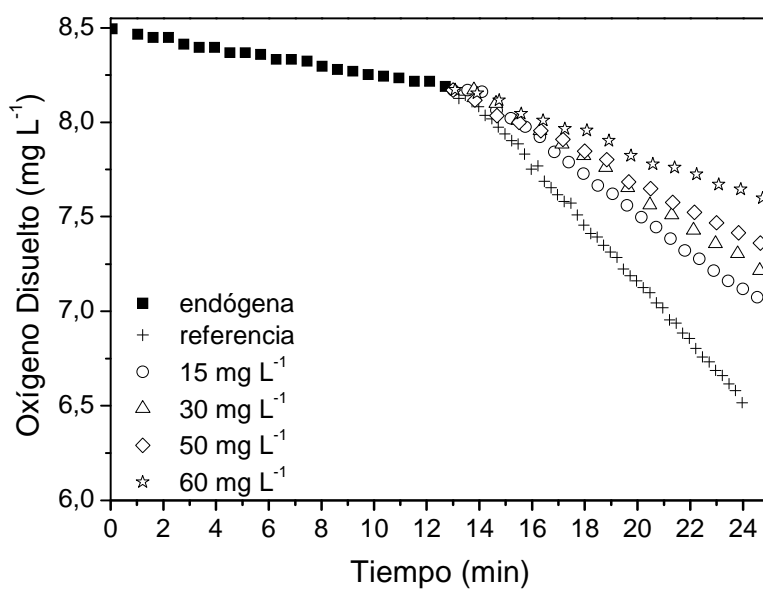


Fig. I.5. Perfil de concentración de oxígeno para 2,4,6-triclorofenol.

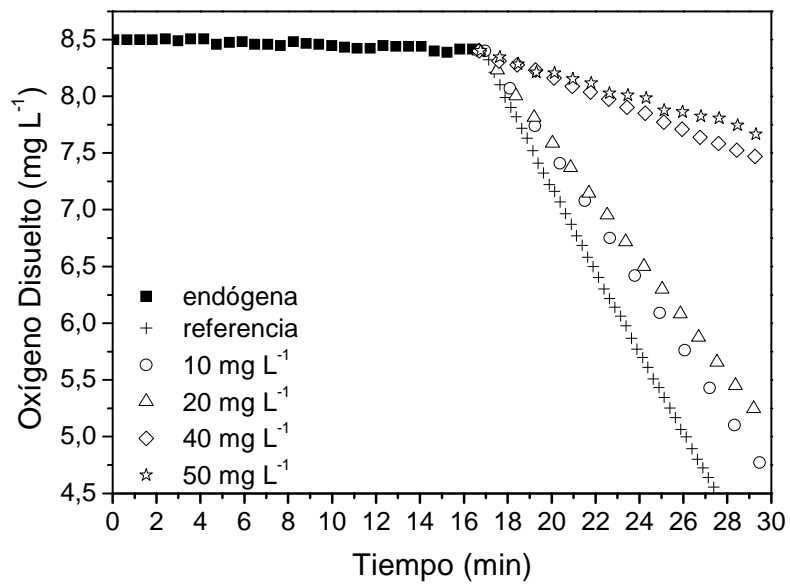


Fig. I.6. Perfil de concentración de oxígeno para pentaclorofenol.

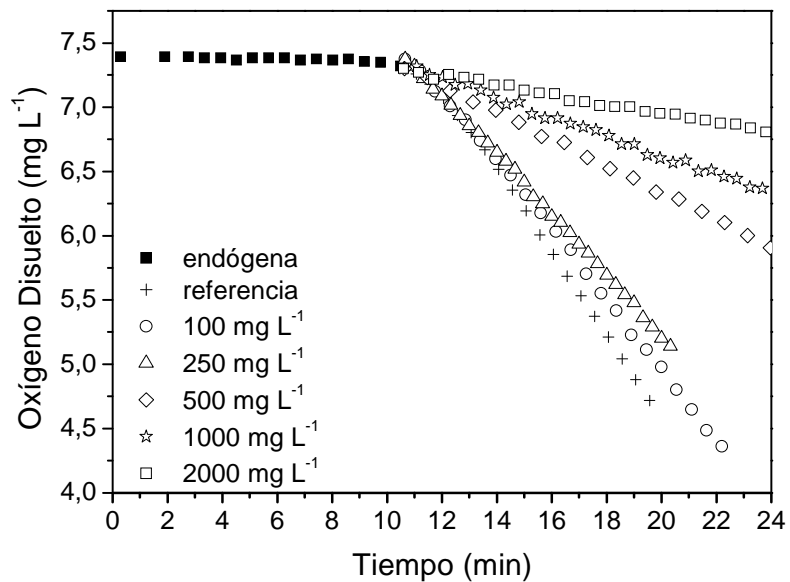


Fig. I.7. Perfil de concentración de oxígeno para fenol.

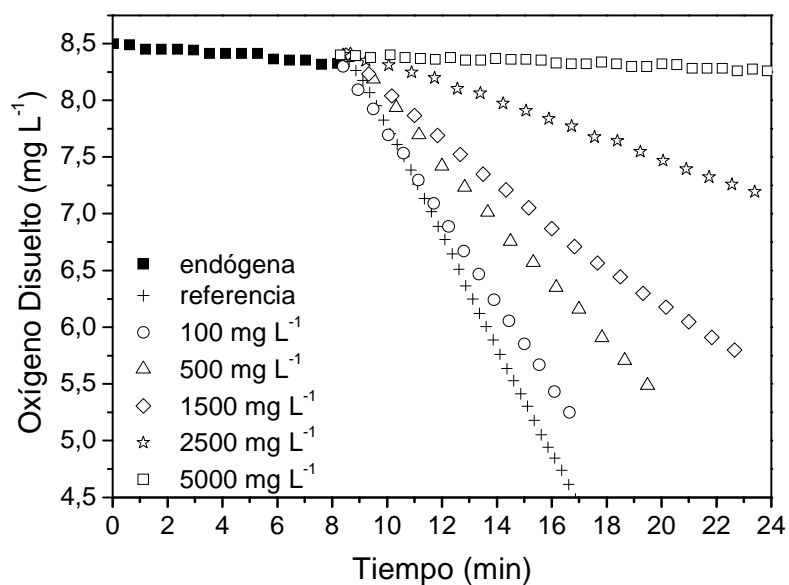


Fig. I.8. Perfil de concentración de oxígeno para catecol.

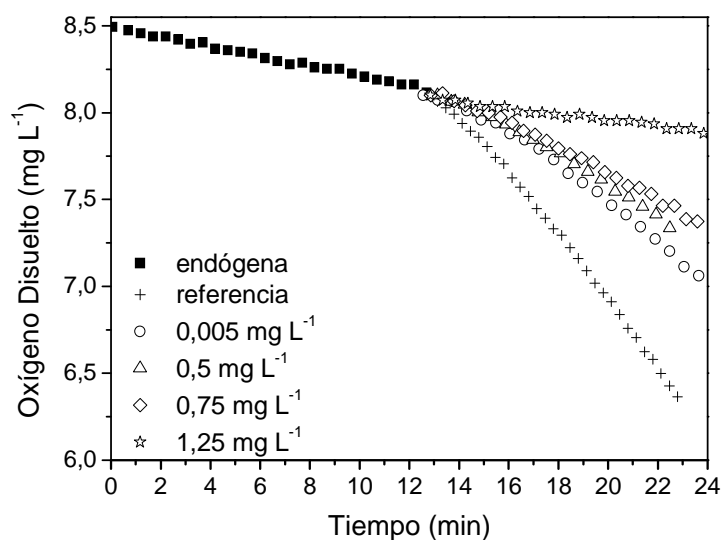


Fig. I.9. Perfil de concentración de oxígeno para benzoquinona.

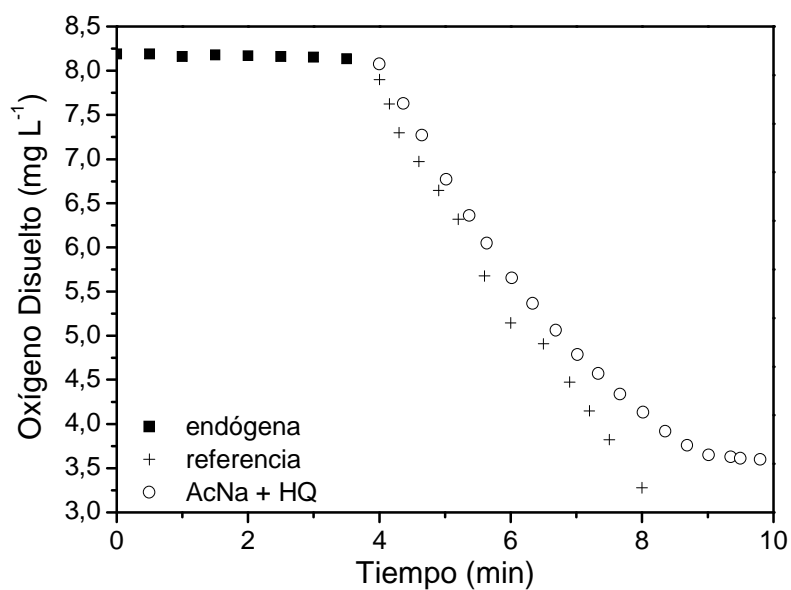


Fig. I.10. Perfil de concentración de oxígeno para hidroquinona.

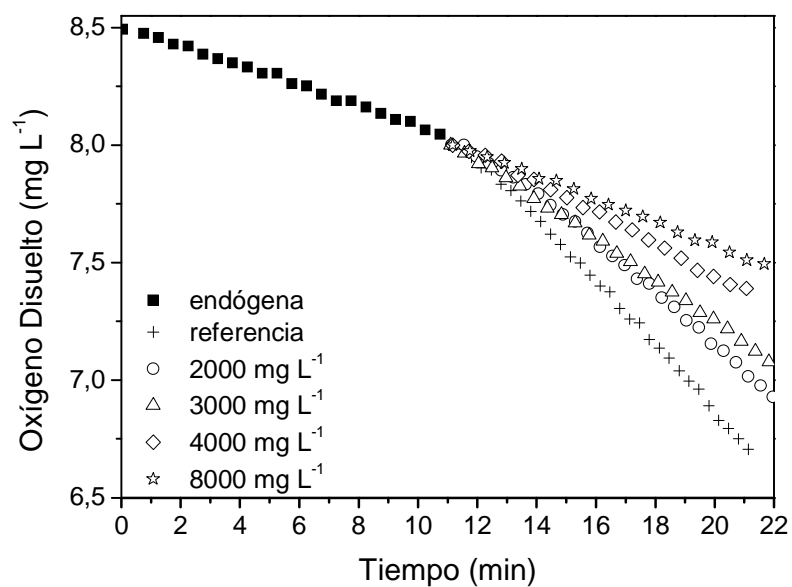


Fig. I.11. Perfil de concentración de oxígeno para ciclohexanol.

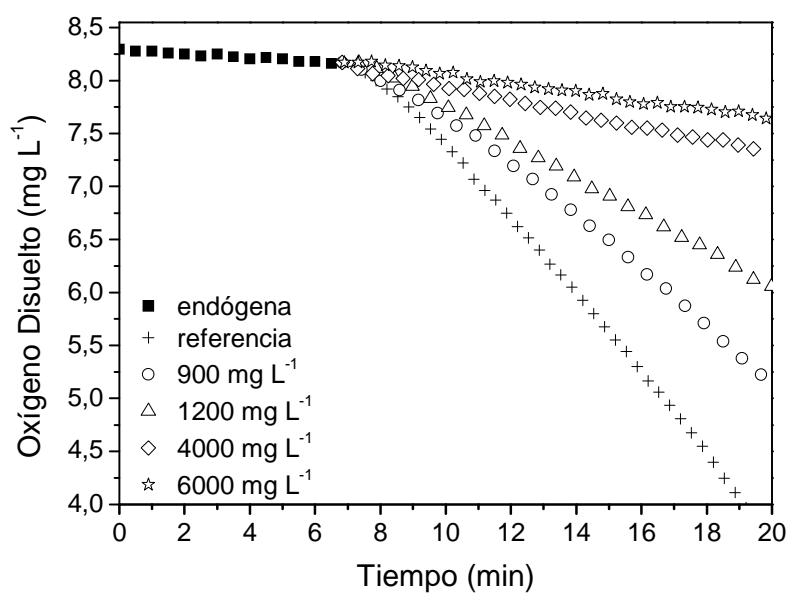


Fig. I.12. Perfil de concentración de oxígeno para ciclohexanona.

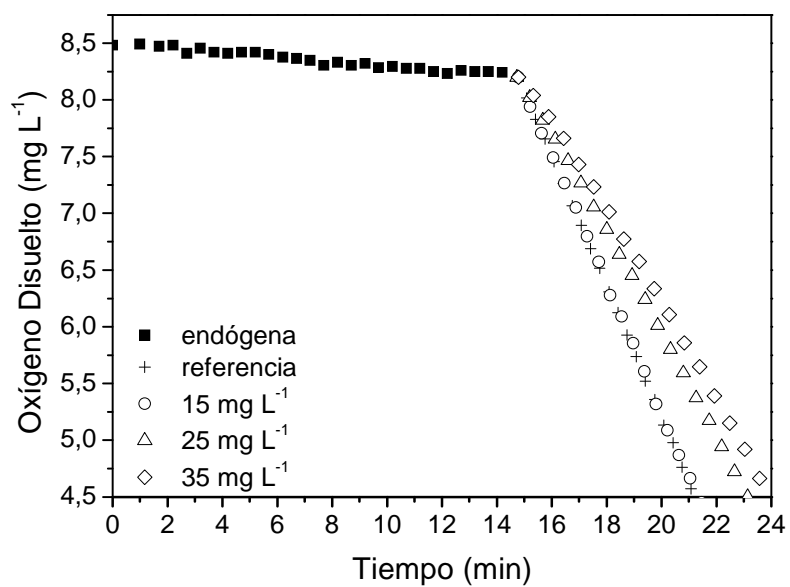


Fig. I.13. Perfil de concentración de oxígeno para diurón.

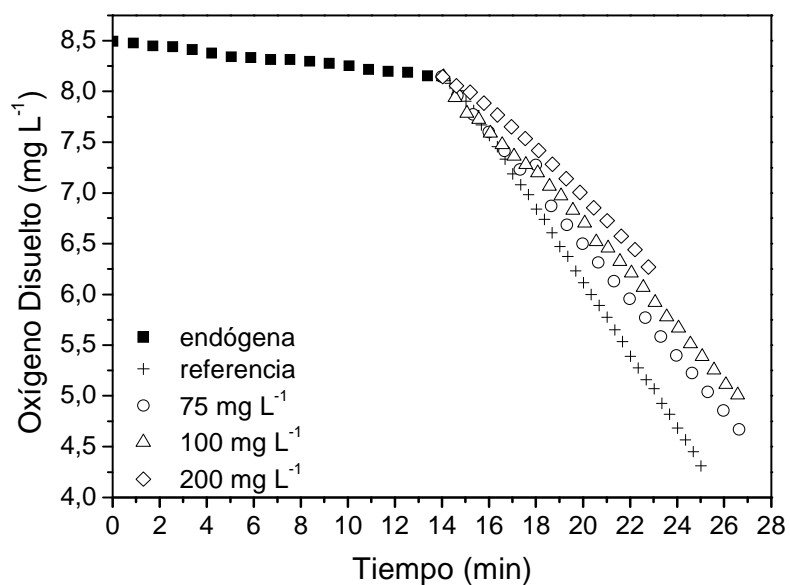


Fig. I.14. Perfil de concentración de oxígeno para alacloro.

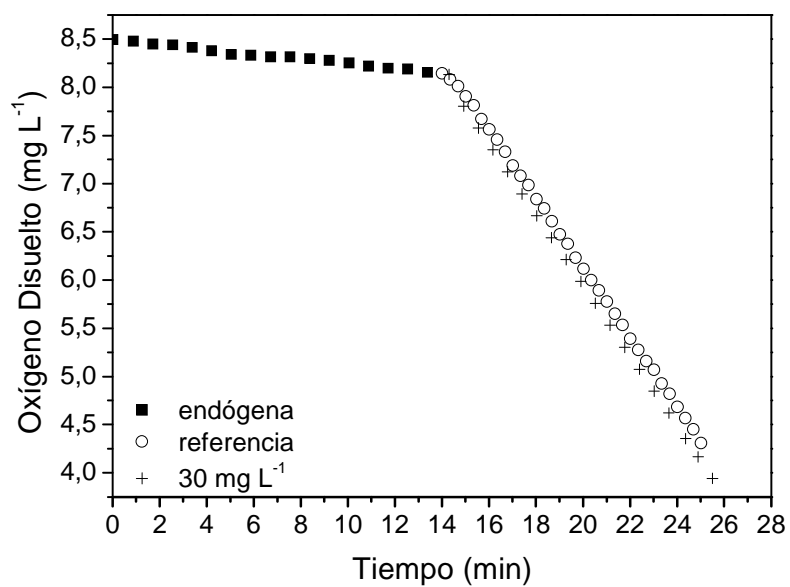


Fig. I.15. Perfil de concentración de oxígeno para atrazina.

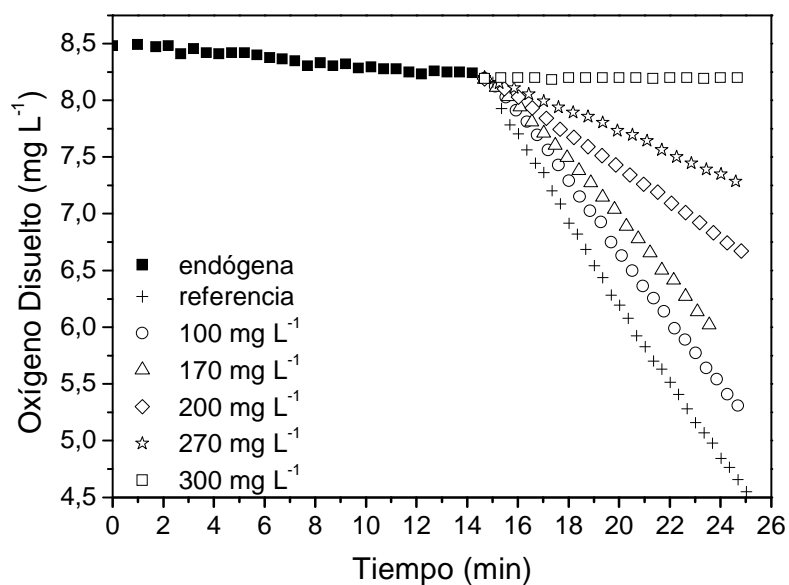


Fig. I.16. Perfil de concentración de oxígeno para 2,4-D.

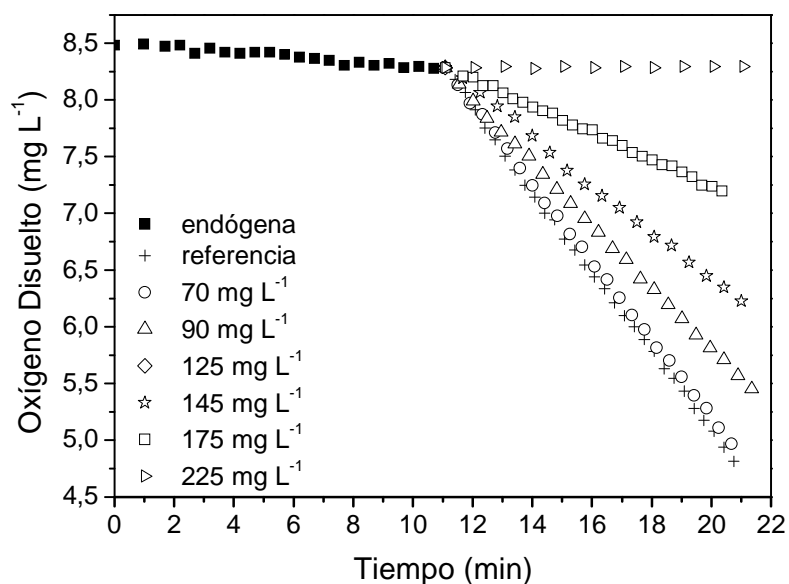


Fig. I.17. Perfil de concentración de oxígeno para MCPA.

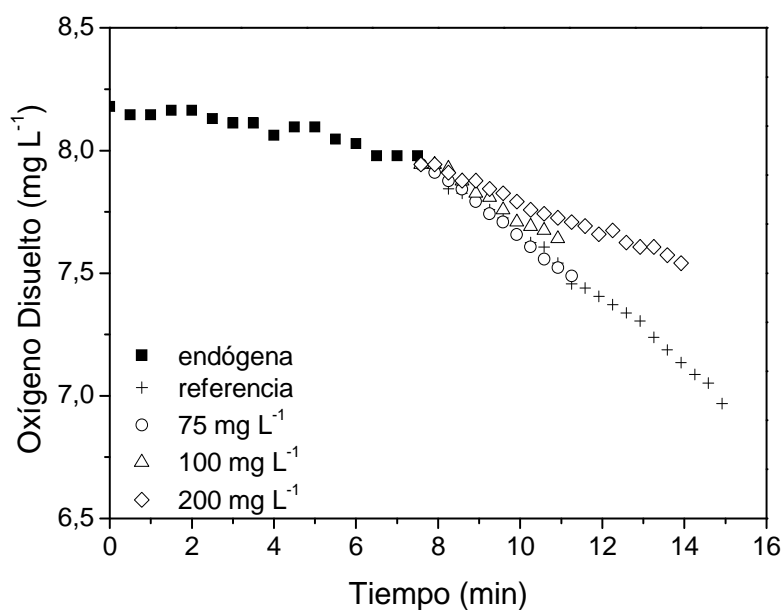


Fig. I.18. Perfil de concentración de oxígeno para atenolol.

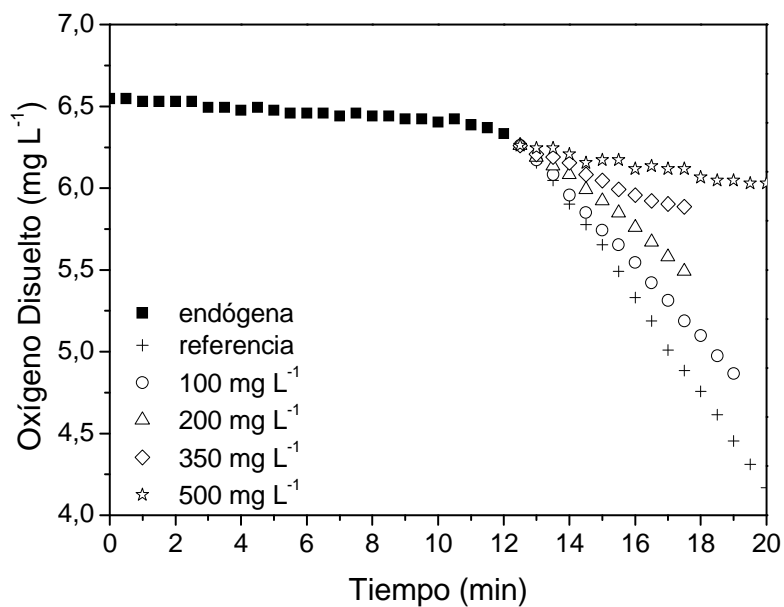


Fig. I.19. Perfil de concentración de oxígeno para cafeína.

Fenol
C-ONA
Temperatura
Respirogramas
C-OL
ACNa

ANEXO II

Anexo II

Perfiles respirométricos obtenidos para concentraciones crecientes de acetato sódico, fenol, ciclohexanol y ciclohexanona a diferentes temperaturas

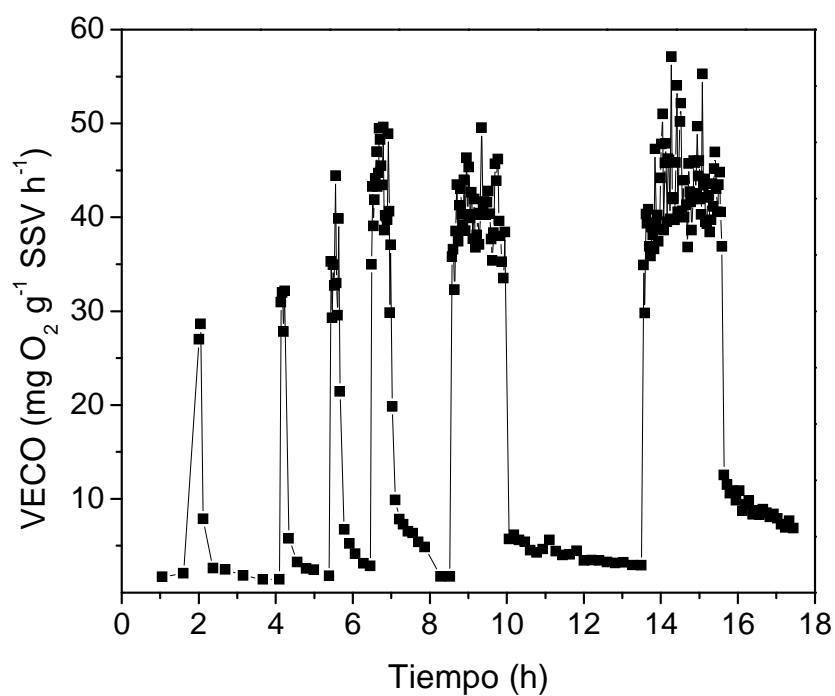


Fig. II.1. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de AcNa a 20°C.

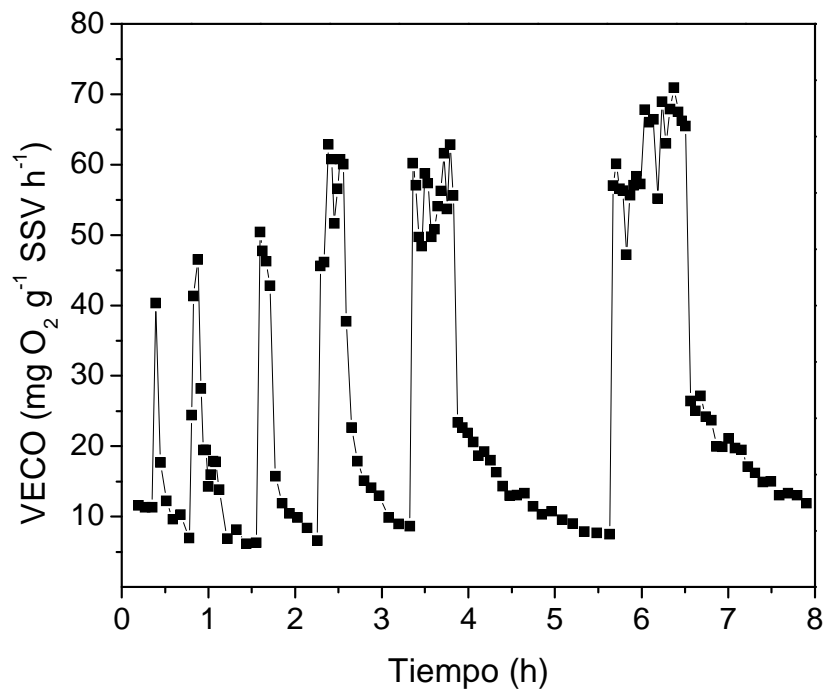


Fig. II.2. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de AcNa a 30°C.

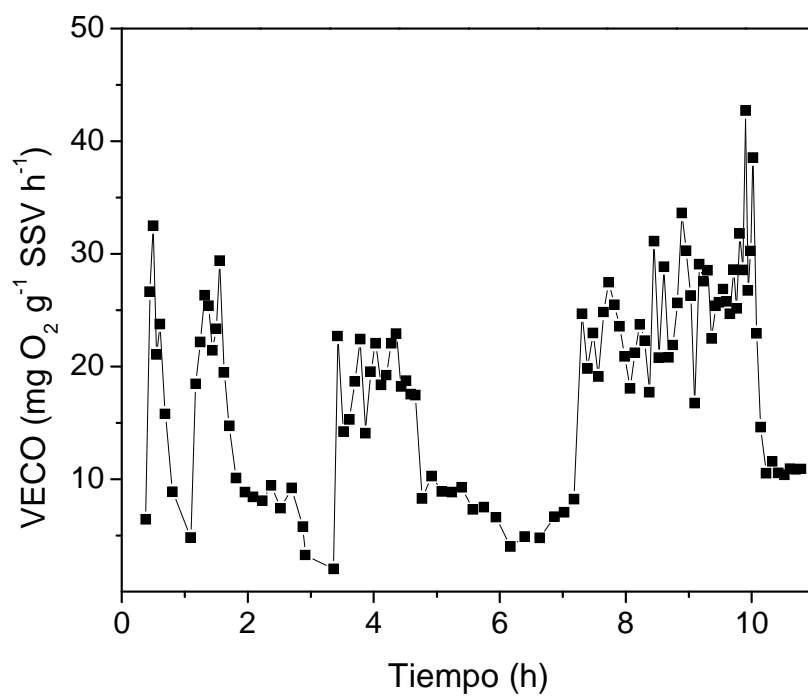


Fig. II.3. Evolución de la VECO para 5, 10, 20 y 50 mg L⁻¹ de C-OL a 15°C.

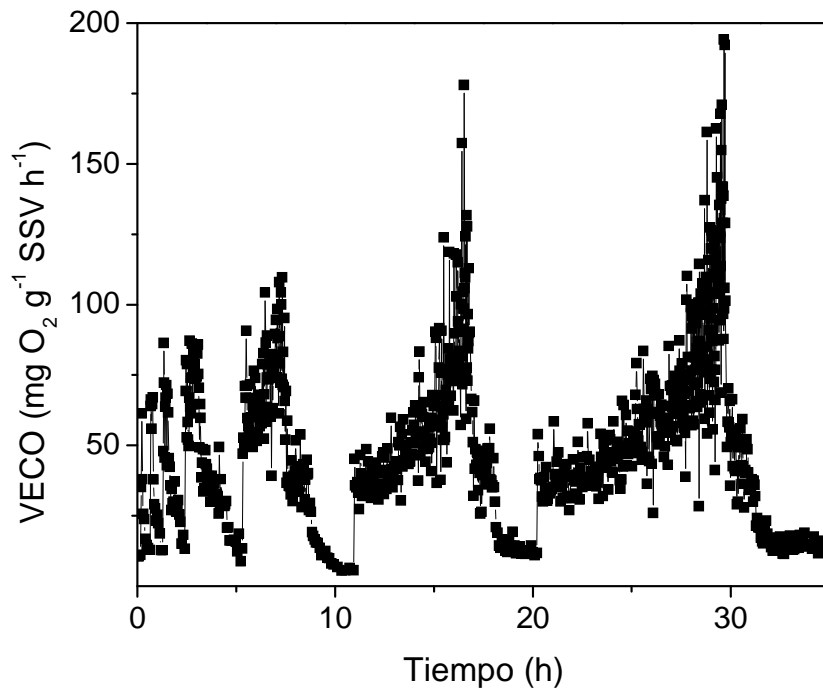


Fig. II.4. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100, 200 y 300 mg L⁻¹ de C-OL a 20°C.

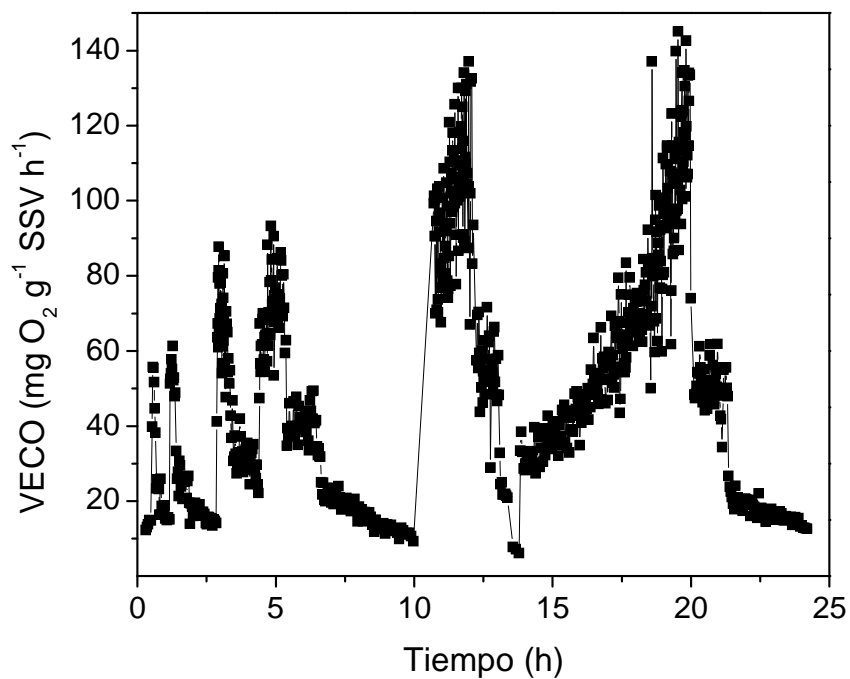


Fig. II.5. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de C-OL a 25°C.

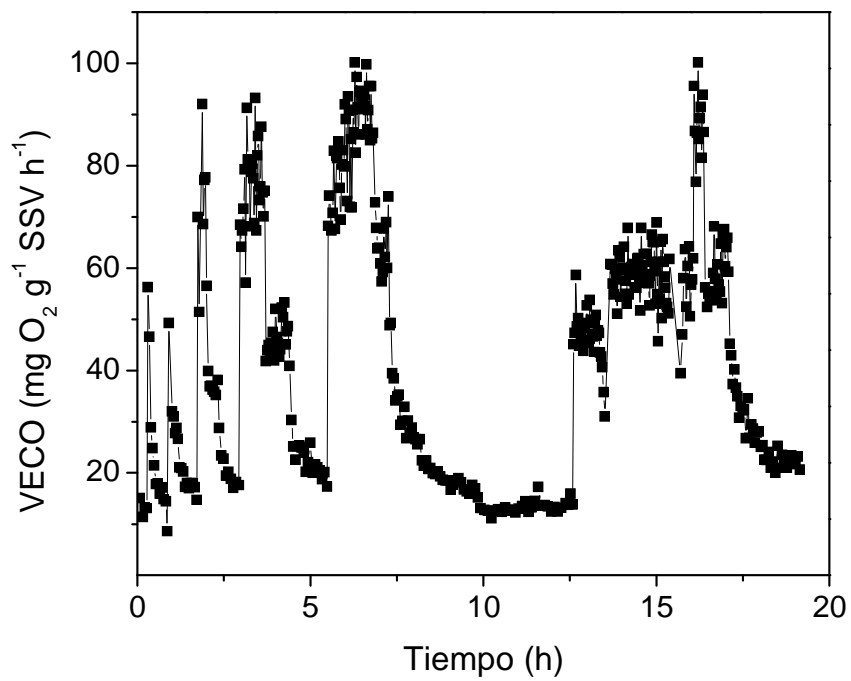


Fig. II.6. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de C-OL a 30°C.

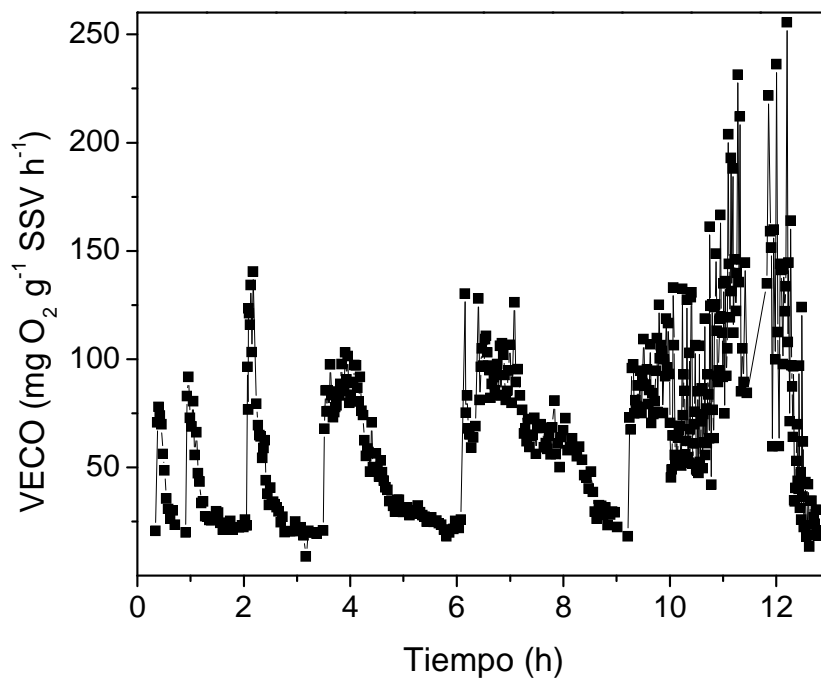


Fig. II.7. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de C-OL a 35°C.

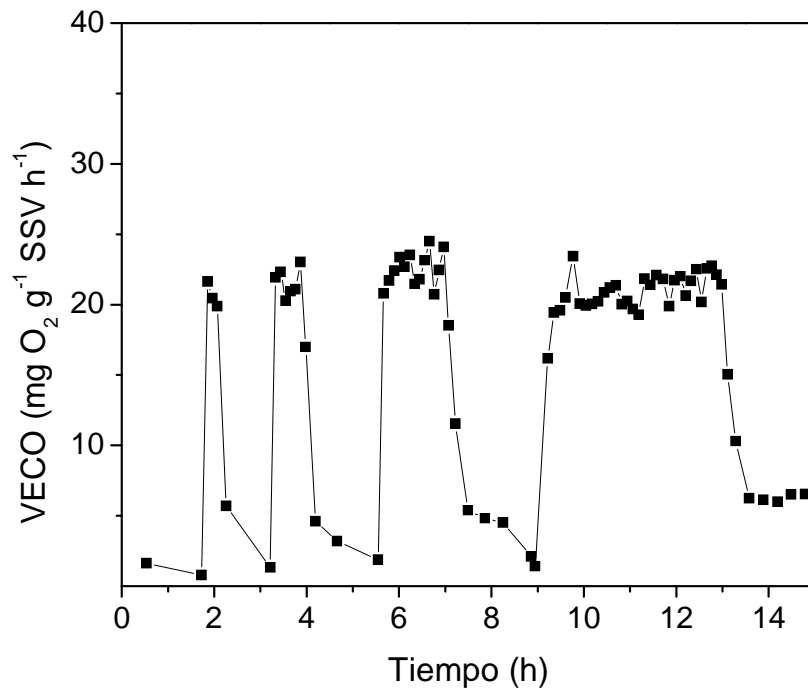


Fig. II.8. Evolución de la VECO para 5, 10, 20 y 50 mg L⁻¹ de C-ONA a 15°C.

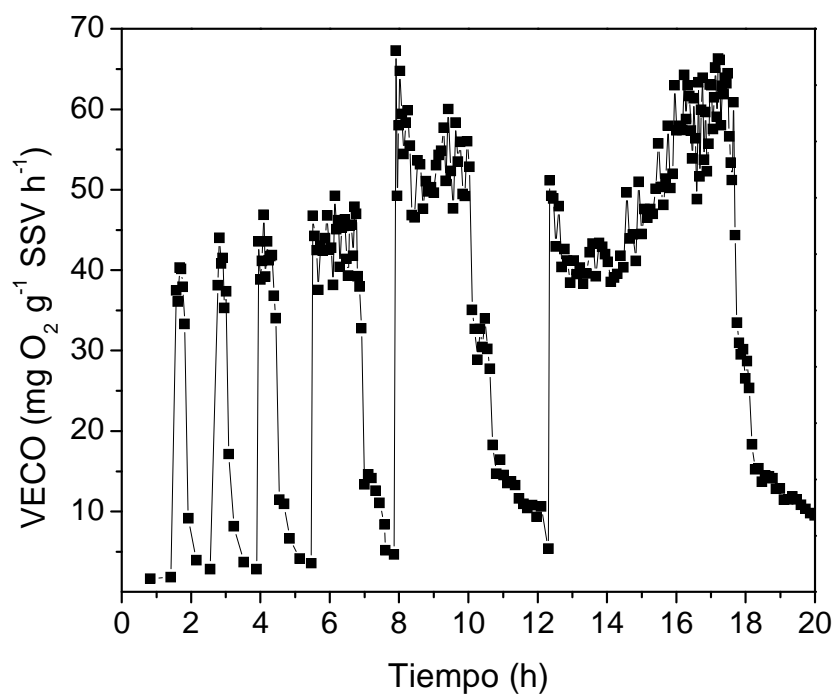


Fig. II.9. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de C-ONA a 20°C.

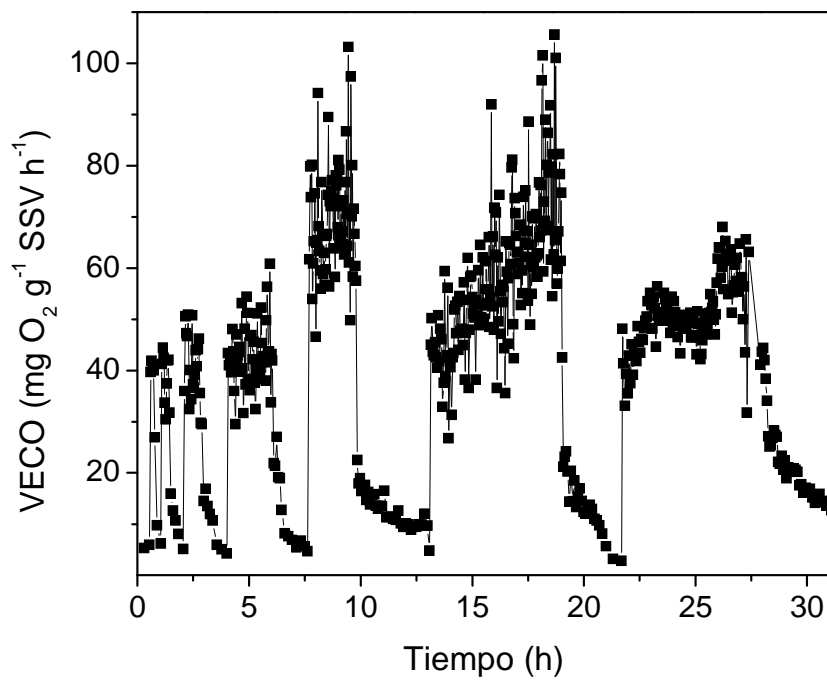


Fig. II.10. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100, 200 y 300 mg L⁻¹ de C-ONA a 25°C.

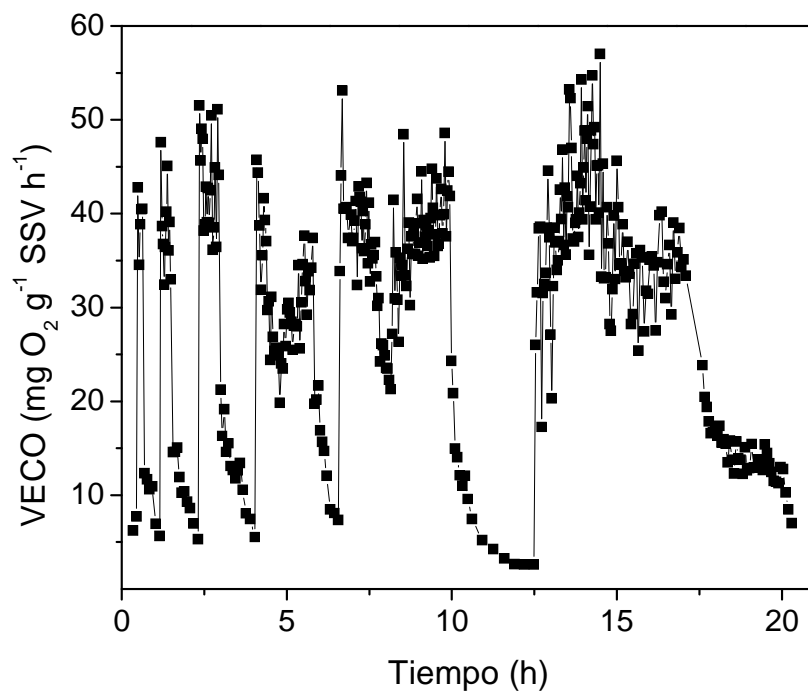


Fig. II.11. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de C-ONA a 30°C.

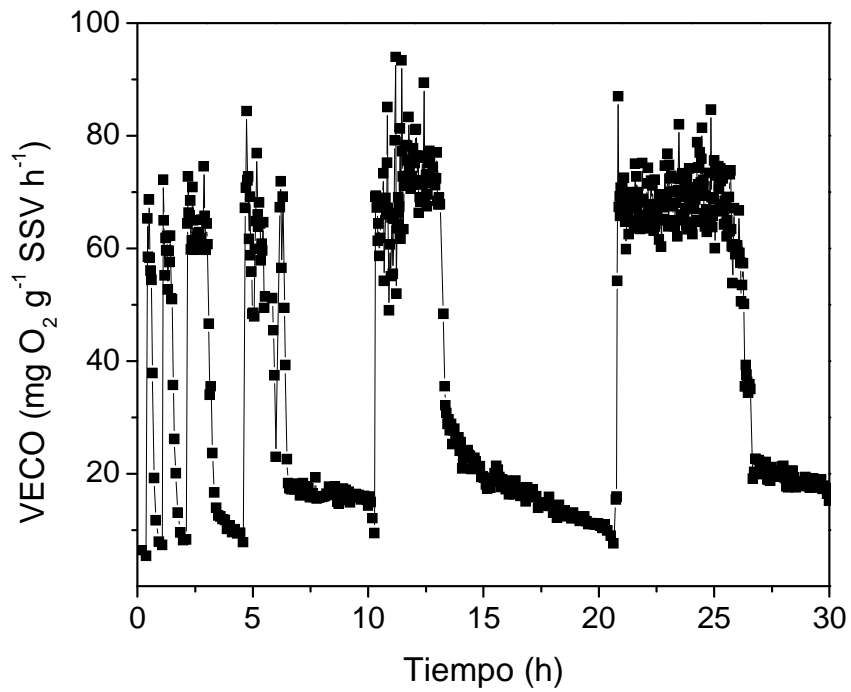


Fig. II.12. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de C-ONA a 35°C.

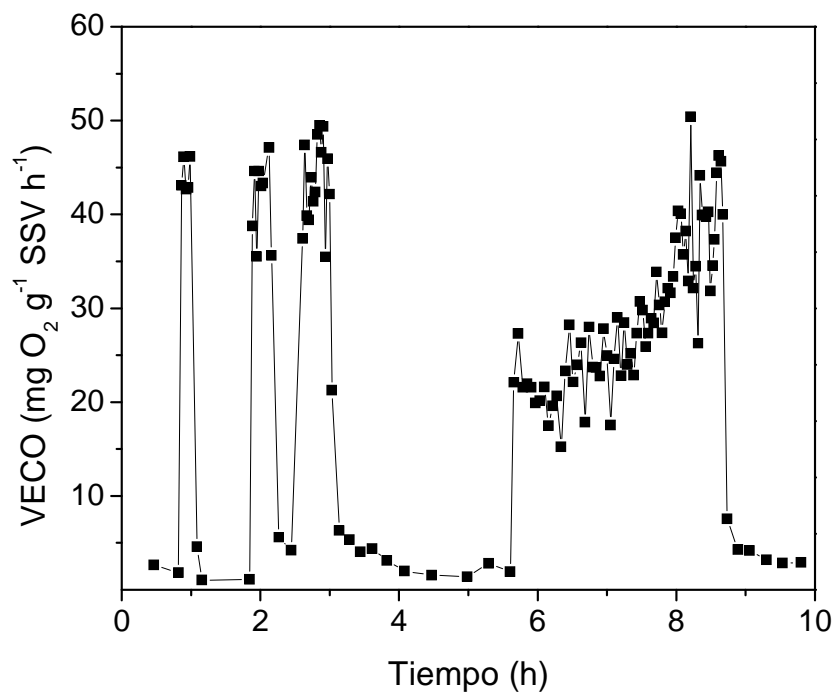


Fig. II.13. Evolución de la VECO para 5, 10, 20 y 50 mg L⁻¹ de fenol a 15°C.

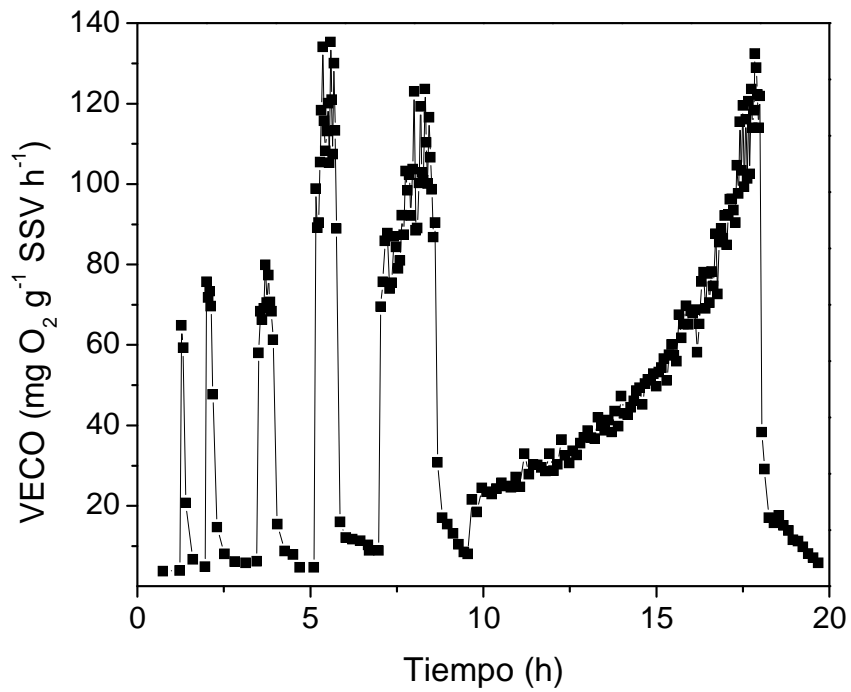


Fig. II.14. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de fenol a 20°C.

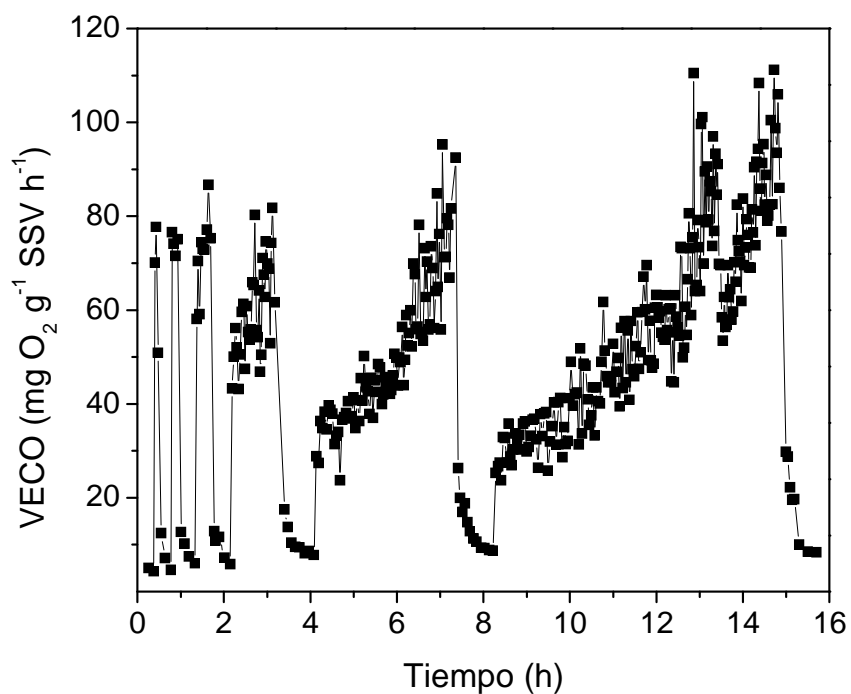


Fig. II.15. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de fenol a 25°C.

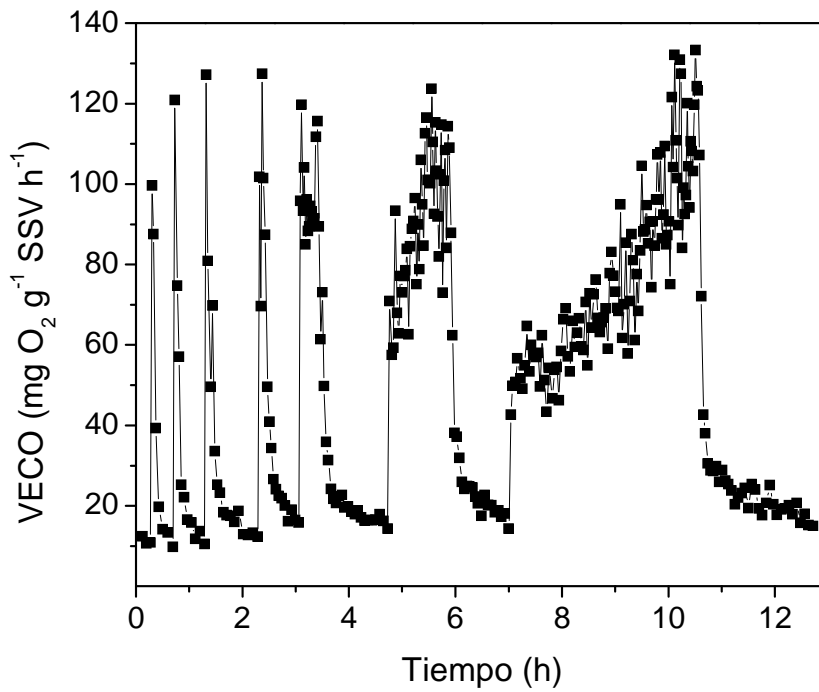


Fig. II.16. Evolución de la VECO para 5, 10, 15, 20, 40, 75 y 150 mg L⁻¹ de fenol a 30°C.

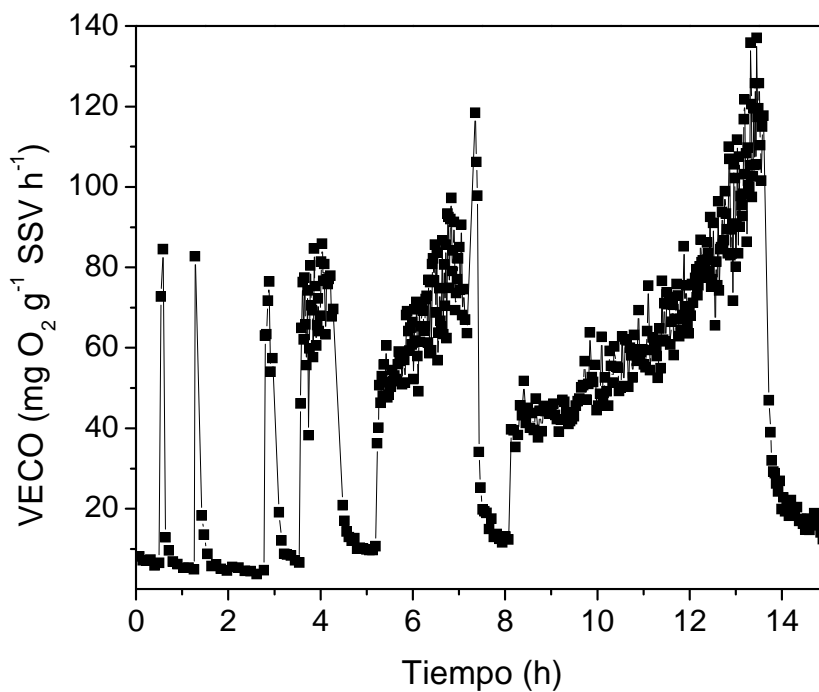


Fig. II.17. Evolución de la VECO para 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de fenol a 35°C.

Diurón
Concentración
SBR
2.4-D
Conversión
Atrazina
MCPA SB-MBR

ANEXO III

Anexo III

Concentraciones de los herbicidas al inicio y final de ciclo y valores de conversión alcanzados en cada ciclo de tratamiento mediante sistemas SBR y SB-MBR

Tabla III.1. Concentración de diurón a inicio y final de ciclo de tratamiento en el reactor SBR y valores de conversión alcanzados en cada ciclo.

Ciclo	C _{inicial} (mg L ⁻¹)	C _{final} (mg L ⁻¹)	X (%)	Ciclo	C _{inicial} (mg L ⁻¹)	C _{final} (mg L ⁻¹)	X (%)
1	5,1	5,1	0,0	95	20,7	18,8	9,2
4	15,6	15,6	0,0	97	20,5	18,5	9,8
7	21,6	21,6	0,2	100	20,4	18,5	9,3
11	25,9	25,9	0,0	102	20,4	18,5	9,2
13	27,2	27,2	0,0	104	20,4	18,6	9,0
14	27,6	27,6	0,1	107	20,7	19,0	8,1
19	28,9	28,9	0,1	109	20,9	19,2	8,2
21	29,2	29,2	0,0	111	21,2	19,6	7,4
22	29,3	29,3	0,1	114	21,7	20,1	7,4
25	29,6	29,5	0,3	116	21,8	20,2	7,5
26	29,6	29,5	0,2	118	21,8	20,2	7,4
27	29,6	29,6	0,0	121	22,2	20,5	7,5
29	29,7	29,6	0,2	123	22,0	20,4	7,5
33	29,7	29,6	0,4	125	21,9	20,4	6,9
34	29,6	29,5	0,4	128	22,0	20,4	7,5
35	29,6	29,0	2,0	130	22,0	20,3	7,6
39	27,5	26,0	5,5	132	21,7	20,1	7,5
41	25,2	23,0	8,6	135	21,8	20,0	8,4
43	24,0	22,5	6,3	137	21,6	19,8	8,3
46	23,0	21,2	7,8	139	21,3	19,0	10,9
48	22,8	21,3	6,5	142	19,5	17,0	12,8
50	22,7	21,2	6,6	144	18,3	15,5	15,5
53	22,6	21,0	7,0	146	17,5	13,8	21,1
55	22,7	21,3	6,2	149	15,8	12,7	19,8
58	22,8	21,3	6,5	151	15,4	12,3	20,2
60	22,7	21,2	6,6	153	14,2	11,0	22,4
62	22,8	21,5	6,0	156	14,2	11,0	22,4
65	23,0	21,5	6,5	158	14,2	11,1	21,7
67	22,8	21,3	6,7	160	14,3	10,8	24,7
69	22,6	21,3	5,7	163	13,7	10,4	23,9
72	22,9	21,7	5,1	165	13,7	10,4	23,9
74	22,9	21,4	6,4	167	14,2	11,0	22,4
76	22,5	20,8	7,6	170	14,2	11,0	22,4
79	22,1	20,4	7,6	172	14,2	11,0	22,4
81	21,9	20,2	7,8	174	14,2	11,0	22,4
83	21,6	20,1	6,9	177	14,2	11,0	22,4
86	21,9	20,3	7,5	179	14,2	11,0	22,4
88	21,9	20,2	7,8	181	14,2	11,0	22,4
90	21,2	19,2	9,3	184	14,2	10,7	24,5
93	20,8	18,9	9,1	186	13,8	10,3	24,9

Tabla III.2. Concentración de atrazina a inicio y final de ciclo de tratamiento en el reactor SBR y valores de conversión alcanzados en cada ciclo.

Ciclo	C _{inicial} (mg L ⁻¹)	C _{final} (mg L ⁻¹)	X (%)	Ciclo	C _{inicial} (mg L ⁻¹)	C _{final} (mg L ⁻¹)	X (%)
1	5,0	5,0	0,1	91	23,4	22,2	5,2
4	15,5	15,5	0,2	95	23,5	22,2	5,5
5	17,9	17,9	0,1	97	22,0	20,3	7,7
7	21,6	21,6	0,0	98	21,9	20,2	7,8
11	25,9	25,9	0,0	101	21,7	19,8	8,6
13	27,1	27,1	0,0	103	21,3	19,4	9,1
14	27,6	27,6	0,1	105	21,0	19,1	9,0
17	28,6	28,6	0,0	108	20,7	18,8	9,3
19	29,0	29,0	0,0	110	20,6	18,7	9,4
21	29,3	29,3	0,0	112	20,5	18,6	9,4
22	29,4	29,4	0,1	115	20,6	18,8	8,9
25	29,7	29,6	0,2	117	20,7	19,0	8,1
26	29,7	29,6	0,2	119	20,6	18,5	10,3
27	29,7	29,6	0,4	122	20,4	18,4	9,5
29	29,6	29,0	2,0	124	20,3	18,6	8,5
32	29,2	28,0	4,0	126	20,3	18,0	11,1
33	28,3	26,7	5,8	129	20,2	18,2	9,6
34	27,3	26,0	4,6	130	20,2	18,3	9,4
35	26,7	25,6	4,0	131	20,3	17,6	13,1
39	25,0	24,8	0,8	133	19,6	17,4	11,1
40	25,7	24,0	6,5	136	19,2	16,8	12,3
42	25,0	24,0	4,0	138	18,8	16,4	12,9
46	24,9	23,8	4,3	140	18,5	14,6	21,1
47	24,8	23,0	7,4	143	15,8	12,8	19,2
49	24,1	22,8	5,3	145	15,5	12,4	20,0
53	23,8	22,5	5,6	147	15,0	11,8	21,3
54	23,8	22,3	6,1	150	14,7	11,5	21,6
56	23,5	22,2	5,7	152	14,5	11,4	21,6
60	22,9	21,4	6,6	154	13,3	10,6	20,5
61	22,8	21,6	5,4	157	13,7	10,3	24,6
63	23,1	21,8	5,6	159	13,4	10,0	25,5
67	23,2	21,8	5,9	161	13,2	9,2	30,1
68	23,2	21,8	5,9	164	12,3	8,6	30,3
70	23,3	22,6	3,1	166	12,1	8,4	30,5
71	23,8	22,7	5,0	168	11,7	7,8	33,1
74	24,0	22,8	4,8	171	11,5	7,8	32,2
75	24,0	21,2	11,7	173	11,5	7,8	32,6
77	22,7	21,2	6,5	175	11,4	7,7	33,0
81	22,7	21,2	6,5	178	11,3	7,5	33,6
82	22,7	21,0	7,4	180	11,2	7,4	34,3
84	22,3	20,6	7,8	182	11,0	7,2	34,8
88	23,3	22,0	5,7	185	10,9	7,1	35,4
89	23,3	22,0	5,7	186	10,9	7,0	35,6

Tabla III.3. Concentración de MCPA a inicio y final de ciclo de tratamiento en el reactor SBR y valores de conversión alcanzados en cada ciclo.

Ciclo	C _{inicial} (mg L ⁻¹)	C _{final} (mg L ⁻¹)	X (%)	Ciclo	C _{inicial} (mg L ⁻¹)	C _{final} (mg L ⁻¹)	X (%)
1	8,4	8,3	0,8	57	23,5	17,4	26,0
2	15,3	15,2	0,5	59	21,5	14,6	32,1
4	25,7	25,2	1,8	63	20,4	14,6	28,5
7	34,6	32,5	6,0	64	20,5	14,2	30,7
9	35,1	32,0	8,8	65	20,2	13,0	35,5
13	35,6	33,0	7,3	69	20,0	14,4	28,0
14	35,8	32,0	10,7	70	20,3	15,4	24,3
16	34,2	30,5	10,7	72	20,8	14,8	28,7
20	34,0	31,0	8,8	76	19,9	13,6	31,7
21	34,2	30,5	10,7	79	19,0	12,0	36,8
23	33,9	31,0	8,5	80	18,3	11,9	35,1
27	33,8	30,5	9,6	81	18,3	11,8	35,6
28	33,8	28,0	17,0	82	18,1	11,7	35,4
29	31,7	23,8	24,8	83	18,1	11,6	35,9
31	27,3	21,6	20,7	84	18,0	10,8	40,0
34	26,6	22,2	16,5	86	17,1	10,2	40,3
35	26,8	20,2	24,7	90	16,8	10,0	40,3
37	24,1	17,0	29,4	91	16,7	9,4	43,6
41	22,1	16,0	27,5	93	15,8	8,6	45,7
42	21,7	16,4	24,3	97	15,8	9,2	41,6
44	21,5	14,6	32,1	98	16,0	9,2	42,5
47	20,7	14,8	28,6	100	15,7	8,6	45,1
49	20,6	14,8	28,2	104	15,5	8,6	44,6
51	21,3	16,6	21,9	105	15,5	8,2	47,1
52	22,2	15,6	29,6	107	14,8	7,0	52,8
55	21,4	15,8	26,2	111	14,4	7,4	48,7
56	21,5	18,2	15,3	112	14,5	6,8	53,1

Tabla III.4. Concentración de 2,4-D a inicio y final de ciclo de tratamiento en el reactor SBR y valores de conversión alcanzados en cada ciclo.

Ciclo	C _{inicial} (mg L ⁻¹)	C _{final} (mg L ⁻¹)	X (%)	Ciclo	C _{inicial} (mg L ⁻¹)	C _{final} (mg L ⁻¹)	X (%)
1	8,3	8,3	0,1	65	30,3	26,2	13,4
3	21,1	21,1	0,0	68	30,0	25,9	13,7
5	29,9	29,9	0,1	72	29,4	25,0	15,0
8	38,4	38,4	0,0	73	29,2	25,5	12,6
10	41,9	41,9	0,2	75	29,5	25,3	14,1
12	44,4	44,4	0,0	79	29,9	24,8	17,1
15	46,8	46,7	0,1	80	29,0	24,0	17,2
17	47,5	47,2	0,7	83	28,1	23,7	15,9
19	47,6	47,2	1,0	86	27,9	23,5	15,8
23	47,7	47,3	0,8	87	27,9	23,0	17,6
24	47,8	47,7	0,2	90	27,5	22,8	17,1
26	48,0	47,7	0,8	94	27,1	22,4	17,3
30	45,8	44,7	2,5	97	26,7	22,3	16,4
31	45,6	42,0	7,8	100	25,8	20,0	22,6
33	42,9	40,7	5,2	103	24,4	19,0	22,2
35	42,1	40,6	3,5	105	23,9	18,5	22,6
38	42,2	40,7	3,6	108	23,5	18,0	23,3
40	41,4	39,0	5,8	109	23,3	17,0	27,1
43	39,2	36,0	8,1	110	22,5	15,3	31,9
45	37,5	34,5	8,0	114	20,8	14,8	28,7
47	36,7	33,5	8,6	115	20,7	14,3	30,6
50	35,4	32,0	9,6	118	17,0	9,0	47,1
52	34,6	31,0	10,4	120	16,3	8,0	51,0
54	33,8	30,7	9,0	122	15,3	7,0	54,3
56	33,3	29,5	11,5	125	13,3	6,5	51,6
58	32,5	28,5	12,3	127	12,5	4,6	63,5
59	32,1	28,6	10,9	129	11,7	3,7	68,3
61	31,7	27,0	14,7	132	11,3	3,7	67,4
63	30,8	26,5	13,8	135	10,7	2,5	76,6

Tabla III.5. Concentración de 2,4-D a inicio y final de ciclo de tratamiento en el reactor SB-MBR y valores de conversión alcanzados en cada ciclo.

Ciclo	C _{inicial} (mg L ⁻¹)	C _{final} (mg L ⁻¹)	X (%)	Ciclo	C _{inicial} (mg L ⁻¹)	C _{final} (mg L ⁻¹)	X (%)
1	8,3	8,3	0,0	92	17,5	16,7	4,8
2	15,3	15,3	0,0	95	33,3	29,7	11,0
3	21,1	21,1	0,0	96	41,4	38,0	8,2
4	25,9	25,9	0,1	98	54,2	48,7	10,2
5	29,9	29,9	0,0	101	60,0	54,0	10,0
6	33,3	33,3	0,1	103	62,9	57,0	9,4
7	36,0	36,0	0,0	105	66,7	62,7	6,0
8	38,4	38,4	0,2	109	63,3	55,3	12,6
9	40,3	40,3	0,0	110	62,8	46,0	26,7
10	41,9	41,9	0,1	112	54,6	45,0	17,6
11	43,3	43,3	0,2	116	50,8	40,0	21,3
12	44,4	43,5	2,0	117	50,0	38,2	23,6
14	43,3	41,3	4,6	119	47,9	37,0	22,8
18	40,0	37,3	6,7	123	45,0	33,0	26,7
19	39,4	33,3	15,5	124	44,2	30,0	32,1
21	35,6	32,3	9,1	126	40,8	28,0	31,4
25	34,8	31,7	9,0	130	37,9	25,0	34,1
26	34,7	30,0	13,6	131	37,5	24,0	36,0
28	32,9	29,0	11,9	133	36,3	23,0	36,6
32	32,9	29,7	9,9	137	34,6	21,0	39,3
33	33,1	28,3	14,3	138	34,2	13,0	62,0
35	32,0	28,5	10,9	140	25,0	7,0	72,0
39	31,8	28,0	11,8	144	18,3	0,0	100,0
40	31,7	28,2	10,9	145	16,7	0,7	96,0
42	31,6	27,5	12,9	148	17,3	0,8	95,3
45	31,5	28,0	11,1	150	17,4	0,9	95,0
46	31,7	27,6	12,8				
49	31,5	28,0	11,1				
53	31,7	27,9	11,9				
54	31,6	27,8	12,0				
56	31,4	27,5	12,4				
57	31,3	27,3	12,5				
60	30,0	25,3	15,7				
61	29,4	24,0	18,4				
63	27,5	22,0	20,0				
67	25,8	20,7	20,0				
68	25,6	16,0	37,4				
73	18,3	11,5	37,3				
75	17,7	11,0	37,9				
77	15,7	7,6	51,5				
78	14,7	2,7	81,8				
81	9,2	0,7	92,7				
82	8,9	1,3	85,0				
83	9,4	1,4	85,1				
85	9,4	1,0	89,4				
89	9,2	1,3	85,5				
90	9,2	1,0	89,1				

COT Diurón
AlaCloro VECO
Biodegradabilidad Rápida
2.4-D
Fenton MCPA
Atrazina

ANEXO IV

Anexo IV

Ensayos de biodegradabilidad rápida realizados con los efluentes de oxidación Fenton de los herbicidas estudiados

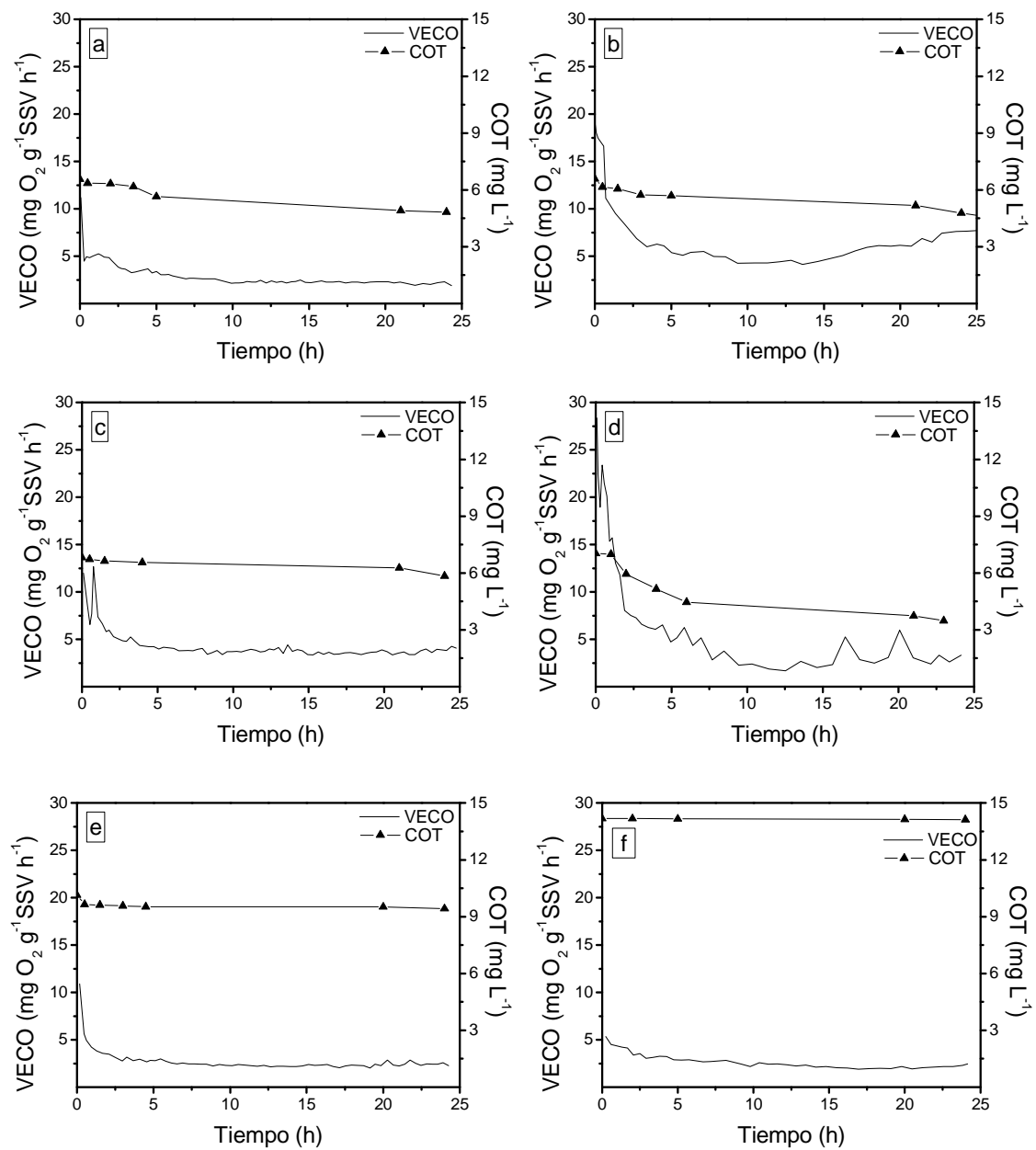


Fig. IV.1. Evolución de VECO y COT registrada en 24 h para las diferentes concentraciones iniciales ensayadas de H₂O₂ (del 100% al 20% de la dosis estequiométrica, a-e) y para el diurón sin tratar (f).

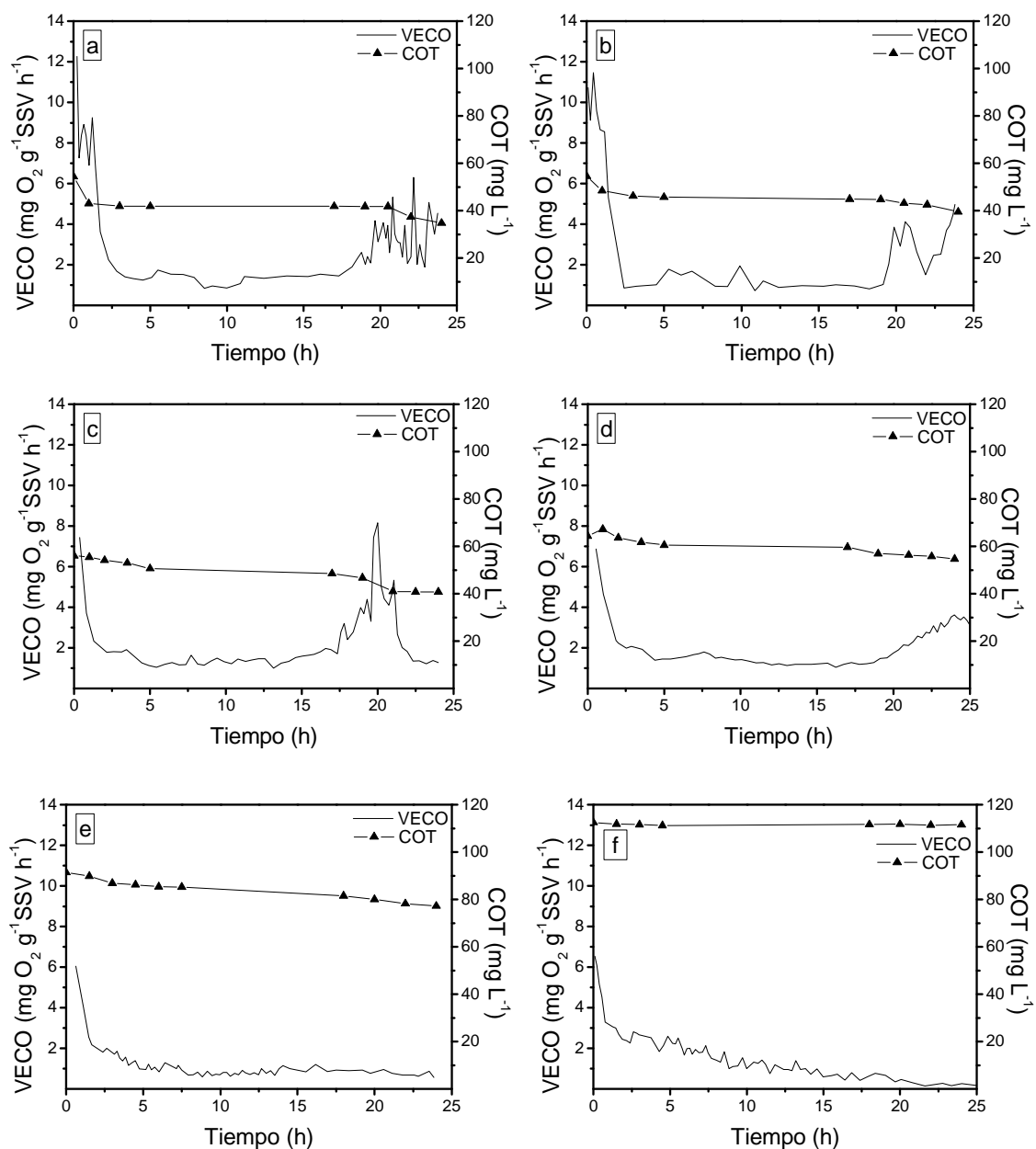


Fig. IV.2. Evolución de VECO y COT registrada en 24 h para las diferentes concentraciones iniciales ensayadas de H₂O₂ (del 100% al 20% de la dosis estequiométrica, a-e) y para el alacloro sin tratar (f).

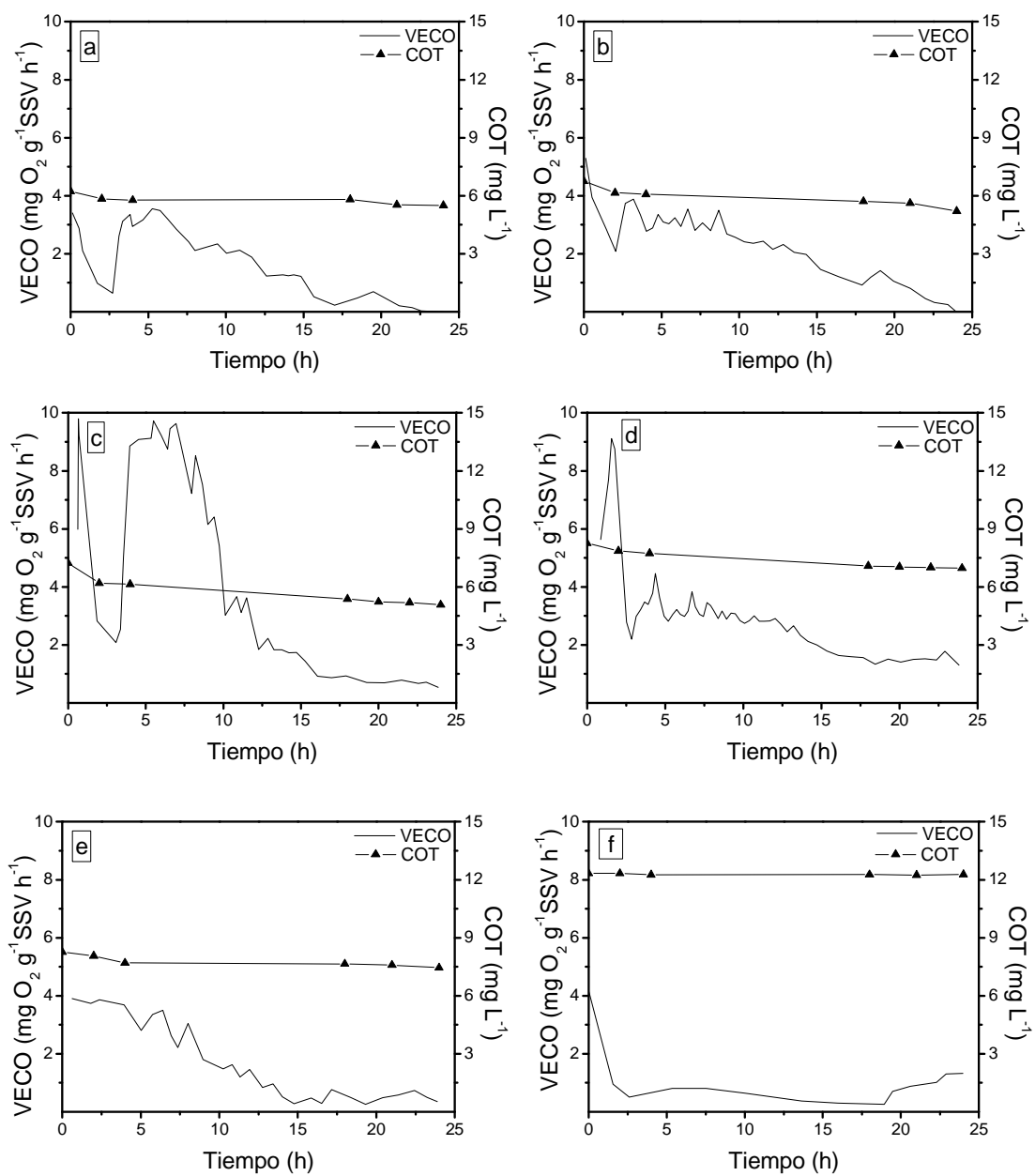


Fig. IV.3. Evolución de VECO y COT registrada en 24 h para las diferentes concentraciones iniciales ensayadas de H₂O₂ (del 100% al 20% de la dosis estequiométrica, a-e) y para la atrazina sin tratar (f).

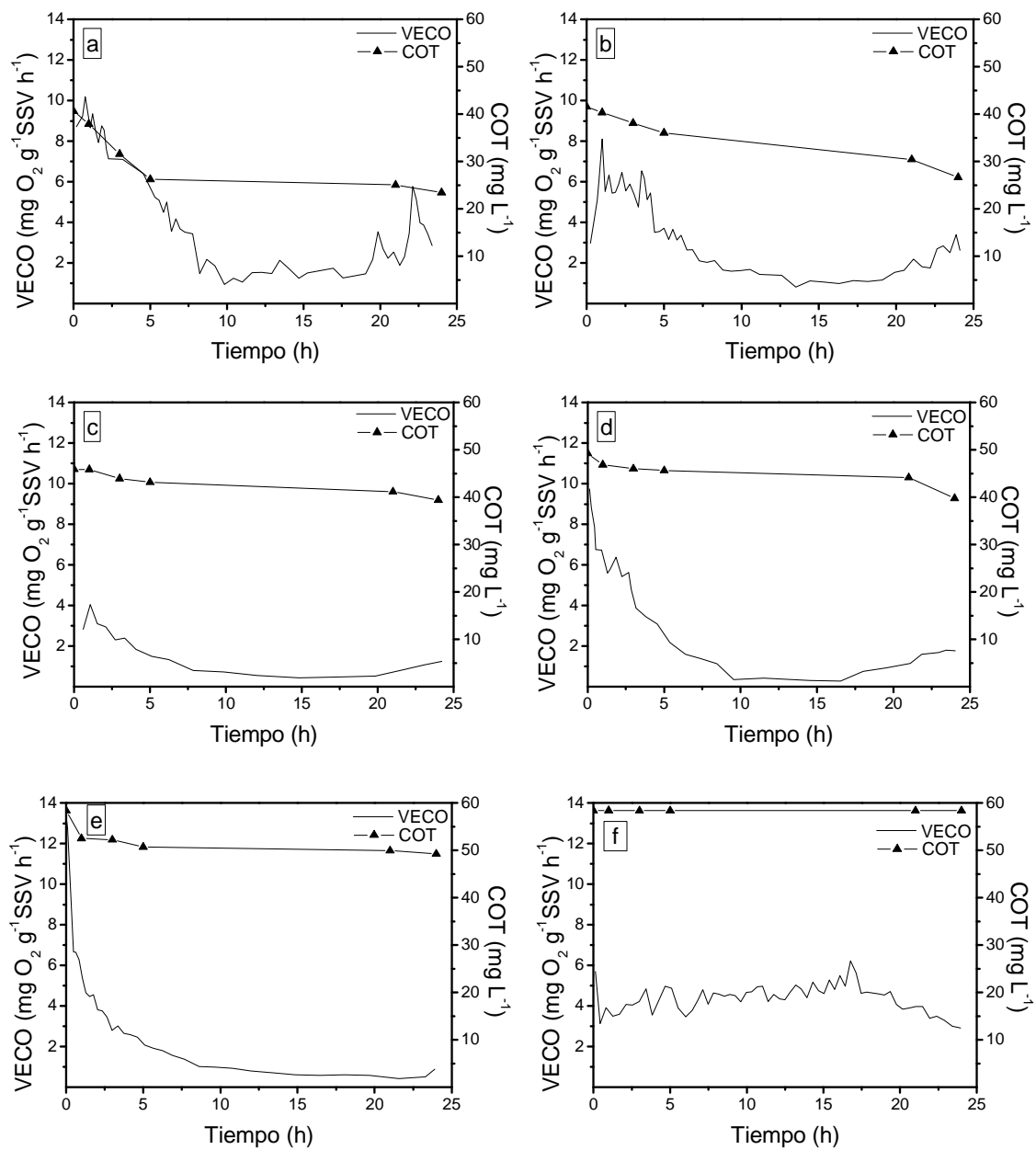


Fig. IV.4. Evolución de VECO y COT registrada en 24 h para las diferentes concentraciones iniciales ensayadas de H₂O₂ (del 100% al 20% de la dosis estequiométrica, a-e) y para el 2,4-D sin tratar (f).

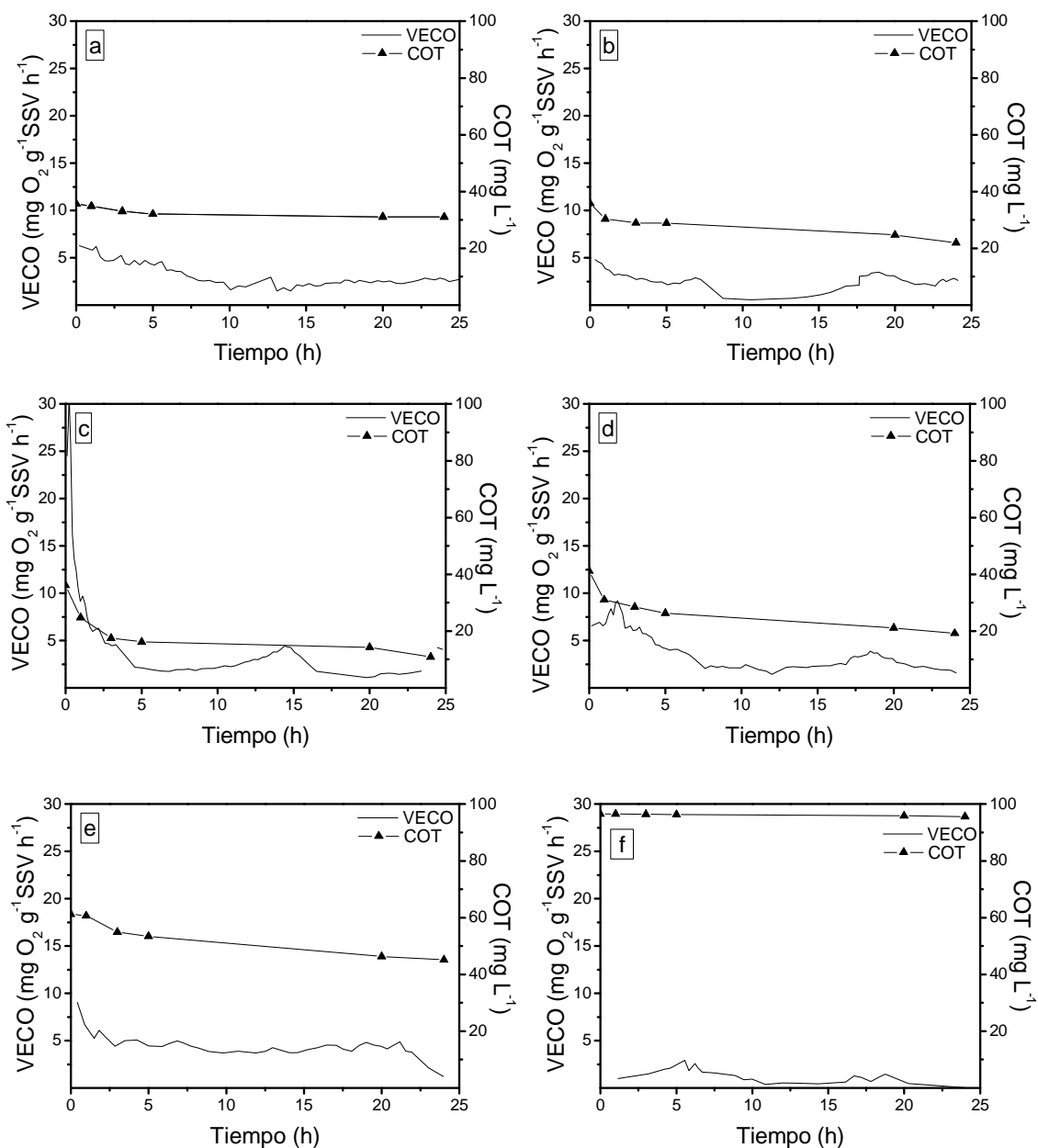


Fig. IV.5. Evolución de VECO y COT registrada en 24 h para las diferentes concentraciones iniciales ensayadas de H₂O₂ (del 100% al 20% de la dosis estequiométrica, a-e) y para el MCPA sin tratar (f).

SBR
Fenton
Alacloro
Conversión
Atrazina
MCPA
COT
Proceso Combinado
NDQO
Diurón
4-D

ANEXO V

Anexo V

Valores de conversión obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de herbicidas

Tabla V.1. Valores de conversión de DQO obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de diurón.

Fenton			SBR				X _{proceso} (%)
DQO _i (mg L ⁻¹)	DQO _f (mg L ⁻¹)	X _{Fenton} (%)	Ciclo	DQO _i (mg L ⁻¹)	DQO _f (mg L ⁻¹)	X _{SBR} (%)	
48,2	25,8	46,5	1	25,8	12,8	50,4	73,4
			2	21,5	12,8	40,4	73,4
			3	21,5	14,4	32,9	70,1
			4	22,0	12,8	41,8	73,4
			5	21,5	12,8	40,4	73,4
			6	21,5	9,6	55,3	80,1
			7	20,4	11,2	45,1	76,8
			8	20,9	16,0	23,6	66,8
			9	22,5	14,4	36,1	70,1
			10	22,0	17,6	20,0	63,5
			11	23,1	19,2	16,8	60,2
			12	23,6	20,8	11,9	56,8

Tabla V.2. Valores de conversión de COT obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de diurón.

Fenton			SBR				X _{proceso} (%)
COT _i (mg L ⁻¹)	COT _f (mg L ⁻¹)	X _{Fenton} (%)	Ciclo	COT _i (mg L ⁻¹)	COT _f (mg L ⁻¹)	X _{SBR} (%)	
12,7	7,0	44,9	1	8,0	4,4	45,0	65,4
			2	6,1	3,5	42,9	72,4
			3	5,8	4,0	31,4	68,5
			4	6,0	4,2	30,0	66,9
			5	6,1	4,2	30,8	66,9
			6	6,1	4,0	34,1	68,5
			7	6,0	4,5	25,0	64,6
			8	6,2	5,0	18,9	60,6
			9	6,3	4,8	24,2	62,2
			10	6,3	5,1	18,6	59,8
			11	6,4	5,5	13,6	56,7
			12	6,5	5,6	13,8	55,9

Tabla V.3. Valores de conversión de DQO obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de alacloro.

Fenton			SBR				X _{proceso} (%)
DQO _i (mg L ⁻¹)	DQO _f (mg L ⁻¹)	X _{Fenton} (%)	Ciclo	DQO _i (mg L ⁻¹)	DQO _f (mg L ⁻¹)	X _{SBR} (%)	
406,1	153,6	62,2	1	98,0	57,6	41,2	85,8
			2	117,2	54,4	53,6	86,6
			3	116,1	55,6	52,1	86,3
			4	116,5	50,4	56,7	87,6
			5	114,8	48,6	57,7	88,0
			6	114,2	48,0	58,0	88,2

Tabla V.4. Valores de conversión de COT obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de alacloro.

Fenton			SBR				X _{proceso} (%)
COT _i (mg L ⁻¹)	COT _f (mg L ⁻¹)	X _{Fenton} (%)	Ciclo	COT _i (mg L ⁻¹)	COT _f (mg L ⁻¹)	X _{SBR} (%)	
112,2	54,6	51,3	1	34,2	22,2	35,1	80,2
			2	51,3	26,3	48,7	76,6
			3	52,7	24,0	54,5	78,6
			4	51,9	21,2	59,2	81,1
			5	51,0	20,4	60,0	81,8
			6	50,7	20,5	59,6	81,7

Tabla V.5. Valores de conversión de DQO obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de atrazina.

Fenton			SBR				X _{proceso} (%)
DQO _i (mg L ⁻¹)	DQO _f (mg L ⁻¹)	X _{Fenton} (%)	Ciclo	DQO _i (mg L ⁻¹)	DQO _f (mg L ⁻¹)	X _{SBR} (%)	
70,2	29,6	57,8	1	28,8	17,6	38,9	74,9
			2	25,6	12,8	50,0	81,8
			3	24,0	11,2	53,3	84,0
			4	23,5	14,4	38,6	79,5
			5	24,5	14,4	41,3	79,5
			6	24,5	16,0	34,8	77,2
			7	25,1	12,8	48,9	81,8
			8	24,0	16,0	33,3	77,2
			9	25,1	17,6	29,8	74,9
			10	25,6	20,8	18,8	70,4
			11	26,7	19,2	28,0	72,6
			12	26,1	17,6	32,7	74,9

Tabla V.6. Valores de conversión de COT obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de atrazina.

Fenton			SBR				X _{proceso} (%)
COT _i (mg L ⁻¹)	COT _f (mg L ⁻¹)	X _{Fenton} (%)	Ciclo	COT _i (mg L ⁻¹)	COT _f (mg L ⁻¹)	X _{SBR} (%)	
12,0	7,2	40,0	1	8,3	5,0	39,8	58,3
			2	6,5	3,7	42,8	69,2
			3	6,0	3,5	42,0	70,8
			4	6,0	4,0	33,0	66,7
			5	6,1	4,1	33,2	65,8
			6	6,2	4,8	22,2	60,0
			7	6,4	3,8	40,6	68,3
			8	6,1	4,7	22,5	60,8
			9	6,4	4,9	23,0	59,2
			10	6,4	5,1	20,7	57,5
			11	6,5	5,0	23,1	58,3
			12	6,5	4,9	24,2	59,2

Tabla V.7. Valores de conversión de DQO obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de 2,4-D.

Fenton			SBR				X _{proceso} (%)
DQO _i (mg L ⁻¹)	DQO _f (mg L ⁻¹)	X _{Fenton} (%)	Ciclo	DQO _i (mg L ⁻¹)	DQO _f (mg L ⁻¹)	X _{SBR} (%)	
195,5	107,0	45,3	1	89,6	40,1	55,2	79,5
			2	87,5	41,0	53,1	79,0
			3	88,5	40,0	54,8	79,5
			4	87,5	38,5	56,0	80,3
			5	87,5	32,4	63,0	83,4
			6	83,3	26,0	68,8	86,7
			7	81,2	19,2	76,4	90,2
			8	78,9	20,1	74,5	89,7
			9	80,0	21,3	73,4	89,1
			10	81,1	21,0	74,1	86,9
			11	81,1	18,9	76,7	88,5
			12	80,0	15,6	80,5	90,2

Tabla V.8. Valores de conversión de COT obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de 2,4-D.

Fenton			SBR				X _{proceso} (%)
COT _i (mg L ⁻¹)	COT _f (mg L ⁻¹)	X _{Fenton} (%)	Ciclo	COT _i (mg L ⁻¹)	COT _f (mg L ⁻¹)	X _{SBR} (%)	
78,2	41,6	46,8	1	33,2	17,5	47,3	77,6
			2	33,6	18,8	44,0	76,0
			3	34,0	17,5	48,5	77,6
			4	33,6	17,3	48,5	77,9
			5	33,5	13,4	60,0	82,9
			6	32,2	11,0	65,8	85,9
			7	31,4	8,1	74,2	89,6
			8	30,4	8,8	71,1	88,7
			9	30,7	9,9	67,7	87,3
			10	31,0	9,9	68,1	87,3
			11	31,0	8,7	72,0	88,9
			12	30,6	7,6	75,2	90,3

Tabla V.9. Valores de conversión de DQO obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de MCPA.

Fenton			SBR				X _{proceso} (%)
DQO _i (mg L ⁻¹)	DQO _f (mg L ⁻¹)	X _{Fenton} (%)	Ciclo	DQO _i (mg L ⁻¹)	DQO _f (mg L ⁻¹)	X _{SBR} (%)	
272,9	67,2	75,4	1	89,6	44,8	50,0	83,6
			2	100,3	32,0	68,1	88,3
			3	96,0	32,0	66,7	88,3
			4	96,0	35,2	63,3	87,1
			5	97,1	35,2	63,7	87,1
			6	97,1	28,8	70,3	89,4
			7	94,9	30,6	67,8	88,8
			8	95,5	41,2	56,9	84,9
			9	99,1	41,6	58,0	84,8
			10	99,2	44,8	54,8	83,6
			11	100,3	41,6	58,5	84,8
			12	99,2	41,6	58,1	84,8

Tabla V.10. Valores de conversión de COT obtenidos para el proceso Fenton y el sistema biológico de manera individual y conversión total del proceso en el tratamiento combinado de MCPA.

Fenton			SBR				X _{proceso} (%)
COT _i (mg L ⁻¹)	COT _f (mg L ⁻¹)	X _{Fenton} (%)	Ciclo	COT _i (mg L ⁻¹)	COT _f (mg L ⁻¹)	X _{SBR} (%)	
97,0	36,1	62,8	1	34,3	16,5	51,9	83,0
			2	31,6	16,1	49,1	83,4
			3	31,5	17,2	45,4	82,3
			4	31,9	20,8	34,8	78,5
			5	33,1	16,9	48,9	82,6
			6	31,8	16,8	47,2	82,7
			7	31,7	16,4	48,3	83,1
			8	31,6	19,4	38,6	80,0
			9	32,6	17,3	46,9	82,2
			10	31,9	14,8	53,6	84,7
			11	31,1	17,1	45,0	82,4
			12	31,8	16,2	49,1	83,3



FACULTAD DE
CIENCIAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

Sección
Ingeniería Química

