



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

Remoción del disruptor endócrino
Nonilfenol Polietoxilado de aguas
residuales empleando sistemas
combinados
(Biológicos y Fisicoquímicos)

Tesis de Doctorado

Tatiana S. Arturi

Presentada ante la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata como
requisito para la obtención del grado académico de
DOCTOR EN INGENIERÍA

Director: Dr. Edgardo Contreras
Codirector: Dra. Noemi Zaritzky

Jurados de Tesis:
Dr. Gustavo Curuchet
Dr. Jorge Sambeth
Dr. Jorge Froilán Gonzalez

Fecha de la defensa oral y pública: 24 de octubre de 2018

*Esta tesis está dedicada a Juan, compañero y amor de mi vida
y al fruto de nuestro amor, Ema
Gracias por recorrer este camino conmigo.*

Agradecimientos

En este espacio quisiera expresar mi agradecimiento a quienes me han acompañado y participado, en forma directa o indirecta, en el desarrollo de mi tesis.

A mis directores, Mimi y Edgardo, por sus enseñanzas y por brindarme su tiempo para el desarrollo de la tesis.

A los integrantes del CIDCA, en especial a Cintia, Juacito, Ale, Martin, Nati, Leo y Juanito por su apoyo y aliento durante el desarrollo de mi tesis, por las horas compartidas, las charlas, las risas y los mates.

A mis compañeras de oficina, Alicia y Sonia, por preocuparse siempre por mí, por sus consejos y sus charlas. Gracias Ali por alentarme cuando estaba por darme por vencida.

A Vero Sosio, profe de la catedr  de Aguas, por su apoyo incondicional y sobre todo por su amistad.

A Claudio Reyes por su contribución en los innumerables ensayos en HPLC. Gracias por tu paciencia y las divertidas charlas que compartimos.

A los integrantes del IZTECH, en especial a Esra, Cana y G k en, por hacerme sentir como en casa a 13.000 km de distancia y enseñarme las maravillas de la cultura Turca.

Al CONICET, por haberme permitido dedicarme exclusivamente a la realización de este trabajo de Tesis.

A la Facultad de Ingeniería por abrirme sus puertas y hacerme parte de esta hermosa institución, en la cual espero seguir contribuyendo y trabajando con el mismo entusiasmo de siempre.

A mis papás, mis hermanos, mi madrina, mi familia de Trenque y mis sobrinos, porque me acompañan en todos los aspectos de mi vida.

A mis hermanas del alma, Sof , Clarita, Maru, Toia y Anto porque siempre están conmigo en las buenas y en las mala, desde siempre.

A mis amigas Caro, Mili, Mari, Ani, Stefa y Flor, por acompañarme siempre con alegría y mucho cariño.

A mi familia, Juancho y Ema, por su inmenso amor, sin ustedes nada tendría sentido, gracias infinitas.

MUCHAS GRACIAS A TODOS

Resumen

El agua es un recurso natural escaso e indispensable para la vida humana y el desarrollo sostenible. Muchas de las actividades humanas contribuyen al deterioro del medio ambiente debido a la gran variedad de residuos vertidos en los cuerpos de agua. Algunas de estas sustancias son persistentes y causan serios efectos en la salud durante largo período de tiempo, como ocurre con los disruptores endócrinos (DEs). Los DEs son sustancias exógenas o mezclas que alteran las funciones del sistema endócrino y consecuentemente causa efectos adversos a la salud en un individuo, en su descendencia o en parte de la población, como el deterioro en la capacidad reproductiva, alteraciones en el desarrollo de los órganos genitales, mayor frecuencia de la endometriosis y el cáncer en los órganos que dependen de las hormonas, como es el caso de la mama, de la próstata, del testículo y del ovario.

Dentro de la familia de DEs se encuentran los Nonilfenoles polietoxilados (NPEO_x), surfactantes no iónicos perteneciente al grupo de los Alquilfenoles Polietoxilados, ampliamente utilizado en varias aplicaciones industriales, tales como el procesamiento de textiles y cueros, industria del papel, la formulación de pesticidas, pinturas y limpiadores. Los NPEO_x comerciales son mezclas polidispersas compuestas por una distribución normal de oligómeros del Nonilfenol con un número promedio de unidades de óxido de etileno o unidades etoxiladas (x).

Las plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas e industriales convencionales tienen una capacidad limitada en cuanto a la eliminación de DEs. Estos sistemas se componen de un pretratamiento, tratamiento primario y de un sistema de tratamiento secundario o reactor biológico y son diseñadas para la eliminación de parámetros contaminantes tales como DBO, DQO, sólidos suspendidos o nutrientes. En consecuencia, los residuos de DEs ingresan al ecosistema acuático a través de efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales por lo que es necesario contemplar la combinación de varios procesos de tratamiento para su remoción.

En este trabajo de tesis se estudió la remoción de tres mezclas comerciales de NPEO_x con x= 5, 9 y 12 denominadas NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}, respectivamente del agua residual por combinación de los procesos de oxidación biológica en reactores de barros activados y procesos fisicoquímicos de adsorción, a fin de conseguir la completa eliminación de este contaminante.

Cada una de estas mezclas comerciales estaba constituida por una distribución normal de oligómeros (NPEO_i), donde el oligómero con unidades etoxiladas igual al promedio de la mezcla era el mayoritario (NPEO_5 , NPEO_9 y NPEO_{12}). Para la determinación cuantitativa de los oligómeros presentes en las muestras se desarrolló un método de HPLC-UV. El método permitió una separación parcial de los oligómeros usando una columna C_8 y fase móvil $\text{AcN}/\text{H}_2\text{O}$ en el modo isocrático. Comprobando que muestras de mezclas comerciales ensayados concordaban con la distribución de Poisson y que la absorción molar de cada NPEO_i no dependía del número de unidades etoxiladas (i) se estableció una metodología para la determinación de la distribución del tamaño molecular de NPEO_i en muestras con una distribución desconocida. La metodología propuesta se comprobó utilizando mezclas comerciales preparadas y en todos los casos el error absoluto fue de menos de 5% de la concentración real.

Durante el tratamiento biológico de barros activados no se observó la total eliminación o mineralización del NPEO_x ; se estableció que el mecanismo de biodegradación era a través de acortamiento secuencial de la cadena de etoxilos, los cuales eran la verdadera fuente de carbono para el crecimiento bacteriano, seguido de la adsorción de los NPEO_x de cadena corta a la biomasa. Se observó una eficiencia de remoción de los oligómeros con $i \geq 5$ cercana al 100%, mientras que los NPEO_i de cadena corta generados por despolimerización se acumulaban sobre la biomasa, principalmente como NPEO_2 (57%), NPEO_3 (22%) y NPEO_4 (11%). Este mecanismo de degradación conduce a la acumulación de productos de degradación más lipofílicos y persistentes que los que le dieron origen.

Se estudió el proceso de aclimatación del consorcio microbiano para utilizar NPEO_x como única fuente de carbono partiendo de inóculos de distinta procedencia y se analizaron las comunidades bacterianas implicadas en la biodegradación. La técnica de respirometría intermitente permitió determinar la velocidad de consumo de oxígeno como indicador de la actividad de microorganismos aerobios y el modelado matemático de la cinética de biodegradación, ensayando diferentes concentraciones iniciales del contaminante, permitió predecir el comportamiento del consorcio microbiano. Los resultados indicaron la existencia de un efecto tóxico para la biomasa que metabolizaba NPEO_x .

Por otro lado, se estudió la capacidad del carbón activado y del lignito, como una alternativa de adsorbente económico, para remover NPEO_x . Se realizaron mediciones de

la tensión superficial de mezclas de NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12} para determinar el área por molécula y la concentración micelar crítica (CMC) de cada surfactante. Para caracterizar los adsorbentes se determinaron las isothermas de adsorción y desorción, medición de porosidad y área superficial empleando el método BET; se determinó la distribución de tamaño de partículas por dispersión de luz dinámica (DLS) y por microscopía electrónica de barrido (SEM), además se realizaron análisis por espectroscopia Infrarroja (FT-IR) y medidas del potencial Z para el estudio de las interacciones adsorbato-adsorbente.

El estudio del proceso de adsorción incluyó la determinación de las concentraciones residuales de NPEO_x y los oligómeros individuales por HPLC de las soluciones de sobrenadante a distintos intervalos de tiempo, el estudio de las cinéticas de adsorción y de las isothermas de adsorción. Asimismo, se realizó el tratamiento a diferentes temperaturas para la determinación de los parámetros termodinámicos

Como la adsorción resultó más favorable para NPEO_x de cadena corta, el tratamiento por adsorción con carbones se propuso como un sistema complementario o tratamiento terciario adecuado para la remoción de NPEO_x de aguas residuales. Se analizó entonces, el proceso de adsorción con carbones como un tratamiento terciario, posterior al tratamiento biológico, a partir del cual se obtuvo una remoción completa del contaminante, incluso con el adsorbente más económico (Lignito) con la ventaja que no se detectó el oligómero de cadena corta al finalizar el tratamiento por adsorción.

Finalmente, se estudió el tratamiento combinado en una sola etapa en la que se agregó carbón activado o lignito en polvo al sistema biológico de tratamiento aeróbico que logró la remoción completa del NPEO_x. El barro activado del tratamiento combinado en una sola etapa mostró buenas características de compactación y de sedimentación y produjo un consorcio microbiano estable frente a la adición del contaminante. La mezcla de carbones con la biomasa en el tratamiento potenció la actividad de los microorganismos, favoreciendo una mejora en la eficiencia de la eliminación de NPEO_x. Por lo tanto, se observó un efecto sinérgico entre la adsorción con carbones y la biodegradación y esta interacción permitió un tratamiento más eficaz de las aguas residuales contaminadas con NPEO_x

Índice

Resumen	3
Capítulo 1	10
1.1 Recursos Hídricos	11
1.2 Saneamiento y Agua Potable	11
1.3. Contaminación del agua	14
1.4. Efectos de la contaminación del agua sobre el ambiente y la salud	18
1.5. Aguas residuales	19
1.5.1. Aguas residuales domesticas	19
1.5.2. Aguas residuales industriales	19
1.6. Contaminantes emergentes	20
1.7. Disruptores endócrinos	20
1.8. Nonilfenol polietoxilado	23
1.8.1. Definición, fuentes y usos	23
1.8.2. Propiedades físico- químicas	25
1.8.3. Efectos sobre los organismos vivos	28
1.8.4. Marco legislativo	29
1.8.5 Destino ambiental	30
1.9. Tratamientos de aguas residuales para la remoción de NPEO _x	31
1.9.1. Tratamientos Biológicos	31
1.9.1.1. Biodegradación de NPEO _x	31
1.9.1.2. Tratamientos biológicos	33
1.9.2. Tratamientos fisicoquímicos	34
1.9.2.1. Tratamientos por de Oxidación	34
1.9.2.2. Tratamientos por Adsorción	35
1.9.3. Tratamientos combinados	37
1.10. Objetivos Generales	38
1.11. Objetivos Generales	38
1.12. Estructura general del presente trabajo de Tesis	40
1.13. Nomenclatura	41
Capítulo 2	43
2.1 Patrones de NPEO _x	44
2.2. Determinación del NPEO _x	44
2.2.1. Determinación de EO _x por el Método Yodo-Yoduro	44
2.2.3. Determinación de NPEO _x por HPLC	46
2.3. Tratamiento Biológico	47
2.3.1. Métodos analíticos	47
2.3.1.1. Determinación de la concentración de biomasa	47
2.3.1.2. Demanda Química de Oxígeno (DQO)	48
2.3.1.3. Determinación del nitrógeno amoniacal total (NAT) y Nitratos	49
2.3.2. Generación de barros activados	49
2.3.3. Operación del reactor de barros activados	52
2.3.4. Medidas respirométricas	54
2.3.5. Análisis de comunidades bacterianas	55

2.3.5.1. Extracción de ADN y reacción de amplificación de la polimerasa	56
2.3.5.2. Electroforesis en gel de agarosa	58
2.3.5.3. Electroforesis en gel de acrilamida con gradiente desnaturalizante (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE))	59
2.3.6. Producción de polihidroxialcanoatos (PHA)	61
2.4. Tratamiento por adsorción	64
2.4.1. Materiales adsorbentes	64
2.4.2. Caracterización de adsorbatos: Mezclas comerciales de NPEO _x	64
2.4.2.1. Determinación de la Tensión Superficial	64
2.4.2.2. Determinación de la concentración micelar crítica (CMC)	67
2.4.3. Caracterización de materiales adsorbentes y sistema adsorbente-adsorbato	69
2.4.3.1. Distribución de tamaño de partícula	69
2.4.3.1. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	71
2.4.3.2. Adsorción-desorción de N ₂	72
2.4.3.4. Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)	76
2.4.3.5. Potencial Zeta	80
Capítulo 3	83
3.1. Elección y optimización de variables que intervienen en el proceso cromatográfico	84
3.1.1. Selección de la fase estacionaria	84
3.1.2. Composición de la fase móvil	85
3.1.3. Temperatura de la columna	86
3.1.4. Volumen de inyección	87
3.1.5. Selección de la longitud de onda	87
3.2. Análisis de los cromatogramas obtenidos	89
3.3. Aspectos teóricos de la distribución del tamaño molecular de oligómeros en mezclas comerciales de NPEO _x	89
3.4. Cuantificación de Nonilfenol Polietoxilado total (N _T) y las concentraciones individuales de oligómeros (N _i) en muestras de agua	90
3.5. Aplicación de la técnica de HPLC desarrollado para analizar mezclas del tensioactivo comercial de distribuciones de tamaño molecular desconocidos	96
3.6. Conclusiones del capítulo	99
Capítulo 4	101
4.1. Capacidad de comunidades microbianas en la remoción de NPEO _x	102
4.1.1 Ensayo experimental	103
4.1.2 Remoción de NPEO _x por barros no aclimatados y aclimatados a fenol	103
4.2. Estudio del proceso de aclimatación a NPEO _x de barros activados previamente aclimatados a fenol por ensayos de batch consecutivos	109
4.2.1 Ensayos experimentales	110
4.2.2. Aclimatación de los barros activados a diferentes concentraciones iniciales de NPEO _{av9}	110
4.3. Estudio del proceso de aclimatación a NPEO _x de barros activados previamente aclimatados a fenol por ensayos de batch consecutivos por ensayos de respirometría intermitente	117
4.3.1. Ensayos Experimentales	117
4.3.2 Análisis de la actividad respiratoria de barros activados durante la remoción de NPEO _{av9}	117
4.4. Degradación aerobia de NPEO _x por barros activados aclimatados a NPEO _x	124
4.4.1 Ensayo experimental	124
4.4.2. Ensayo preliminar de biooxidación de 300 mg/L de NPEO _{av9} por barros activados aclimatados a NPEO _x	124

4.4.3. Efecto de la concentración inicial de NPEO _{av9} en la cinética de crecimiento de biomasa y en la biodegradación del sustrato. Modelado matemático.	130
4.5. Cuantificación de los oligómeros NPEO _i durante la degradación de una mezcla comercial de NPEO _x	137
4.5.1. Ensayo experimental	137
4.5.1. Medida de los oligómeros NPEO _i durante la remoción de NPEO _x en reactores batch de barros activados	138
4.6. Efecto del promedio de las unidades etoxiladas (x) en la remoción de NPEO _x en reactores batch de barros activados	144
4.6.1 Ensayo experimental	145
4.7. Análisis de las comunidades bacterianas implicadas en la biodegradación de NPEO _x	149
4.7.1. Ensayo Experimental	149
4.7.2. Análisis macroscópico y microscópico del barro	150
4.7.3. Análisis de las comunidades microbianas por electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (DGGE)	153
4.8. Producción de polihidroxialcanoatos (PHA) por lodos activados aclimatados a degradar fenol y NPEO _x	155
4.8.1. Ensayo Experimental	156
4.8.2. Detección de PHA por tinción con Sudan Black y FT-IR. Cuantificación por análisis de imágenes.	156
4.9. Mecanismo propuesto para la biodegradación de NPEO _x	159
4.10. Conclusiones del capítulo	161
Capítulo 5	165
5.1. Caracterización adsorbato	166
5.1.1 Ensayos experimentales	167
5.1.2. Exceso de concentración superficial y área por molécula de surfactante en la interfase	167
5.1.3. Concentración Micelar Crítica	171
5.2. Caracterización del adsorbente	172
5.2.2 Ensayos experimentales	172
5.2.3. Tamaño de Partícula, Área Superficial, Distribución del Tamaño de Poro	173
5.2.4. Estudio de la Distribución de Tamaño de Partícula	176
5.2.5. Caracterización Superficial	178
5.3. Caracterización del proceso de adsorción	181
5.3.1. Ensayo experimental	181
5.3.2. Efecto de tipo de adsorbato	182
5.3.3. Adsorción selectiva de oligómeros individuales	185
5.3.4. Efecto de la concentración de adsorbente	187
5.3.5. Interacciones entre superficies sólidas y moléculas de NPEO _x	188
5.4. Estudio de la cinética adsorción	191
5.4.1 Ensayos experimentales	191
5.4.2. Determinación de la cinética de adsorción	191
5.5. Isotermas de adsorción	197
5.5.1 Ensayos experimentales	197
5.5.2. Isotermas de adsorción para el sistema adsorbato-adsorbente	198
5.5.3. Aplicación de la Isotherma de adsorción	200
5.6. Determinación de los parámetros termodinámicos	205
5.7. Mecanismo propuesto para la adsorción de NPEO _x en carbones	210
5.8. Conclusiones del capítulo	211
Capítulo 6	215

6.1. Tratamiento en unidades separadas	216
6.1.1 Ensayos experimentales	216
6.1.2. Remoción de NPEO _x por adsorción en aguas residuales previamente tratadas biológicamente	217
6.1.3. Concentración del adsorbente requerido para remover NPEO _x por adsorción en aguas previamente tratadas biológicamente	219
6.2. Tratamiento en una única unidad de tratamiento	223
6.2.1. Ensayos experimentales	224
6.2.2. Estudio del proceso de tratamiento combinado barros activados-carbones en ensayos en batch.	225
6.2.3. Estudio del proceso de tratamiento combinado por ensayos de respirometría intermitente	230
6.4. Conclusiones del capítulo	236
Capítulo 7: Conclusiones Generales	239
Bibliografía	247



CAPITULO 1

Introducción

1.1 Recursos Hídricos

En la tierra solamente el 2.53% del agua total corresponde a agua dulce (35 millones de km³). La mayor parte del agua dulce se encuentra en forma de hielos perennes o nieves eternas o en profundos acuíferos de aguas subterráneas de forma tal que sólo un 0.57% (200000 km³) del agua dulce total está disponible para uso humano, cantidad que representa 0.01% del agua total del planeta.

El continente asiático presenta la mayor provisión de agua dulce (36%) mientras que América del Sur ocupa el segundo lugar con 26% de los recursos hídricos disponibles totales del planeta. Aproximadamente el 70% de este agua dulce extraída de lagos, ríos y napas subterráneas se emplea en la agricultura fundamentalmente para riego, mientras que el uso industrial representará un 22% del consumo total de agua, mayoritariamente para la producción de energía (UNESCO, 2017), y el domestico solo un 8% (UNESCO, 2014).

El agua dulce es un recurso finito y vulnerable, y su gestión es esencial para sostener la vida, el desarrollo y el medio ambiente. (Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture, 2007).

1.2. Saneamiento y Agua Potable.

La escasez de agua afecta a todos los continentes. Cerca de 1200 millones de personas, casi una quinta parte de la población mundial vive en áreas de escasez física de agua, mientras que 500 millones se aproximan a esta situación. Otros 1600 millones, alrededor de un cuarto de la población mundial, se enfrentan a situaciones de escasez económica de agua, donde los países carecen de la infraestructura necesaria para transportar el agua desde ríos y acuíferos (PNUD, 2006).

La escasez de agua constituye uno de los principales desafíos actuales al que se están enfrentando ya numerosas sociedades de todo el mundo. A lo largo del último siglo, el uso y consumo de agua creció a un ritmo dos veces superior al de la tasa de crecimiento de la población y, aunque no se puede hablar de escasez hídrica a nivel global, va en aumento el número de regiones con niveles crónicos de carencia de agua (PNUD, 2006).

La Figura 1.1 muestra las zonas de escasez tanto material como económica de agua a nivel mundial (Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture, 2007). La escasez de agua es un fenómeno no solo natural sino también causado por la acción del ser humano. Hay suficiente agua potable en el planeta para abastecer a los 7000 millones de personas que lo habitamos, pero ésta está distribuida de forma irregular, se desperdicia, está contaminada y se gestiona de forma insostenible (CSD, 1997).

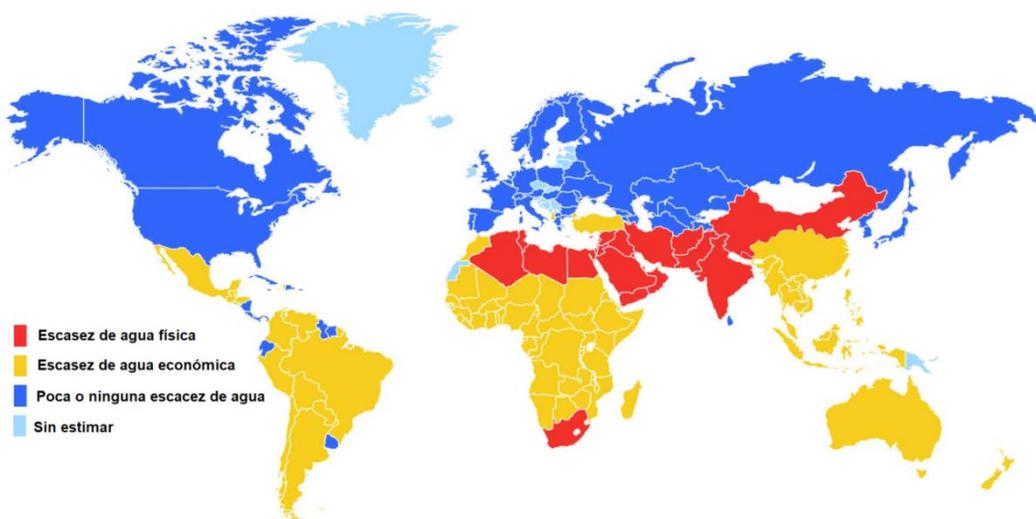


Figura 1.1. Zonas de escasez física y/o económica de agua a nivel mundial. (Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture, 2007)

Por diversos motivos, la disponibilidad del agua resulta problemática en buena parte del mundo, y por ello se ha convertido en una de las principales preocupaciones de los gobiernos en todo el mundo. En la Figura 1.2 se encuentran los porcentajes de población con acceso a agua potable a nivel mundial, se estima que alrededor de mil millones de personas tienen un deficiente acceso al agua potable.

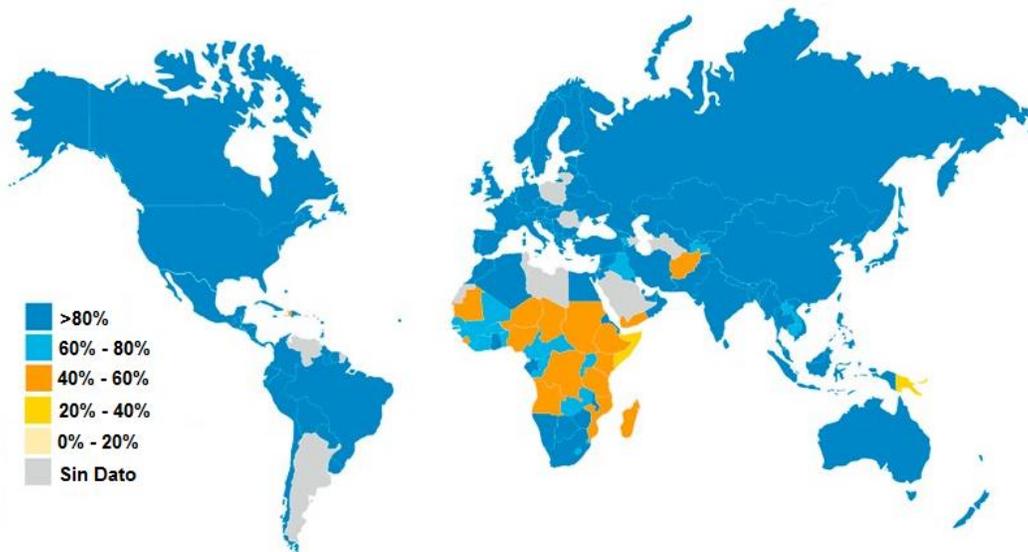


Figura 1.2. Porcentaje de población sin acceso a agua potable a nivel mundial (BID, 2013)

La situación resulta agravada si se considera la creciente contaminación de los recursos hídricos a nivel mundial. De acuerdo a un informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo (ONU, 2003), 2 millones de toneladas de desechos son arrojados diariamente en aguas receptoras, incluyendo residuos industriales, domiciliarios y de origen agrícola, estimándose que la producción global de agua residual es de aproximadamente 1500 km³. En dicho informe se indica que el 50% de la población de países en desarrollo está expuesta a fuentes de agua contaminada. Se ha informado que más de la mitad de los principales ríos del planeta están contaminados y en situación de amenaza a la salud de las poblaciones que utilizan tales recursos (World Commision on Water, 1999). En América Latina, durante los últimos 30 años, hubo un significativo deterioro en la calidad de aguas superficiales y subterráneas, siendo la agricultura y el vertido de aguas residuales urbanas e industriales no tratadas las principales fuentes de contaminación.

El acceso a agua y saneamiento en América Latina todavía es insuficiente. En el año 2000, un informe realizado por WHO y UNICEF (WHO y UNICEF, 2000) indicó que 2400 millones no tenían acceso a sistemas de saneamiento. La falta de acceso al agua potable y saneamiento seguros causa cientos de millones de casos de enfermedades transmitidas por el agua y más de 5 millones de muertes por año. Se estima que solamente un 15% de las aguas residuales colectadas en América Latina son dirigidas a plantas de tratamiento, las cuales no funcionan adecuadamente en muchos casos. Si el

abastecimiento de agua y saneamiento básico fueran ampliados a todas las personas carentes de estos servicios, el número de enfermedades transmitidas por el agua se reduciría alrededor de 70% (ONU, 2003).

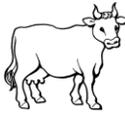
El sector de agua y saneamiento de Argentina padece una grave deficiencia en la provisión de servicios de saneamiento y de agua potable. Al respecto, el sector más comprometido es el primero, con una cobertura de sólo el 50% mientras que con agua de red se abastece a un 83% de la población total (Lopardo y col., 2015).

1.3. Contaminación del agua

El agua se encuentra contaminada cuando se ve alterada en su composición o estado, directa o indirectamente, como consecuencia de la actividad humana, de tal modo que quede menos apta para uno o todos los usos a que va destinada y para los que sería apta en su calidad natural. El 70% del agua consumible se utiliza en la agricultura, el 22% en la industria y sólo el 8% en uso doméstico. En la Tabla 1.1 se encuentran los litros de agua gastados en actividades cotidianas. Por ejemplo, para la producción de 1 kg de carne se gastan alrededor de 15.497 L. Sin embargo, otras tareas cotidianas domésticas como lavado de platos o automóviles emplean cientos de litros de aguas.

La calidad del agua es lo que determina su uso potencial. De esta manera, si un determinado contaminante está presente o se encuentra en concentraciones superiores a un límite máximo permitido, el agua no será apta para un uso particular; sin embargo, podrá emplearse para otros propósitos para los cuales el factor o parámetro en cuestión no resulta contaminante.

Tabla 1.1: Comparación de los litros de agua consumidos en actividades cotidianas

	Actividad	Consumo (litros)
	producir 1Kg de carne	15.497
	producir un pantalón	11.000
	una descarga de inodoro	16
	un lavado de auto	500
	una ducha de 10 minutos	100
	un ciclo de lavarropas	100
	un lavado de platos	100

Los contaminantes del agua pueden clasificarse en tres categorías: Químicos, Físicos y Biológicos.

Los compuestos químicos pueden ser tanto inorgánicos como orgánicos. Dentro de los primeros pueden encontrarse sales, ácidos y bases, metales pesados, gases (H_2S , NH_3 , CO_2 , etc.), sustancias minerales no disueltas (sílice, arcillas, etc.), etc. Los compuestos químicos orgánicos incluyen hidratos de carbono, proteínas, aceites y grasas, hidrocarburos, jabones y detergentes, pesticidas, entre otros. Muchos de los compuestos químicos mencionados como contaminantes del agua son tóxicos para los seres

humanos, como los iones de metales pesados (mercurio, arsénico, cobre, zinc, níquel, cromo, cadmio, etc.) o contaminantes orgánicos como compuestos fenólicos, pesticidas, bifenilos policlorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos, etc (Orozco Barrenetxea y col., 2002).

Entre los contaminantes físicos se incluyen:

- Contaminación térmica por descarga de aguas con elevada temperatura proveniente de intercambiadores de calor de plantas industriales.
- Color.
- Turbidez generada por la presencia de sólidos en suspensión.
- Formación de espumas debido a la presencia de detergentes.
- Radioactividad.

La contaminación biológica se atribuye a los microorganismos responsables de la transmisión de enfermedades en las aguas de abastecimiento (bacterias, virus, hongos y algas). Desde el punto de vista histórico, la prevención de las enfermedades originadas por el agua constituyó la razón fundamental del control de la contaminación (Botkin y Keller, 2000).

Las aguas residuales, generadas como consecuencia de diversas actividades antropogénicas, son en general grandes fuentes de contaminación si no son tratadas correctamente antes de su descarga a un cuerpo de agua receptor (mar, río, lago, etc.) denominado medio receptor. Se distinguen cuatro tipos fundamentales de aguas residuales:

- Aguas Domésticas o Urbanas.
- Aguas Residuales Industriales.
- Escorrentías de Usos Agrícolas.
- Pluviales.

Asimismo, deben considerarse otras fuentes de contaminación que afectan tanto a aguas superficiales como subterráneas. Entre estas últimas se encuentran derrames o fugas a partir de tanques de almacenamiento o tuberías (combustibles, químicos, etc.), filtraciones a partir de sitios de disposición de residuos domésticos, industriales y radioactivos, filtraciones de sistemas cloacales y sépticos, etc.

Para evaluar la calidad global del agua existen diferentes índices que están basados en la determinación de características fisicoquímicas y/o biológicas del agua. Los índices basados en características fisicoquímicas son valores numéricos que agrupan las magnitudes de diferentes parámetros, en su mayor parte físicos y químicos (aunque en algunos casos incluyen alguna medida microbiológica), considerados como los más importantes para definir la calidad de un agua (Orozco Barrenetxea y col., 2002). Los parámetros más importantes que determinan la calidad global o ecológica de aguas superficiales son: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), Demanda Química de Oxígeno (DQO), conductividad eléctrica, materia en suspensión, oxígeno disuelto, pH, fosfatos totales, nitratos y coliformes totales.

La Demanda Bioquímica de Oxígeno corresponde a la cantidad de oxígeno requerido para la oxidación bioquímica aerobia de la materia orgánica biodegradable presente en el agua. Cuando la degradación aerobia es tan completa como sea posible, el oxígeno disuelto (OD) consumido corresponde a la DBO total o final (DBO_t) que se alcanza luego de varias semanas. Sin embargo, las condiciones normalmente aceptadas para la determinación de dicho parámetro corresponden a una incubación de 5 días a 20°C (período en el que se descompone alrededor del 60-70% de la materia orgánica más fácilmente biodegradable), obteniéndose así la DBO_5 .

Por otra parte, la Demanda Química de Oxígeno corresponde a la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la fracción orgánica de una muestra de agua susceptible a la oxidación por dicromato en medio ácido. En este caso, la mayoría de los compuestos orgánicos biodegradables o inertes (no biodegradables) son oxidados completamente.

Los índices de calidad global permiten observar la evolución del estado de los ríos a lo largo de los años y a lo largo de su recorrido y evaluar las mejoras ocasionadas por la implementación de planes de saneamiento (plantas de tratamiento de efluentes domésticos e industriales) de una cuenca hidrográfica determinada.

1.4. Efectos de la contaminación del agua sobre el ambiente y la salud

Todos los cuerpos de agua presentan la capacidad para degradar desechos orgánicos (procedentes de fuentes naturales, escorrentías de suelos agrícolas o efluentes domésticos e industriales) por actividad aerobia bacteriana. No obstante, cuando la carga de tales desechos sobrepasa la capacidad natural de autodepuración de los sistemas acuáticos receptores, se produce una disminución apreciable del oxígeno disuelto (OD) debido a su utilización para oxidación biológica de la materia orgánica, pudiendo afectar a diferentes especies sensibles a bajas concentraciones de oxígeno disuelto. La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) disminuye gradualmente aguas abajo en la medida que la materia orgánica descargada va oxidándose progresivamente hasta alcanzar un valor aproximado a los 2 mg/L, indicativo de agua no contaminada (Ramalho, 1993). La DBO y el OD están relacionadas de tal forma que la concentración de oxígeno disuelto es baja donde la DBO es alta y viceversa.

Los pesticidas y herbicidas y los metales pesados procedentes de actividades agrícolas e industriales pueden causar daño ecológico en sistemas acuáticos superficiales, contaminar cuerpos de agua subterránea y afectar la salud de las poblaciones que se abastecen de tales fuentes de agua. Por otra parte, el nitrógeno y el fósforo presentes en aguas residuales aceleran el proceso de eutrofización de cuerpos de agua receptores, fenómeno caracterizado por una alta productividad de algas, sedimentación y en última instancia colmatación del cuerpo de agua receptor. La proliferación de algas verde-azuladas hace que el agua presente un color verdoso y malos olores, asociado muchas veces, a la producción de toxinas que afectan la fauna ictícola y el ganado (Ramalho, 1993). La descarga de aguas residuales industriales, cloacales y pluviales produce una degradación de la calidad de los ecosistemas acuáticos receptores que comprende alteraciones en sus propiedades físico-químicas y cambios en la comunidad biológica, afectando a su vez a la población por efectos directos en la salud, por el encarecimiento del tratamiento de potabilización del agua o por el deterioro de las áreas de esparcimiento. En este sentido, el tratamiento de aguas residuales tiene como objetivo remover o convertir los contaminantes a una forma inocua, preservando de esta manera la calidad del agua de los cuerpos receptores. Por tal motivo resulta muy importante que los sistemas de tratamiento de efluentes operen en forma adecuada protegiendo en última instancia los ecosistemas acuáticos y la salud del hombre.

1.5 Aguas residuales

1.5.1 Aguas residuales domésticas

Las aguas residuales domésticas provienen de casas particulares (domiciliarias), oficinas, aguas sanitarias de pequeñas y medianas industrias (no relacionadas con el proceso de fabricación en sí), hospitales, escuelas; también incluyen aguas domiciliarias no sanitarias (agua de lluvia y napas). Este tipo de agua residual constituye una importante fuente de contaminación de los recursos hídricos de la Argentina. Esto se debe principalmente a que sólo un pequeño porcentaje de las aguas residuales domésticas recibe tratamiento. Puede realizarse una primera aproximación del volumen de aguas residuales municipales descargado a las redes de alcantarillado, considerando que según el Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas de 2010 la población era de 40117096 habitantes, que 48.8% de las viviendas particulares poseía desagüe cloacal, que había 11317507 viviendas particulares, 12171675 hogares, que la cantidad de habitantes por hogar era de 3.3 habitantes y que 12.2% de hogares compartía vivienda (INDEC, 2012). Por lo tanto, adoptando una dotación promedio para el país de 0.3 m³/(hab.día) y un factor de reducción de 0.8 (80% del agua abastecida y utilizada es descargada a la red de alcantarillado), el volumen de aguas residuales descargado a la red de alcantarillado puede estimarse en unos 1.596x10⁶ m³/año. Información de comienzos del presente siglo indicaba que solo 10% del volumen total de los efluentes domésticos recolectados por los sistemas de desagües cloacales eran tratados por un sistema de depuración (Calcagno y col, 2000).

1.5.2 Aguas residuales industriales

Las aguas residuales industriales son aquellas generadas durante procesos de producción y su composición varía según el tipo de industria. Las descargas de aguas residuales industriales son otra fuente de contaminación importante en Argentina. Según un informe del Ministerio de Trabajo, Empleo y Seguridad Social, en el último trimestre de 2012 la Argentina contaba con un total de 641616 empresas. El caudal y la composición de las aguas residuales industriales depende principalmente de tres factores: tipo y tamaño de la industria, grado de reutilización del agua y la presencia de un sistema de tratamiento. Las industrias con escasos procesos húmedos consumen 7.5 – 28 m³/ (ha d). En las industrias que no poseen programas de reutilización de agua se estima que el 85-95% del agua de operaciones y procesos es convertido en agua residual. Si bien el

porcentaje de industrias sólo representa el 10% del total de empresas, el sector de industrias dedicadas al procesamiento de alimentos es uno de los mayores productores de aguas residuales seguido por la industria textil (Lobo, 2014). Por otra parte, se debe tener en cuenta que en muchos procesos industriales se generan aguas residuales con un elevado contenido de compuestos recalcitrantes con efectos adversos sobre el medio ambiente y la salud.

1.6. Contaminantes emergentes

Los contaminantes emergentes corresponden en la mayoría de los casos a contaminantes no regulados, que pueden ser candidatos a regulación futura dependiendo de investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud y los datos de monitoreo con respecto a su incidencia. Ejemplos de los compuestos que han emergido recientemente, como particularmente relevantes, son: surfactantes, productos farmacéuticos, productos para el cuidado personal, aditivos de las gasolinas, retardantes de fuego, antisépticos, aditivos industriales, esteroides y hormonas y subproductos de la desinfección del agua. La característica de estos grupos de contaminantes es que no necesitan persistir en el ambiente para causar efectos negativos, puesto que sus altas tasas de transformación/remoción se pueden compensar por su introducción continua en el ambiente. Para la mayoría de estos contaminantes emergentes, la incidencia, la contribución de riesgo y los datos ecotoxicológicos no están disponibles, así que es difícil predecir qué efectos de salud pueden tener en seres humanos y organismos acuáticos (Petrovic y col., 2003).

Entre los contaminantes emergentes encontramos algunos que pueden presentar alteraciones endócrinas, llamados disruptores endócrinos (DEs), entre los que se incluyen surfactantes, pesticidas, productos químicos industriales, productos farmacéuticos, y fitoquímicos. Estos productos químicos se distribuyen extensamente en el ambiente, y pueden presentar efectos miméticos o antagónicos en las funciones biológicas de las hormonas naturales.

1.7. Disruptores endócrinos

Los DEs también llamados disruptores hormonales son sustancias químicas que pueden interrumpir el buen funcionamiento hormonal y otros procesos endócrinos mediante la interferencia de señales hormonales que controlan el desarrollo normal del

cerebro, el sistema cardiovascular, esquelético o urogenital durante el desarrollo y a lo largo de la vida de los seres vivos (Hecker y Hollert, 2011), ocasionando efectos permanentes e irreversibles (Myers y col., 2003). La Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos define a estos compuestos como agentes exógenos que interfieren en la síntesis, secreción, transporte, acción o eliminación de hormonas naturales en el cuerpo que son responsables para el mantenimiento de la homeostasis, reproducción, desarrollo y/o comportamiento (EPA, 2014). En la Figura 1.3 se muestran los sistemas hormonales que son potencialmente afectados por los DEs, demostrando que prácticamente todos los órganos endócrinos son vulnerables ante estas sustancias.

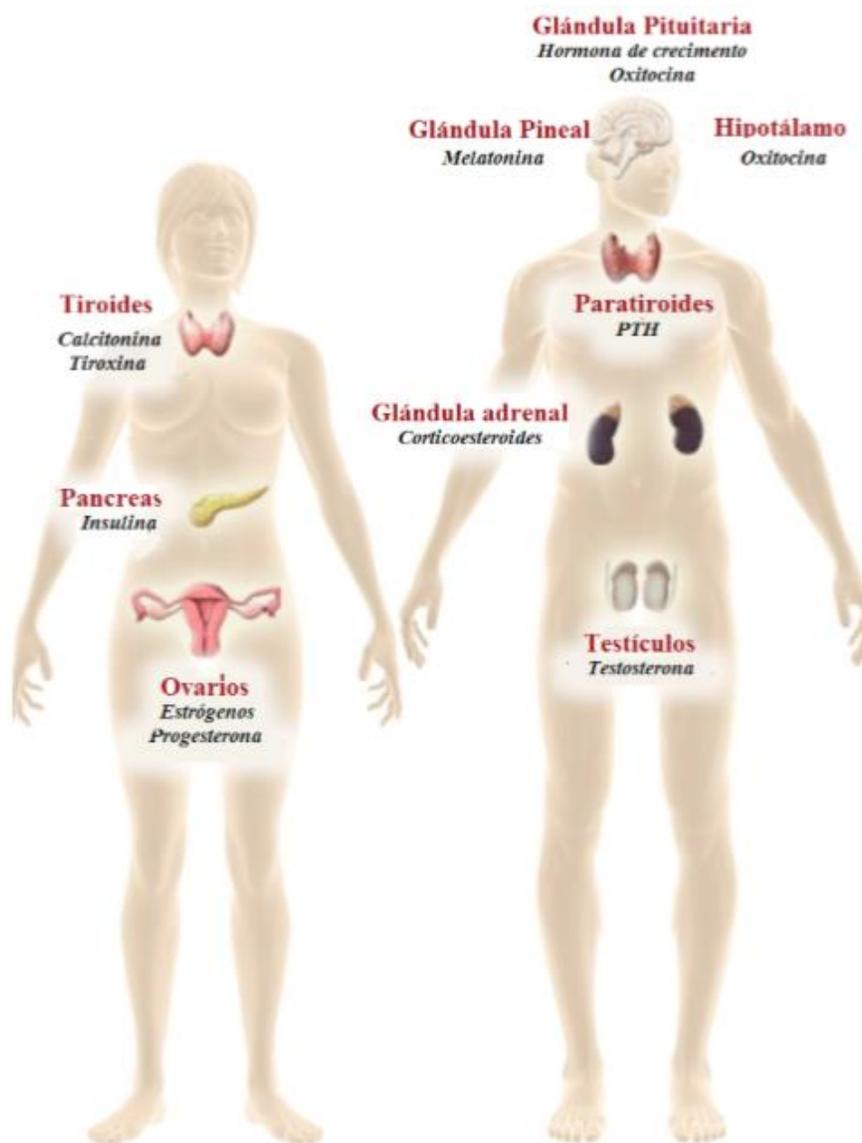


Figura 1.3. Sistema endócrino vulnerable a la acción de los DEs (Schug y col., 2011)

Existen tres clases de disruptores endócrinos: Estrogénicos (compuestos que mimetizan o bloquean estrógeno natural), androgénicos (Compuestos que mimetizan o bloquean la testosterona natural) o tiroidal (compuestos con impactos directos o indirectos en la tiroides), (Snyder y col., 2003). Los mecanismos de actuación de los disruptores endócrinos estudiados hasta la fecha incluyen:

- Mimetizar la acción de las hormonas
- Antagonizar la acción de las hormonas
- Alterar su patrón de síntesis y metabolismo
- Modular los niveles de los receptores correspondientes.

En la Figura 1.4 se muestra un diagrama esquemático de una absorción disruptiva endocrina; A: los niveles hormonales normales pueden reducirse o aumentarse mediante un disruptor endócrino, B: las hormonas naturales pueden ser imitadas por un disruptor endócrino; C: la producción natural de hormonas puede ser alterada por un disruptor endócrino.

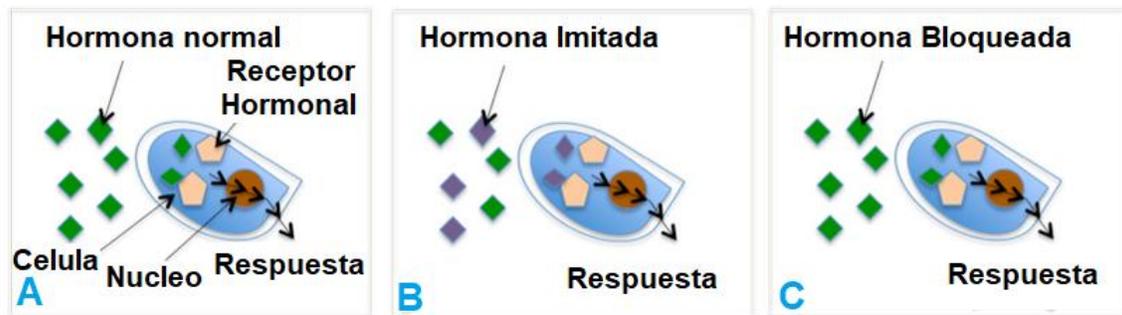


Figura 1.4. Diagrama esquemático de una absorción de un disruptor endócrino

El estudio de contaminantes con actividad estrogénica recobra interés a inicio de los años 1970 cuando se descubrió que plaguicidas organoclorados como el DDT (diclorodifeniltricloroetano) y sus metabolitos tenían propiedades que afectaban el sistema endócrino, sin embargo la conexión entre disruptor endócrino y la falta de reproducción en la vida salvaje se dio hasta 1980, cuando se reportó una caída en la población de pájaros piscívoros en Estados Unidos debido a deformaciones en órganos sexuales ocasionados por la exposición a DDT y DDE (diclorodifeniltricloroetileno) (Snyder y col., 2003). Así el

interés por el estudio del efecto de DEs en seres vivos se ha incrementado. Los DEs afectan la vida de animales como: gasterópodos, aligátors, peces, ratones y aves; estos presentan alteraciones reproductivas debido a alteraciones en los caracteres sexuales propios (aumento de testosterona en machos, o bien 17- β estradiol en hembras) lo que lleva a procesos de feminización en machos, masculinización en hembras u organismos sexualmente indiferenciados o comúnmente llamados intersexo (Porte y col., 2005).

En la actualidad se conocen 45 compuestos con propiedades disruptoras confirmadas, y unos 600 considerados potenciales disruptores endócrinos, los cuales han sido introducidos en los circuitos ambientales y están presentes en la vida cotidiana. Entre los DEs naturales más importantes se pueden mencionar las feromonas y los fitoestrógenos; entre los DEs artificiales se encuentran: Insecticidas y sus metabolitos, funguicidas, moluscocidas y herbicidas, sustancias de uso cotidiano en el hogar o la industria como bifenilos policlorados (BPCs), ftalatos, bisfenol-A, alquilfenoles, alquilfenoles polietoxilados (APEO_x) y en particular el producto de degradación mayoritario de éstos el 4-nonilfenol (4-NP), estrógenos artificiales como el dietilestilbestrol (DES), componentes de los filtros UV en cremas (3-benzofenona), contaminantes ambientales como las dioxinas, los furanos y ciertos hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), farmacéuticos y productos de cuidado personal tanto para humanos como animales, incluyendo no tan sólo medicamentos si no también fragancias, bloqueadores solares entre muchos otros más (Argemi y col., 2005)

1.8. Nonilfenol polietoxilado

1.8.1. Definición, fuentes y usos

Los alquilfenoles etoxilados (APEO_x, donde x indica el número promedio de unidades etoxiladas) son una familia de surfactantes que se utilizan en grandes cantidades, tanto en procesos industriales como en productos de limpieza. Los APEO_x se forman como resultado de una reacción de alquilfenoles y óxido de etileno; la reacción genera distribución de oligómeros con un número promedio de unidades etoxiladas x.

Estos compuestos se caracterizan por tener una parte hidrofóbica y otra hidrofílica. La primera está formada por una molécula de benceno y un grupo alquilo de entre 9 y 12 átomos de carbóno. Los APEO_x producidos más comúnmente son los que tienen un grupo nonilo, los nonilfenol etoxilatos (NPEO_x), seguidos por los octilfenol

etoxilatos (OPEO_x). La parte hidrofílica se encuentra en posición para- al grupo alquilo y está formada por una cadena de unidades de óxido de etileno (EO_x). La longitud de la cadena varía entre 1 y 100 unidades, pero los NPEO_x y OPEO_x utilizados con mayor frecuencia están compuestos por una mezcla de APEO_x con cadenas de entre 2 y 16 EO_x (Figura 1.5), cuyas concentraciones presentan una distribución normal centrada en 9 EO_x (Talmage, 1994). La producción mundial de APEO_x en la década pasada fue de aproximadamente 500.000 toneladas por año. Entre ellos, NPEO_x comprenden el 80 % del uso total de APEO_x (Ying y col., 2002; Priac y col, 2014; Ma y Luo, 2017).

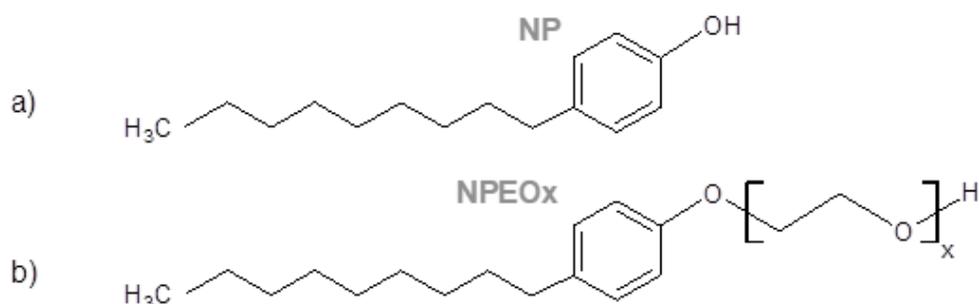


Figura 1.5. Representación de las moléculas químicas a) 4-nonilfenol en posición para; b) nonilfenoles etoxilados, donde x toma el valor de 2 a 16.

NP es una sustancia química manufacturada que no se produce de forma natural, es decir, todas las fuentes son antropogénicas. NP es producido por alquilación del anillo de fenol con noneno con la ayuda de la catálisis ácida (Figura 1.6).

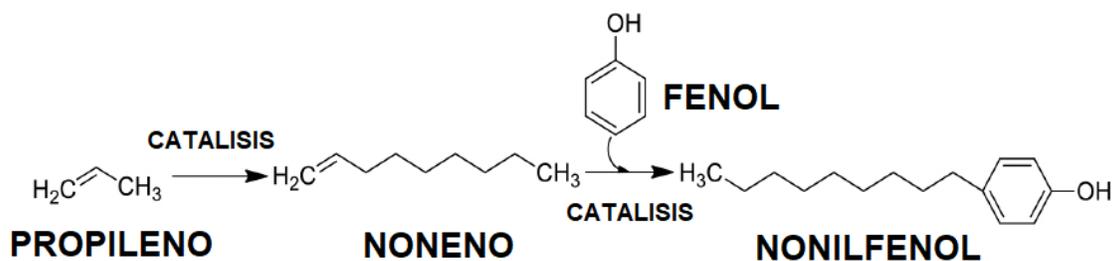


Figura 1.6. Síntesis química del Nonilfenol

Uno de los principales usos de NP es la producción de NPEO_x, que se producen con la adición de la cadena etoxilada al NP. NP fue sintetizado por primera vez en 1940, y

desde entonces el uso y la producción del mismo han aumentado. La producción mundial de NP es de aproximadamente 500.000 toneladas, mientras que el 60% de esta cantidad es finalmente descartada en cuerpos de agua. Sus tasas de producción varían de un país a otro, algunos ejemplos son: 154200 toneladas en los EE.UU. en 2001, 73500 toneladas en Europa en 2002, 16500 toneladas en Japón en 2001 y 16000 toneladas en China en 2004 (Soares y col., 2008.).

Los usos más comunes de NPEO_x son en las formulaciones de detergentes y pesticidas; producción de productos de cuidado personal tales como, cremas hidratantes, tintes para el cabello, champús y desodorantes y como agentes humectantes, emulsionantes, solubilizantes y agentes de formación de espuma. También se utilizan en varias aplicaciones industriales: textil, metal cromado, plástico, papel y celulosa, pesticidas y aceite lubricante y combustibles. Las aplicaciones industriales son 55% del uso total, mientras que, la limpieza industrial e institucional comprende 30% y la limpieza del hogar un 15% (Ying y col., 2002).

Los compuestos NP son descargados en las plantas de tratamiento de aguas residuales con altas concentraciones no sólo por sus aplicaciones industriales, sino también sus usos domésticos.

En general, el 37% de los productos de degradación de NPEO_x terminan en las plantas de tratamiento de aguas residuales. Tomando en cuenta esto, se puede concluir que, sólo en EE.UU. alrededor de 35.000 toneladas de productos de limpieza incluyendo NPEO_x entran en los cuerpos de agua (CEPA, 1999).

1.8.2. Propiedades físico-químicas

El destino de los compuestos NPEO_x en diferentes sistemas ambientales como los cuerpos de agua y suelo, así como en las plantas de tratamiento de aguas residuales, está determinada por sus propiedades fisicoquímicas. Los NPEO_x tienen diferentes propiedades fisicoquímicas con la variación en sus longitudes de cadena de etoxilos. La hidrofobicidad de la molécula disminuye con el aumento de la longitud de la cadena etoxilada, entonces la solubilidad en agua aumenta cuando se incrementa el número de etoxilos de la molécula. Debido a esto, los NPEO_x con grupos etoxilados inferiores son más persistentes y peligrosos para los organismos vivos (CEPA, 1999).

No está disponible en la literatura un listado de las propiedades fisicoquímicas de los NPEO_x. Sin embargo, algunos de ellos tienen sus características enumeradas en diferentes fuentes. En la Tabla 1.3 se resumen algunas propiedades físicas y químicas de NPEO_x con nueve, cuatro, dos, uno y cero grupos etoxilados.

Como se puede deducir de la tabla de propiedades específicas peso, viscosidad y solubilidad en agua son dependientes de la longitud de la cadena etoxilada, y aumentan con el aumento de la longitud de la cadena, mientras NPEO_x con más de seis grupos de etoxilos son altamente solubles en agua, las formas etoxilados inferiores tienen mucho menos solubilidad. Además, se advierte en la Tabla 1.3 que los NPEO_x apenas se encuentran en el aire, debido a sus valores de presión de vapor y constantes de Henry.

Muchos contaminantes orgánicos son hidrofóbicos, lo que significa que tienen baja afinidad para solubilizarse en agua, que es un líquido polar, y mayor para hacerlo en líquidos apolares. Estos contaminantes son fácilmente absorbidos en la materia orgánica de los sedimentos. El coeficiente de distribución de estos compuestos químicos está relacionado con el coeficiente de distribución del compuesto entre agua y un líquido apolar, como el octanol. Este último es llamado también constante de partición o coeficiente de extracción, que puede ser calculado en un embudo separador, con agua y octanol, en el que introduce el compuesto; después de agitar se toman separadas las fases y se analiza la concentración en cada una de ellas, C_w (concentración en agua) y C_o (concentración de octanol), obteniéndose el coeficiente de distribución $K_{ow} = C_o/C_w$. El valor de K_{ow} disminuye con el aumento de la cadena etoxilada.

Tabla 1.3: Resumen algunas propiedades físicas y químicas de NPEOx con nueve, cuatro, dos, uno y cero grupos etoxilados

Propiedades	NP	NPEO ₁	NPEO ₂	NPEO ₄	NPEO ₉
Formula molecular	C ₁₅ H ₂₄ O	C ₁₅ H ₂₄ O[C ₂ H ₄ O]	C ₁₅ H ₂₄ O[C ₂ H ₄ O] ₂	C ₁₅ H ₂₄ O[C ₂ H ₄ O] ₄	C ₁₅ H ₂₄ O[C ₂ H ₄ O] ₉
Peso molecular (g/moles)	220.3	281.4	308.46	396.2	617.6
Punto de fusión (°C)	-8 ^{2,3}	-9 ⁴	-4 ⁵	-4 ⁶	2.8 ⁶
Punto de ebullición (°C)	295-320 ^{7,3}	-	-	-	250 - 298 ^{8,9}
Apariencia física	Incoloro (líquido) ^{7,3}	Incoloro (líquido) ⁸	Incoloro (líquido) ⁹	Ámbar (Líquido) ¹⁰	Incoloro (líquido) ¹¹
Peso específico	0.953 ¹²	0.79 ⁸	0.79 ⁸	1.020-1.030(25°C) ¹¹	1.057 (25°C) ⁶
pKa	10.7				
Presión de vapor (Pa)	4550 at 20°C ¹³	24530 at 20°C ¹³	24530 at 20°C ¹³	-	-
Solubilidad en agua (mg / L)	5.4 ¹⁴	3.02 ¹⁴	3.38 ¹⁴	7.65 ¹⁴	Soluble ¹⁰
Log Kow	4.2-4.48 ^{15,16,17}	4.17 ¹⁵	4.21 ¹⁵	4.24 ¹⁵	3.59 ¹⁵
Constante de Henry (atm m³ / mol)	1,1.10-6 ¹⁸	1,9.10-7 ¹⁸	6.1.10-10 ¹⁸	-	0.00024 ¹⁰ (Pa.m ³ /mol)

¹ EPA (1985).

² Hüls (1994).

³ Renner (1997).

⁴ Huntsman (1999a) (valor dado es para NPEO_{1,5})

Huntsman (1998b) (valor dado es para NPEO₃)

⁶ Weinheimer and Varineau (1998).

⁷ Reed (1978)

⁸ MSDS 32895

⁹ MSDS 32899

¹⁰ CIR (1983).

¹¹ WHO (1998).

¹² Enyeart (1967)

¹³ Romano (1991).

¹⁴ Ahel and Giger (1993a).

¹⁵ Ahel and Giger (1993b).

¹⁶ McLeese y col (1981).

¹⁷ World Wildlife Fund Canada (1996)

¹⁸ Montgomery Brown y Reinhard (2003).

1.8.3. Efectos sobre los organismos vivos

La disminución de longitud de la cadena de etoxilos resulta en un aumento de la toxicidad de la sustancia química. El Nonilfenol (NP) está clasificado como muy tóxico y se sabe que tiene efectos negativos incluso con exposiciones a corto tiempo. El NP provoca irritaciones severas si se ingiere, inhala o absorbe a través de la piel por el ser humano. Por otra parte, las altas concentraciones causan serios daños en el sistema respiratorio superior, los ojos y la piel (Cox, 1996). El NP también plantea una amenaza para la vida silvestre. Los valores de toxicidad aguda para los peces, invertebrados y algas son 17-3000 mg/L, 20 a 3000 mg/L y 27 a 2500 mg/L, respectivamente (Cox, 1996) y otro estudio revela que 3.4 mg/g de NP en el suelo resulta en una disminución de las tasas de reproducción de las lombrices de tierra (Norris y Carr, 2006).

Además de su toxicidad, los compuestos NPEO_x son clasificados como disruptores endócrinos por varias organizaciones. También están presentes en Lista prioritaria de Sustancias, de la Directiva marco del agua (DMA) de la Unión Europea (Gonzales y col, 2010), que establece normas de calidad ambiental para limitar las concentraciones de determinadas sustancias químicas que presentan un riesgo significativo para la salud humana en los cuerpos de agua superficial.

Se han detectado efectos carcinógenos de los NPEO_x que se deben principalmente a su capacidad para imitar la hormona estrógeno. Un estudio reveló que, una vez que se han aplicado en cultivos de células de cáncer de mama humano, se observó un aumento significativo en el número de células (Cox, 1996). Soto y col (1991) sostuvo que los puntos de acceso no sólo inducen la proliferación de las células de cáncer de mama humano, sino también el receptor de progesterona. En los estudios de Jobling y Sumpter (1993), se observó que, cuando los APEO_x se aplicaron en las células humanas de cáncer de mama, de embrión de pollo, trucha y los receptores de estrógeno de ratas, todos los receptores de estrógeno respondieron a ellos. En otro estudio, 2 ml/kg de alquil fenato de calcio en concentración 25% se dosificó en la piel de conejos machos y después de cuatro semanas, la producción de esperma de estos animales se detuvo (Hewstone, 1994).

Los NP son lipofílicos, hidrófobos y persistentes, lo que resulta en altas tasas de bioacumulación de estos compuestos. En un entorno rodeado de un río contaminado, se observó una bioacumulación de NP en aves, algas, peces y animales acuáticos (Soares y

col., 2008). Los factores de bioconcentración (FBC), que es la relación entre la concentración del compuesto en el animal o tejido de la planta y la concentración de dicho compuesto en la masa de agua en que viven, se encuentran en 280 en el salmón, 10 en el mejillón, 10 000 en las algas y 3-1300 en patos y peces. Esto muestra que, cuando un medio es contaminado con NP, la distribución de la sustancia química es en su mayoría en los organismos vivos más que el propio medio (Jobling y Sumpter, 1993; Cox, 1996).

1.8.4. Marco legislativo

Debido a las preocupaciones y los hallazgos mencionados anteriormente, se produjeron algunas limitaciones y restricciones en la producción y el uso de compuestos NP en los procesos industriales. La UE aprobó en 2003 la Directiva 2003/53/CE, que limita la comercialización y el uso de productos y formulaciones de productos que contengan más de un 0.1% en masa de NPEO_x o NP en Europa. Esto se aplica a muchas industrias, incluyendo la industria textil y de cuero, y la directiva está en vigencia desde enero de 2005. En los EE.UU, se preparó un plan de acción (RIN 2070 - ZA09) frente a NP y NPEO_x en 2010. Con este plan EPA inició acciones regulatorias para la gestión de los riesgos potenciales de NP y NPEO_x. Para ello, la actual fase de uso NPEO_x en la producción de detergentes industriales pondría fin a la utilización de NPEO_x en 2018. Por otra parte, la EPA tiene la intención de alentar a los fabricantes de todos los productos que contienen NPEO_x de utilizar formulaciones libres NPEO_x.

Después que los NPEO_x hayan ingresado en la Lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política del Agua (Directiva 2000/60/CE de la UE), las limitaciones de los compuestos NPEO_x comienzan a ser incluidos en la normativa de varios países.

En Argentina, y otros países de América del Sur los NP aún se siguen utilizando y comercializando. Sin embargo, en algunas provincias se advirtió sobre los trastornos que produce el NPEO_x que es un adyuvante agrícola de uso extendido y la justicia ratificó la ordenanza N° 965 que fue sancionada el 26 de enero de 2011 en la provincia de Santa Fé y la Ordenanza N° 5531 que fue sancionada el 14 de junio del mismo año en la provincia de Córdoba que prohíben el uso de productos fitosanitarios de banda roja y de coadyuvantes, aceleradores y optimizadores de los efectos de los agroquímicos a base de nonilfenol etoxilado

1.8.5. Destino ambiental

La presencia y destino de los NPEO_x en diferentes sistemas ambientales como las aguas superficiales, los sedimentos, el suelo son principalmente dependientes de sus propiedades fisicoquímicas.

Como se indicó anteriormente, NP y NPEO_x de ($x < 5$) son altamente hidrófobos y tienden a permanecer en medios orgánicos en lugar de agua. Por lo tanto, estos productos químicos, en la naturaleza, pueden ser más probablemente encontrados en suelos y sedimentos, en comparación con el agua. Por otro lado, compuestos etoxilados de nonilfenol más altos son relativamente más hidrófilicos y que se pueden ver en los sistemas de agua en concentraciones más altas (Barber y col., 1988; John y col., 2000; Ying y col., 2002).

Varios autores han demostrado que en ambientes acuáticos los NPEO_x se degradan a NP y NPEO_x con un promedio menor de unidades etoxiladas (Lee Ferguson, P. y Brownawell, 2003; Bärlocher y col., 2011; Jardak y col., 2016).

Como resultado de que NPEO_x se degradan en NP, las concentraciones de NP tienden a aumentar en temporadas de verano, principalmente debido al aumento en la actividad microbiana en la temporada de verano, y se reportaron concentraciones de NP que van desde 0.7 ng/L a 15 g/L en agua superficiales (Bester y col., 2001; Li y col., 2004; Soares y col., 2008).

Por sus características fisicoquímicas mencionadas en la Sección 1.8.2 los NP y NPEO_x de cadena corta tienden a bioacumularse en los sedimentos de los cuerpos de agua superficial. Shang y col (1999) señaló que, en los sedimentos se observaron una reducción de NP de sólo el 4% después de 28 días y de 9% después de 56 días en la concentración de NP, demostrando que estos compuestos son persistentes. Naylor y col (1992) han hallado una concentración Nonilfenol monoetoxilado (NPEO₁) en los sedimentos de río de 170 mg/kg e Isobe y col. (2001) 0.5 a 13 mg/g de Nonilfenol dietoxilado (NPEO₂).

Aparte de los sistemas de agua naturales, los compuestos NP se pueden encontrar en el suelo. Su presencia en el suelo se debe principalmente a las actividades antropogénicas, como derrames o a la agricultura. En un estudio Marcomini y col. (1989)

reportaron que, cuando se aplicó una mezcla de NP, NPEO₁ y NPEO₂ en suelo en concentraciones de 4.7, 1.1 y 0.1 mg/kg, respectivamente, después de 100 días se encontraron concentraciones de estos compuestos en el suelo de 0.5, 0.12, 0.01 mg / kg, respectivamente; incluso después de los 320 días estos valores no habían cambiado. Por lo tanto, cuando estos compuestos envejecen en suelo, su eliminación se vuelve más difícil y su toxicidad persiste (Pryor y col., 2002).

1.9. Tratamientos de aguas residuales para la remoción de NPEO_x

A lo largo de la historia las plantas de tratamiento de aguas residuales han sido diseñadas para la eliminación de materia orgánica y ciertos tipos de contaminantes, especialmente los que se especifican en las normas oficiales. Sin embargo, el estudio de nuevos contaminantes como los emergentes, los cuales poseen una amplia gama de propiedades químicas, requieren la utilización de varios tipos de tratamientos para una segura incorporación de las aguas residuales al medio ambiente.

Las plantas convencionales de tratamiento de aguas residuales se componen de un sistema de pretratamientos, tratamiento primario - tratamientos físico-químicos - y de un sistema de tratamiento secundario – reactor biológico. Estas plantas son diseñadas para la eliminación de parámetros contaminantes convencionales, tales como DBO, DQO, sólidos suspendidos totales o nutrientes, que se encuentran presentes en las aguas residuales urbanas e industriales. Teniendo una capacidad limitada en cuanto a la eliminación de contaminantes emergentes. Los métodos empleados para el tratamiento de contaminantes emergentes pueden clasificarse en tres familias: tratamientos biológicos, tratamientos físico-químicos, y procesos combinados o híbridos.

1.9.1. Tratamientos Biológicos

1.9.1.2. Biodegradación de NPEO_x

La presencia de NPEO_x en el medio ambiente se correlaciona claramente con las actividades antropogénicas, como el tratamiento de aguas residuales industriales y cloacales y el vertido de residuos a los cuerpos de agua (Soares y col., 2008). Existen numerosos estudios sobre las transformaciones biológicas de estos compuestos en el medio ambiente, principalmente en ríos y estuarios (Jonkers y col., 2003; Lee Ferguson y Brownawell, 2003; Soares y col., 2008; Chokwe y col, 2017), asimismo varios autores han

estudiado las rutas de biodegradación por microorganismos aislados en laboratorio (John y White, 1998; Liu y col, 2006; Gu y col, 2010)

La vía propuesta de degradación de los NPEO_x según la bibliografía consultada puede verse en la Figura 1.7.

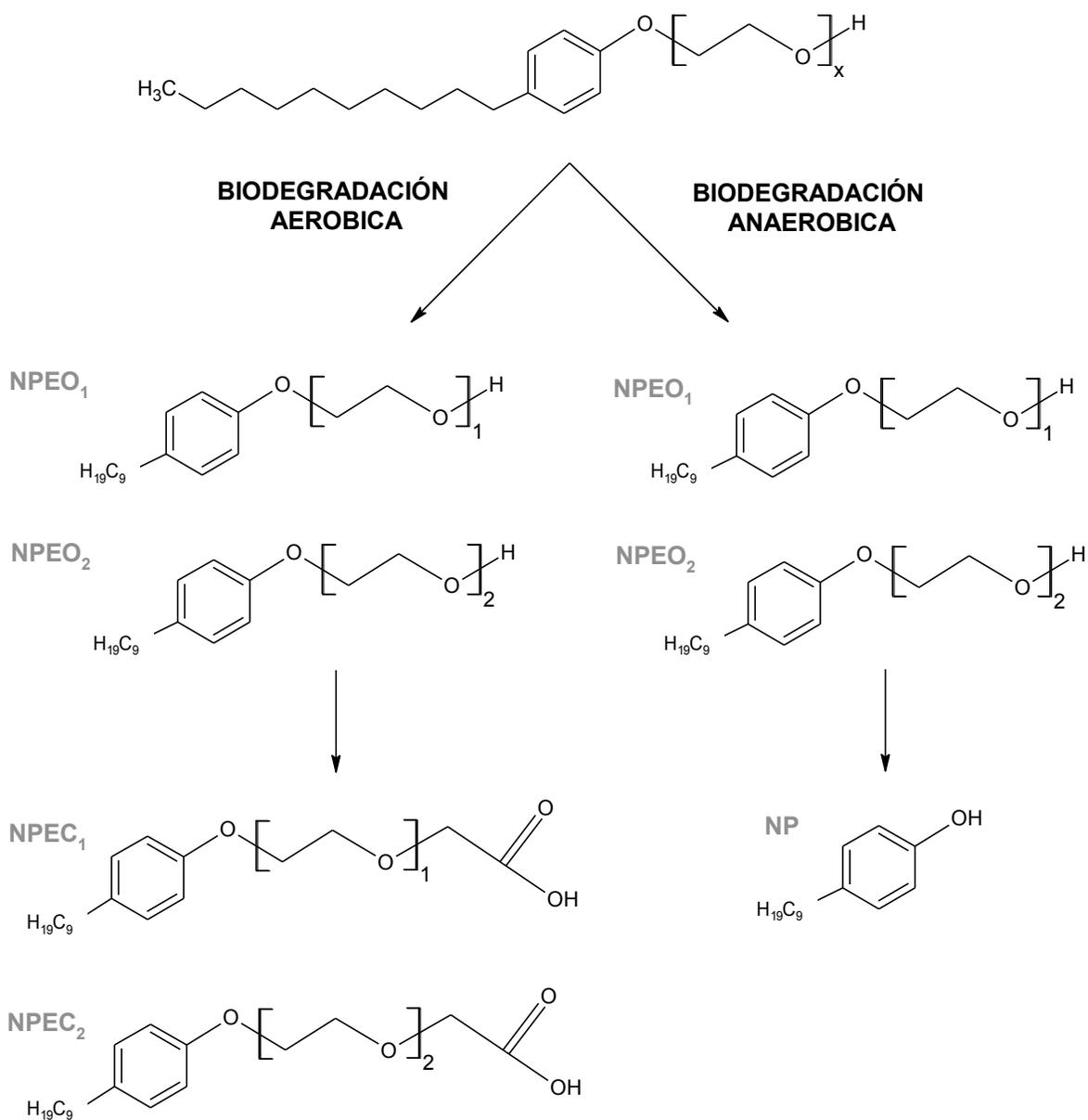


Figura 1.7: Vía propuesta de degradación de los NPEO_x

La Figura 1.7 representa los dos caminos de degradación aeróbica y anaeróbica que los nonilfenoles etoxilados (NPEO_x) seguirían en los sistemas biológicos. En

biodegradación aeróbica y anaeróbica, los NPEO_x de cadena etoxilada larga se degradaría en NPEO_x inferiores, principalmente Nonilfenol Monoetoxilado (NPEO₁) y Nonilfenol Dietoxilado (NPEO₂), además formarían ácidos carboxílicos del Nonilfenol (NPEC₂ y NPEC₁) en la vía aeróbica (Brunner y col., 1984; Luppi y col., 2007; Zhang y col., 2008). Por otro lado, se ha informado que en condiciones anaeróbicas se puede generar NP (Ying y col., 2002).

1.9.1.2. Tratamientos biológicos

La utilización del tratamiento biológico de aguas residuales para la degradación de compuestos tóxicos se encuentra en constante aumento. Los cultivos de microorganismos, tanto puros como mixtos, se utilizan en la actualidad para lograr detoxificar tantas aguas como suelos contaminados con sustancias que pueden ser tóxicas o no tan fácilmente biodegradables. En este sentido es importante destacar que, si bien los cultivos puros son de gran utilidad cuando se estudian los mecanismos involucrados en el proceso de degradación de diversos contaminantes, los mismos presentan desventajas relacionadas con el traslado de los resultados a escala real, o a la necesidad de trabajar en condiciones de esterilidad. En contraposición, la biomasa proveniente de cultivos mixtos, como los barros activados, es fácil de aclimatar a diferentes condiciones y no necesita ser manipulada bajo condiciones de esterilidad, disminuyendo sensiblemente los costos en equipamiento y de operación. Por otra parte, los microorganismos que conforman los barros activados poseen la capacidad de flocular y generalmente poseen velocidades de sedimentación tecnológicamente aceptables, lo que constituye una gran ventaja. Esto se debe a que la sedimentación por gravedad es la manera más económica de separar la biomasa del agua residual ya tratada (Wanner, 1994). Todas estas razones indican que la utilización de cultivos mixtos como los barros activados constituye una tecnología económicamente viable cuya efectividad debe ser analizada en cada caso

Si bien se han llevado a cabo estudios sobre la biodegradación de los NPEO_x tanto en aerobiosis como en anaerobiosis, utilizando cultivos puros, (John y White, 1998; Lozada y col., 2004; Kim y col., 2007; Luppi y col., 2007; Choi y col., 2014) son escasos los trabajos que utilizan flora mixta.

Como la persistencia de estos compuestos en el ambiente sigue siendo un tema de preocupación y la tecnología de barros activados es viable para ser utilizada a gran

escala es importante estudiar la capacidad de los microorganismos presentes en los barros activados para consumir NPEO_x como fuente de carbón y energía, el proceso de adaptación del consorcio microbiano a este contaminante y además el mecanismo y la cinética de eliminación de NPEO_x con el fin de controlar de manera efectiva y mejorar el rendimiento de las instalaciones de tratamiento biológico para estos productos químicos con características de biodegradación lenta e incompleta.

Las bacterias aclimatadas a degradar un compuesto tóxico están sometidas a diversos factores de estrés, tales como el estrés oxidativo. Por lo tanto, su supervivencia está determinada por el desarrollo de mecanismos que permitan enfrentar condiciones desfavorables. Una estrategia utilizada por las bacterias para resistir las diferentes situaciones de estrés es la utilización de polímeros de reserva tales como los polihidroxialcanoatos (PHA), que se almacenan en el interior celular en forma de gránulos. Cuando la fuente de carbón externa se agota, el PHA es depolimerizado para ser utilizado como fuente de carbón y energía durante periodos de ayuno (Tal y Okon, 1985) confiriendo una ventaja adaptativa a aquellas bacterias capaces de acumularlo.

1.9.2. Tratamientos fisicoquímicos

Diferentes tratamientos fisicoquímicos como oxidación y adsorción se han utilizado para como tratamientos complementarios al tratamiento biológico para eliminar contaminantes emergentes en aguas residuales.

1.9.2.1. Tratamientos por Oxidación

La oxidación es un mecanismo de remoción prometedor especialmente cuando se emplea cloro u ozono. Sin embargo, se requiere hacer una selección cuidadosa, ya que la reacción de estos químicos produce “bio-productos” cuyos efectos se desconocen (Bolong y col., 2009). El ozono ha sido ampliamente usado como un oxidante en el tratamiento de agua potable, y en repetidas ocasiones se ha propuesto para eliminar compuestos orgánicos en el tratamiento de aguas residuales. La molécula de ozono puede reaccionar con muchos compuestos orgánicos; particularmente aquellos insaturados o que contienen anillos aromáticos o heteroátomos también son capaces de descomponerse en agua para formar radical hidroxilo (Rosal y col, 2010).

Ike y col. (2003) evaluó la eficiencia de un tratamiento con ozono de varias mezclas de NPEO_x usando un reactor a nivel laboratorio y obtuvo, en todos los casos, los metabolitos NP y NPEO₁, como producto final de reacción, en tan solo 6 minutos de tratamiento.

En los últimos años se han estudiado procesos de oxidación avanzada, como una mejora al tratamiento biológico de aguas residuales, sin embargo, debido a cuestiones económicas es limitada su aplicación en plantas de tratamiento de aguas industriales o municipales. Además, en muchos casos, la oxidación podría producir intermediarios similares a los intermedios de metabolización en el entorno natural. Pelizzetti y col. (2015) estudiaron la degradación fotocatalítica de una solución acuosa de APEO_x con el TiO₂ como el catalizador resultó en una acumulación APEO_x de cadena corta y productos carboxílicos, principalmente Alquilfenol Monoetoxilado (APEO₁) y Dietoxilado (APEO₂), que son disruptores endócrinos (CEPA, 1999).

1.9.2.2. Tratamientos por Adsorción

El proceso de adsorción consiste en la captación de sustancias solubles en la superficie de un sólido. Un parámetro fundamental en este caso será la superficie específica del sólido, dado que el compuesto soluble a eliminar se ha de concentrar en la superficie del mismo. La necesidad de una mayor calidad de las aguas está haciendo que este tratamiento esté en auge. Es considerado como un tratamiento de refino, y por lo tanto al final de los sistemas de tratamientos más usuales, especialmente con posterioridad a un tratamiento biológico, como tratamiento terciario.

Varias investigaciones concuerdan que procesos de adsorción por carbón son efectivos para remover contaminantes emergentes (Filale y col, 2004; Westerhoff y col., 2005). Schafer y col. (2003) utilizaron carbón activado obteniendo una remoción de más del 90% con varios compuestos emergentes. Otro estudio comparó coagulación y adsorción por carbón activado para eliminar estrógenos donde se afirma que este último proceso resultó el más eficiente logrando una remoción mayor al 90%, incluso mejor que un sistema de nanofiltración por membranas (Bodzek y Dudziak, 2006)

Los adsorbentes comerciales, como el carbón activado, suelen presentar un carácter microporoso, lo que conlleva largos tiempo de operación, con la consiguiente ineficiencia a nivel industrial. Asimismo, diversas causas reducen la eficiencia de la

separación por carbón activado, como la competencia por sitios activos en la superficie y/o el bloqueo de los poros con otras partículas (Ying y col., 2004) y al tratarse de macromoléculas, las estructuras microporosas resultan inapropiadas para adsorber algunos contaminantes emergentes (Westerhoff y col., 2005).

El carbón activado es un producto costoso, en Estados Unidos su precio medio actual de los principales productores aparece como USD 4,5 por kilogramo con una demanda de cerca de 180 mil toneladas para el año 2010. (Kirschner, 2016). La demanda mundial de carbón activado se prevé un aumento de 8.1% al año a 2,1 millones de toneladas métricas en 2018 (The Freedonia Group, 2015).

Por lo tanto, el desarrollo de materiales mesoporosos de bajo costo permitiría adsorber moléculas de gran tamaño, mejorando notablemente las características cinéticas del proceso y reduciría los costos operativos que conlleva la utilización de un adsorbente. Recientemente, se han considerado algunos biosorbentes naturales como adsorbentes alternativos de bajo costo. Se ha propuesto una variedad de biosorbentes naturales para la eliminación de contaminantes a partir de soluciones acuosas, incluyendo corteza y virutas de madera, el quitosano, la turba, el bagazo de la caña de azúcar, paja y las cáscaras de arroz, bambú activado, y otros (Asada y col., 2004; Bhatnagar y Sillanpää, 2009; Brandão y col., 2010; Chakraborty y col., 2011; Ibrahim y col., 2010). Sin embargo, las capacidades de adsorción obtenidos con estos adsorbentes plantean cuestiones con respecto a su eficiencia y regeneración. Aunque el lignito se ha utilizado para preparar carbones activados (Duggan y Allen, 1997; Finqueneisel y col, 1998), la literatura es escasa respecto a la utilización de lignito directamente para la adsorción, siendo que ofrecen una buena alternativa de adsorción en relación con su eficiencia y costo.

Los trabajos exploratorios permitieron identificar tres mantos de lignito en Argentina, en el área del Río Coyle (con Recursos Inferidos de 5.000.000.000 toneladas) y curso Medio del Río Santa Cruz (con Recursos Inferidos de 2.350.000.000 toneladas), que tienen un poder calórico de 3500 kcal/kg, limpio y sin cenizas y solo con humedad inherente (Correa y col., 2014).

Por lo tanto, las reservas conocidas en Argentina de Lignito llegarían a 7.35×10^3 millones de toneladas de mineral, de ese total sería técnicamente aprovechable el 75 por ciento lo que indicaría que el lignito, un material económico y disponible para ser utilizado para diversos fines (García y Miralles, 2008).

Para utilizar el Lignito crudo como adsorbente para la remoción de contaminantes es necesario estudiar el efecto que la naturaleza química superficial de los adsorbentes tiene sobre las propiedades del contaminante, determinando además la cinética del proceso y las isotermas de adsorción y compararlo con las capacidades de adsorción de adsorbentes convencionales como el Carbón Activado.

1.9.3. Tratamientos combinados

Los tratamientos biológicos se han catalogado como la tecnología más viable en el tratamiento de aguas residuales, sin embargo, generalmente producen solo una remoción parcial de contaminantes emergentes los cuales en la mayoría son descargados en los efluentes de las plantas de tratamiento. Por otro lado, el proceso fisicoquímico de adsorción se postulan como buena opción para el tratamiento de contaminantes emergentes sin embargo la desventaja se presenta en cuanto a un alto costo comparado con los procesos biológicos, por lo cual es considerado como un tratamiento de pulimiento, y por lo tanto se lleva a cabo al final de los sistemas de tratamientos convencionales.

Se han reportado diversas investigaciones que contemplan la combinación de procesos fisicoquímico con biológicos, resaltando su gran potencial ante el problema del tratamiento de aguas contaminadas difíciles o imposibles de remover por procesos convencionales fisicoquímicos o biológicos y con el prometedor objetivo de reutilizar esa agua y contribuir con el cuidado medioambiental (Gogate y Pandit, 2004; Mantzavinou y Psillakis, 2004). Por lo tanto, el uso de un proceso fisicoquímico utilizándolo como post-tratamiento, tratamiento terciario o de refinado puede mejorar la biodegradabilidad de aguas residuales o lograr una completa remoción de este tipo de aguas residuales contaminadas con NPEO_x.

Asimismo, la combinación de adsorción y biodegradación en una misma etapa de tratamiento, ofrece altos rendimientos para la remoción de contaminantes difícilmente biodegradables y ha sido aplicado para tratar aguas residuales municipales, municipales e industriales conjuntamente, industriales, residuos peligrosos, lixiviados provenientes de basurales; se ha utilizado en la industria para tratar aguas residuales conteniendo químicos orgánicos, plásticos, fibras sintéticas, solventes, colorantes y pesticidas (Kapdan y Kargi, 2002; Widjaja y col., 2004; Orozco y col., 2008; Campos y col. 2014; Gholizadeh y col., 2016 ;Jafarnejad, 2017). La presencia de carbón activado u otro adsorbente provee

una superficie sobre la cual se adsorben las células microbianas, enzimas, sustancias orgánicas y oxígeno. Así, se generaría un ambiente muy enriquecido para el desarrollo microbiano. Asimismo, las enzimas extracelulares excretadas por los microorganismos provocarían la regeneración del adsorbente mediante la degradación de los compuestos orgánicos adsorbidos (Sublette y col, 1982). De esta forma, su capacidad de adsorción sería mucho mayor que la de un sistema de adsorción en ausencia de microorganismos. Asimismo, la adición de adsorbente al sistema de barros activados se postula como una alternativa adecuada, no sólo para aumentar la eficiencia del proceso en el tratamiento de efluentes, sino también para proteger la biomasa contra sustancias tóxicas que pudieran estar presentes en las aguas residuales (Orshansky y Narkis, 1997; Aktaş y Ceçen, 2001).

Con el fin de desarrollar un tratamiento de agua altamente competitivo para la eliminación de NPEO_x no tratables mediante técnicas convencionales debido a su alta estabilidad química y/o baja biodegradabilidad, se plantean los siguientes objetivos:

1.10. Objetivos Generales

En el presente trabajo de Tesis se propone estudiar la aplicación de tratamientos combinados (biológicos y fisicoquímicos) en aguas residuales conteniendo el contaminante emergente: nonilfenol polietoxilado (NPEO_x) ampliamente utilizado en la industria y que se considera como disruptor endócrino.

1.11. Objetivos Específicos

El sistema que se analizará es complejo debido a que intervienen diversos componentes, tales como la mezcla comercial de nonilfenol polietoxilado (NPEO_x), la biomasa y el adsorbente. Por esta razón, se generan diferentes interacciones que deben ser analizadas individualmente en una primera instancia, para luego realizar el estudio del sistema en su conjunto.

Se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1) Cuantificación de NPEO_x

- ✓ Desarrollar una técnica de cuantificación de oligómeros individuales de NPEO_x por cromatografía líquida de alta presión HPLC.

2) Tratamiento Biológico: Barros activados

- ✓ Analizar la posibilidad de utilizar reactores biológicos batch de barros activados para degradar NPEO_x
- ✓ Utilizar barros activados aclimatados al fenol para la remoción de NPEO_x de aguas residuales. Comparar los resultados obtenidos mediante la utilización de barros activados no aclimatados y aclimatados al fenol.
- ✓ Investigar la toxicidad NPEO_x sobre la comunidad microbiana
- ✓ Estudiar el proceso de aclimatación a NPEO_x por ensayos de batch consecutivos y por ensayos de respirometría intermitente para conocer los rendimientos del sistema y la cinética de degradación
- ✓ Analizar las comunidades bacterianas de los barros y su capacidad para producir polihidroxialcanoatos (PHA).
- ✓ Analizar, cuantificar la producción cada uno de los oligómeros de NPEO_x la remoción en reactores batch de barros activados y la acumulación de metabolitos tóxicos.
- ✓ Estudiar el efecto de la concentración inicial de NPEO_x y el número de unidades etoxiladas sobre la biodegradación de NPEO_x.
- ✓ Proponer un mecanismo de remoción para explicar los resultados obtenidos

3) Tratamiento Fisicoquímico: Adsorción

- ✓ Caracterizar diferentes adsorbentes para remover NPEO_x
- ✓ Analizar la posibilidad de utilizar procesos de adsorción para emplearlo como tratamiento terciario o complementario del tratamiento biológico de aguas residual con NPEO_x.
- ✓ Determinar las cinéticas de adsorción, las isotermas de adsorción y los parámetros termodinámicos que caractericen al proceso de adsorción.
- ✓ Proponer un mecanismo de remoción para explicar los resultados obtenidos

4) Tratamiento Combinado

- ✓ Estudiar la utilización de tratamientos combinados para aumentar la eficiencia de remoción de NPEO_x de aguas residuales

1.12. Estructura general del presente trabajo de Tesis

A continuación, se detallan los contenidos principales de los diferentes capítulos que conforman el presente trabajo de Tesis.

En el Capítulo 2 se exponen los materiales y métodos generales utilizados en la realización del trabajo de Tesis.

En el Capítulo 3, se explica el desarrollo de una técnica de cuantificación de oligómeros individuales de NPEO_x por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), realizando la selección y optimización de las variables que intervienen en el proceso cromatográfico y se comprueba la utilidad de la metodología desarrollada.

En el Capítulo 4 se analiza la remoción de una mezcla de NPEO_x con un promedio de nueve unidades etoxiladas (NPEO_{av9}) en el sistema de barros activados con inóculo proveniente de un efluente modelo de industria láctea y de barros aclimatados a fenol. Se describe el proceso de aclimatación de barros a NPEO_{av9} por ensayos de batch consecutivos y por ensayos de respirometría intermitente, lo que permite conocer los rendimientos del sistema y la cinética de degradación de NPEO_{av9}. Se analizan las comunidades bacterianas y su capacidad para producir polihidroxialcanoatos (PHA). Se cuantifica la concentración de cada uno de los oligómeros que componen la mezcla comercial NPEO_{av9} durante la remoción en reactores batch de barros activados y la acumulación de metabolitos resultantes del tratamiento. Se analiza el efecto de las unidades etoxiladas en la degradación, utilizando diferentes mezclas comerciales con un promedio cinco, nueve y doce unidades etoxiladas (NPEO_{av5}, NPEO_{av9}, NPEO_{av12}) como sustrato. Por último, se propone un mecanismo de remoción para explicar los resultados obtenidos.

En el Capítulo 5 se estudia la capacidad de dos adsorbentes, carbón activado y lignito crudo, para remover varias mezclas comerciales de NPEO_x del agua; para ello caracterizaron diferentes mezclas comerciales con un promedio cinco, nueve y doce unidades etoxiladas (NPEO_{av5}, NPEO_{av9}, NPEO_{av12}) y los adsorbentes. Se determina el

área molecular, la concentración micelar crítica, el tamaño de partícula, el área superficial, la distribución del tamaño de poro, la distribución de tamaño de partícula y los grupos funcionales presentes en los adsorbentes. Se ensaya el efecto de la concentración de adsorbente, del tipo de adsorbato y la adsorción selectiva de oligómeros individuales en el proceso de adsorción. Se determinan las isothermas de sorción que caracterizan al sistema y se determinaron los parámetros termodinámicos. Por último, se propone un mecanismo de adsorción para explicar los resultados obtenidos.

En el Capítulo 6 se estudia la utilización de tratamientos combinados para aumentar la eficiencia de remoción de NPEO_x de aguas residuales

Por último, en el Capítulo 7, se presentan las conclusiones generales del trabajo de Tesis.

1.13. Nomenclatura

A continuación se indica la nomenclatura utilizada en el presente trabajo de tesis para designar a los contaminantes estudiados:

APEO_x	Alquilfenol Polietoxilado con un promedio x de unidades etoxiladas
NPEO_x	Nonilfenol Polietoxilado con un promedio x de unidades etoxiladas
OPEO_x	Octilfenol Polietoxilado con un promedio x de unidades etoxiladas
NPEC_x	Ácidos Carboxílicos de Nonilfenol con un promedio x de carboxilos
x	Grado promedio de polimerización
$\text{NPEO}_{\text{av}5}$, $\text{NPEO}_{\text{av}9}$ $\text{NPEO}_{\text{av}12}$	Mezcla comercial de Nonilfenol Polietoxilado con 5, 9 y 12 grupos etoxilados
NPEO_i	Oligómero con i unidades etoxiladas (ejemplo NPEO_2 , Nonilfenol dietoxilado)
$C_{\text{NPEO}x}$	Concentración total de NPEO_x determinada por HPLC
$C_{\text{NPEO}i}$	Concentración del oligómero con i unidades etoxiladas
EO_x	Concentración de grupos etoxilos determinada por el método colorimétrico Yodo-Yoduro
X	Concentración de Biomasa
S	Concentración del sustrato limitante del crecimiento celular (en este caso, NPEO_x)
DQO	Demanda Química de Oxígeno. DQO_T : Demanda Química de Oxígeno Total. DQO_s : Demanda Química de Oxígeno Soluble.
NAT	Nitrógeno amoniacal total
PHA	Polihidroxialcanoatos

$Y_{X/S}$	Rendimiento en biomasa
q_s	Velocidad específica de consumo de sustrato
R_T	Velocidad de respiración
q_{ex}	Velocidad específica de respiración exógena
q_{en}	Velocidad específica de respiración endógena
$Y_{O/S}$	Coefficiente de oxidación del sustrato
μ	Velocidad específica de crecimiento de la biomasa
μ_{max}	Es la velocidad específica máxima de crecimiento
K_s	Constante de semisaturación
K_1	Constante de velocidad específica de consumo de sustrato de primer orden
IVL	Índice Volumétrico de Lodo
θ	Capacidad de adsorción de los adsorbentes
C_e	Concentración de NPEO _x en el equilibrio, C_{NPEOx} en el equilibrio
θ_e	Capacidad de adsorción de los adsorbentes en el equilibrio
k_1	Constante de velocidad de pseudo primer orden
k_2	Constante de velocidad de pseudo segundo orden
a	Constante de Langmuir empírica
k_L	Constante empírica Langmuir
ΔG_o	cambio de energía libre de Gibbs estándar
Q	Cociente de adsorción
K	Constante de equilibrio
ΔH_o	Cambio de entalpía estándar
ΔS_o	cambio de entropía estándar



CAPITULO 2

Materiales y Métodos

2.1. Patrones de NPEO_x

Los patrones utilizados fueron los tensioactivos no iónicos Igepal CO-520 (NPEO_{av5}), Igepal CO-630 (NPEO_{av9}) y Igepal CO-720 (NPEO_{av12}), los cuales tienen un promedio de cinco, nueve y doce unidades etoxiladas, respectivamente (Sigma-Aldrich, Milano, Italia). De acuerdo con la información del fabricante, el peso molecular promedio en número (M_N) de Igepal CO-520 es 414 gr/mol, el del CO-630 es 617 gr/mol, mientras que el de CO-720 es 749 gr/mol.

2.2. Determinación de NPEO_x

2.2.1. Determinación de NPEO_x por el Método Yodo-Yoduro

Una de las metodologías utilizadas para la determinación de la concentración de NPEO_x fué el método yodo - yoduro. Este método implica la formación de un complejo de color entre el tensioactivo no iónico y el reactivo de yodo - yoduro (Baleaux, 1972). Esta técnica proporciona un método rápido y repetitivo para la determinación de concentraciones de tensioactivos no iónicos en soluciones acuosas.

Para la determinación de la concentración total de tensioactivos no iónicos etoxilados, se adicionaron de 0.25 mL de solución KI₃ (2% de yoduro de potasio y 1% de yodo) a 10 mL de muestra con una concentración de 1 a 20 ppm de tensioactivo. A los 5 min se midió la absorbancia a 505 nm. El blanco se preparó sustituyendo la muestra con agua destilada. Periódicamente, se realizaron curvas de calibración para cada tensioactivo estudiado.

Las curvas de calibración se prepararon para cada uno de los NPEO_x. Los resultados fueron aproximadamente proporcionales al número de unidades etoxilados de los NPEO_x para concentraciones inferiores a 20 mg/L. Para concentraciones superiores, la curva de calibración de NPEO_{av5} resultó ligeramente diferente a la de NPEO_{av9} y NPEO_{av12} probablemente porque el NPEO_{av5} es parcialmente insoluble en agua a dichas concentraciones. Para determinar la concentración total de tensioactivos se realizaron las diluciones necesarias para trabajar siempre en el rango de concentración de 1 a 20 mg/L.

La Figura 2.1. muestra que las curvas de calibración obtenida resultaron lineales indicando la proporcionalidad de la adsorbancia medida con concentración, dentro de el intervalo de trabajo.

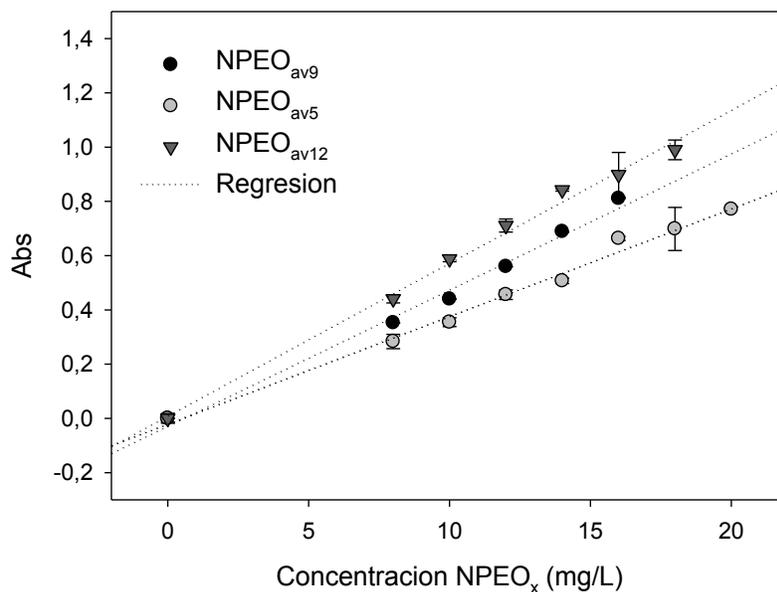


Figura 2.1. Curvas de calibración obtenidas en mg/L para diferentes mezclas comerciales de NPEO_x

Según lo informado por Maldonado Millan (1990), este método aprovecha la presencia de los grupos de óxido de etileno en estos tensioactivos, para la formación del complejo rojo entre el grupo I-3 y los grupos oxigenados de la cadena etoxilada que absorbe a la longitud de onda de 505 nm. Debido a que la cantidad de NPEO_x medida con el método Yodo- Yoduro representa la fracción de unidades etoxiladas, la concentración de NPEO_x determinada por el mencionado método se denominara como EO_x.

Por otro lado, se verificó que la coloración que proporciona el método es aproximadamente independiente del número de unidades etoxiladas promedio si se grafica la concentración molar, obtenida a partir del cociente de la concentración en mg/L por el peso molecular promedio en número (M_N) indicado en la sección 2.1 (Figura 2.2). Por lo tanto, se trabajó en unidad de concentración molar.

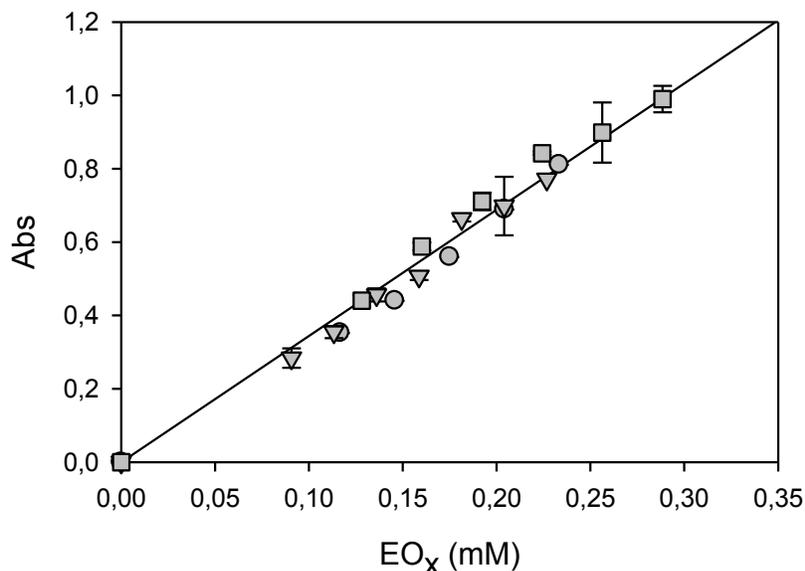


Figura 2.2. Curvas de calibración obtenidas concentración molar para distintas mezclas comerciales de NPEO_x

2.2.2. Determinación de NPEO_x por HPLC

Se analizaron las mezclas comerciales de NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12} por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). El sistema de HPLC utilizado en el presente trabajo consistió en dos bombas (Waters, modelo 6000A) acopladas con un detector de matriz de diodos UV-visible (Waters, modelo 2998). Cuando se realizaron espectros de absorción de muestras de Igepal, se usaron longitudes de onda de 200 a 300 nm (resolución = 1 nm). Los oligómeros presentes en las soluciones de Igepal analizadas se separaron usando una columna Symmetry 5m ® C8 (4,6 mm x 150 mm). En todos los casos, el volumen de inyección fue de 50 µL y el caudal fue de 0.5 mL / min. Con este índice de flujo, se obtuvo un buen compromiso entre la resolución y el tiempo de análisis. Se probaron fases móviles con diferentes proporciones de AcN/H₂O (60:40, 70:30 y 80:20 (v / v)); en todos los casos, se utilizó el modo isocrático. También se estudió el efecto de la temperatura de la columna en la resolución y en la intensidad de los picos cromatográficos; las temperaturas evaluadas variaron de 30 a 50 °C.

Los patrones se prepararon por pesada de 50, 100, 250 y 500 mg de NPEO_x en un litro de una solución 1:1 v/v de acetonitrilo /agua (AcN/H₂O). Luego, estas soluciones madre se diluyeron en 1:1 v/v AcN/H₂O para obtener las concentraciones deseadas de

tensioactivo comercial. Se realizó la curva de calibración, que permitió determinar la concentración total de las mezclas comerciales (C_{NPEO_x}) y a partir de la metodología que se propone en el Capítulo 3, también se determinaron la concentración de cada uno de los oligómeros de las mezclas comerciales NPEO_i (C_{NPEO_i}).

Para el análisis de la fracción soluble de NPEO_x las muestras se centrifugaron a 13000 rpm durante 10 minutos en una centrífuga Eppendorf 5415C. El sobrenadante se diluyó con acetonitrilo para obtener una solución 1:1 v/v AcN/muestra (a 1 ml de muestra de sobrenadante se le agregó 1 ml de acetonitrilo puro), para mantener todos los oligómeros en solución; después se filtraron empleando una membrana Millipore de 0,45 micrones. Además, para determinar la concentración de los oligómeros que podrían haber quedado adheridos a la biomasa, se realizaron extracciones de la biomasa utilizando la siguiente metodología: a 1 mL previo al centrifugado se le agregó 1 mL de acetonitrilo puro para obtener una solución 1:1 v/v AcN/muestra, se agitaron las muestras con un vortex, se centrifugaron a 13000 rpm durante 10 minutos en una centrífuga Eppendorf 5415C, se agitaron por segunda vez y se volvió a centrifugar; por último se filtraron empleando una membrana Millipore de 0.45 micrones.

2.3. Tratamiento Biológico

2.3.1. Métodos analíticos

2.3.1.1. Determinación de la concentración de biomasa

La concentración de biomasa (X) fue determinada como sólidos suspendidos totales (SST) de la siguiente manera:

- 1) Un volumen (V_M) determinado de muestra conteniendo biomasa era colocado en tubos de vidrio de peso conocido (m_i), luego se centrifugaba y se descartaba el sobrenadante.
- 2) El precipitado contenido en los tubos era lavado con agua destilada, nuevamente era centrifugado y se descartaba el sobrenadante.
- 3) Los tubos conteniendo el precipitado se colocaban en estufa ($105\text{ }^\circ\text{C}$) durante 24 horas con el objeto de eliminar el agua remanente. Luego de este período, los

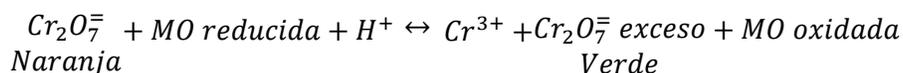
tubos se pesaron (m_f). La concentración de biomasa (X) se calculaba mediante la ecuación 2.1

$$X = \frac{m_f - m_i}{V_M} \quad (2.1)$$

El tiempo de secado del precipitado fue determinado de acuerdo con la realización de ensayos de secado en función del tiempo. A partir de las 24 horas de tiempo de secado a 105 °C no se observaron variaciones significativas en la concentración de biomasa tanto en presencia como en ausencia de carbón activado en polvo (Lobo, 2014).

2.3.1.2 Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno (DQO) corresponde a la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la fracción de materia orgánica (MO) de una muestra de agua residual susceptible a la oxidación por dicromato ($Cr_2O_7K_2$) en medio ácido. La mayoría de los compuestos orgánicos biodegradables o inertes (no biodegradables) son oxidados completamente a CO_2 .



En la determinación de la DQO los compuestos orgánicos son oxidados por el dicromato de potasio en medio sulfúrico a 150 °C durante dos horas. El ensayo se realiza en presencia de un catalizador, sulfato de plata (Ag_2SO_4), para facilitar la oxidación de los compuestos orgánicos. Así, la mayoría de los compuestos se oxidan completamente y sólo en algunos hidrocarburos aromáticos y piridinas la oxidación puede resultar parcial.

La interferencia más común la presentan los iones cloruro, ya que los mismos son oxidados por el dicromato en solución ácida. Para minimizar la reacción anterior se adiciona sulfato de mercurio ($HgSO_4$). En las condiciones del ensayo, el amonio no puede ser oxidado, por lo tanto, no interfiere en los resultados.

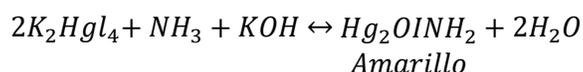
En el presente estudio, esta metodología fue utilizada para determinar la concentración de sustrato en solución. Las muestras se centrifugaban a 13000 r.p.m. durante 5 minutos y eran filtradas utilizando una membrana Millipore HA de 0.45 μm de

tamaño de poro que retiene la mayoría de las células microbianas y/o carbón activado en polvo.

Las determinaciones de la demanda química de oxígeno (DQO) se realizaron empleando un kit comercial (HACH, método 8000). Se utilizó un reactor HACH para el tratamiento térmico de las muestras a 150 °C a reflujo cerrado durante dos horas. Luego, los tubos conteniendo las muestras se dejaban enfriar y se determinaba la absorbancia a 600 nm con un espectrofotómetro HACH DR/2000. Mediante una curva de calibración incorporada en el equipo, las lecturas de absorbancia eran convertidas en valores de DQO automáticamente. Este método se encuentra aprobado por la USEPA para el análisis de aguas residuales (Federal Register, 1980).

2.3.1.3. Determinación del nitrógeno amoniacal total (NAT) y Nitratos

La determinación del nitrógeno amoniacal total (NAT) se realizó mediante el método colorimétrico de Nessler utilizando un espectrofotómetro y reactivos Hach (Hach Company, Loveland, CO). En presencia de iones amonio, el reactivo de Nessler forma yoduro de dimercuriamonio, un compuesto de (color amarillo) el cual se cuantifica a 425 nm.



Mediante una curva de calibración incorporada en el equipo, las lecturas de absorbancia fueron convertidas a valores de mg de nitrógeno amoniacal/L.

La determinación de nitratos (N-NO₃⁻) se realizó mediante el método colorimétrico de reducción de cadmio (Hach N° 8039) utilizando un espectrofotómetro y reactivos Hach (Hach Company, Loveland, CO).

2.3.2. Generación de barros activados

Los barros activados utilizados en el presente trabajo de tesis fueron generados en reactores biológicos aerobios semicontinuos escala laboratorio constituidos por un tanque de aireación de 3 L con 2.5 L de volumen de trabajo (Figura 2.3). La aireación se proporcionó en la parte inferior del reactor a través de un difusor de aire a 2 L min⁻¹; el oxígeno disuelto (DO) se mantuvo por encima de la concentración de 4 mgO₂/L.

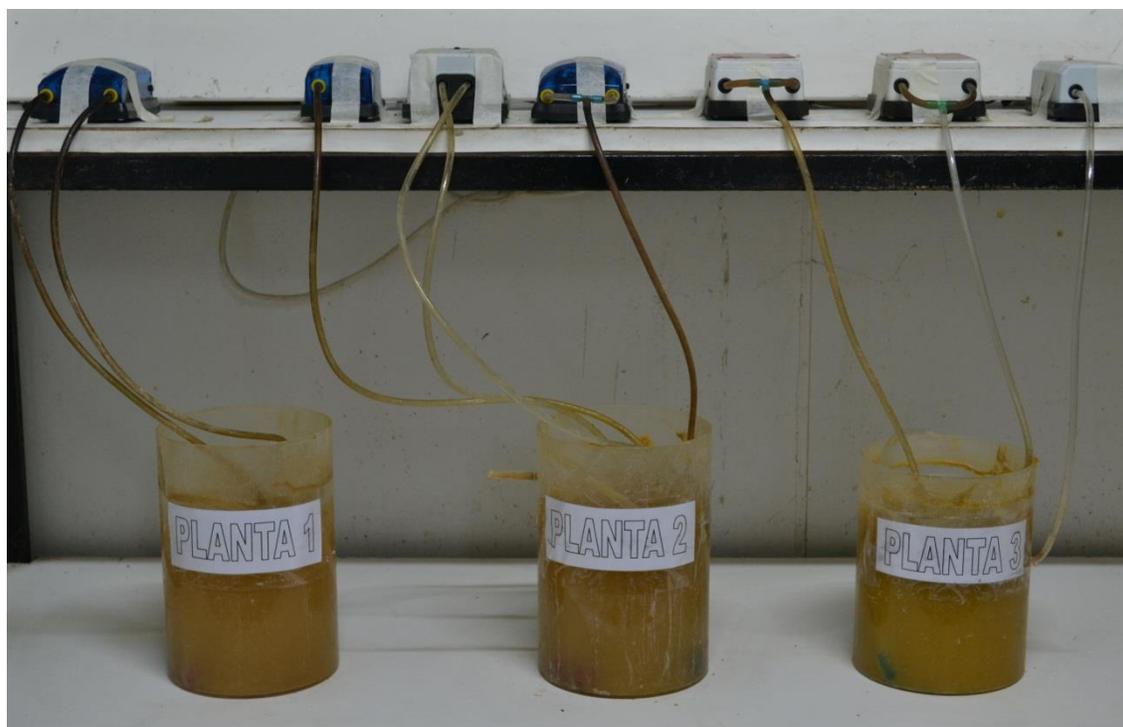


Figura 2.3. Fotografía de los reactores de barros activados utilizados

Para analizar la remoción de una mezcla de NPEO_x en el sistema de barros activados con inóculo proveniente de un efluente modelo de industria láctea y de barros aclimatados a fenol, se utilizó por un lado un inóculo aclimatado a un medio de cultivo modelo de efluente de industria láctea (Orozco y col., 2008) constituido por: suero de queso deshidratado 1000 mg/L (1000 mgDQO/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 940 mg/L, K_2HPO_4 500 mg/L, y KH_2PO_4 250 mg/L. El suero de queso deshidratado empleado en este trabajo fue suministrado por Food SA, Argentina. La Tabla 2.1 muestra las características del suero de queso deshidratado empleado.

Tabla 2.1. Características del suero de queso deshidratado utilizado en el presente trabajo de tesis

Aspecto	Polvo fino, blanco amarillento, de aroma agradable
pH	6.5 ± 1 en solución al 10%
Acidez	Expresada en ácido láctico, no superior a 0.20 %.
Humedad	4.0 %
Lípidos totales	mínimo 2.0 %
Proteínas totales	mínimo 12.0 %
Lactosa	mínimo 40.0 %
Cenizas (500-550 °C)	máximo 8.0 %
Recuento de:	
Bacterias mesófilas aerobias	100 UFC/dgr
Bacterias coliformes 30 °C	1 UFC/dgr
Levaduras	5 UFC/dgr
Hongos	5 UFC/dgr
Bacterias coliformes 45 °C	Negativo en 1 gr
Staphylococcus Coagulasa Positivo	Negativo en 3 gr
Salmonella	Negativo en 25 gr

Por otro lado, se obtuvo un barro activado aclimatado a 300 mg/L de fenol empleando los barros activados generados en la planta de suero de queso. Los barros fueron aclimatados a fenol empleando un medio de cultivo sintético con fenol como única fuente de carbón y energía (Nuhoglu y Yalcin, 2005). La aclimatación de barros activados a fenol se llevó a cabo en ensayos de batch consecutivos (Ferro Orozco y col, 2010). El medio de cultivo estaba compuesto por (NH₄)₂SO₄ 226 mg/L, MgSO₄.7H₂O 25 mg/L, MnSO₄.H₂O 2.5 mg/L, FeCl₃ 2 mg/L, CaCl₂.2H₂O 2 mg/L, KH₂PO₄ 250 mg/L, K₂HPO₄ 500 mg/L y Fenol 300 mg/L.

Los barros activados aclimatados a fenol se emplearon como inóculo para obtener un barro aclimatado a NPEO_x. La aclimatación de barros activados a NPEO_x se llevó a cabo en ensayos de batch consecutivos (Ferro Orozco y col, 2010) donde el inóculo para el siguiente ensayo batch se obtiene del ensayo anterior.

La planta se alimento con un medio de cultivo con Igepal CO-630 (NPEO_{av9}) como la única fuente de carbón: 100-500 mg/L y un medio mineral compuesto por (NH₄)₂SO₄ 500 mg/L, K₂HPO₄ 250 mg/L KH₂PO₄ 25.2 mg/L MgSO₄.7H₂O 2 mg/L, CaCl₂ 1 mg/L, 1 ml de antiespumante siliconado y soluciones de micronutrientes M₁ and M₂ (1 mL/L). La composición de M₁ fue FeSO₄.7H₂O 150 mg/L, ZnSO₄.7H₂O 50 mg/L, MnSO₄.H₂O 0.03 mg/L, CuSO₄.5H₂O 7.5 g/L, CoCl₂.6H₂O 1.5 mg/L, and citric acid 60 mg/L. y la solución M₂ contenía (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O 5 mg/L, BO₃H₃ 1 mg/L, KI 1 mg/L. El pH se ajustó a 7.0 ± 0,05 mediante la adición de unas pocas gotas de soluciones concentradas de NaOH o HCl.

El reactor se controló periódicamente con mediciones de sólidos suspendidos totales (SST) y demanda química de oxígeno soluble (DQO_s). La biomasa se consideró aclimatada al NPEO_x cuando la velocidad específica de consumo de DQO era constante y la biomasa fue separada por sedimentación y se resuspendió en medio de cultivo fresco para servir como inóculo para el siguiente ensayo batch.

2.3.3. Operación del reactor de barros activados

La alimentación de los reactores fue realizada diariamente y la purga de los barros activados se realizó cada 2 días. Para realizar la purga de los barros, se agitó el reactor y se extrajo diariamente un volumen de líquido conteniendo biomasa de la planta (Figura 2.4).

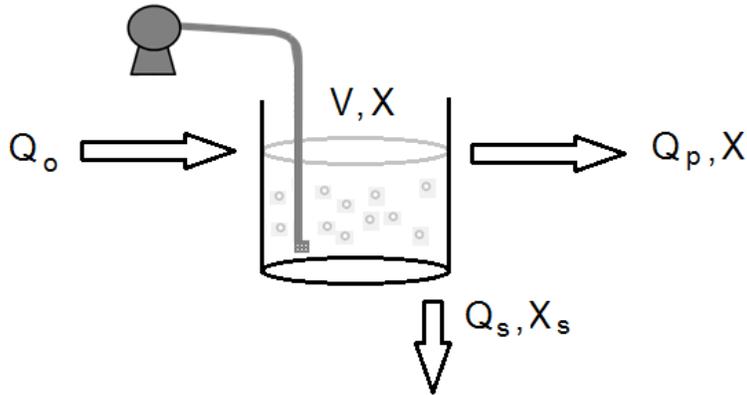


Figura 2.4. Esquema de operación del sistema de tratamiento de efluentes por barros activados. Q_o : caudal de entrada (L/día); V : volumen total del reactor (L); X : concentración de biomasa dentro del sistema (SST/L); Q_s : caudal de salida (L/día); X_s : concentración de biomasa presente en el efluente final (SST/L); Q_p : caudal de purga (L/día).

El tiempo de residencia hidráulico (θ_H) se define mediante la ecuación 2.2 (Orhon y Artan, 1994).

$$\theta_H = \frac{V}{Q_o} \quad (2.2)$$

dónde: V es el volumen del reactor y Q_o es caudal de entrada.

Asimismo, el tiempo de residencia celular se define como el cociente entre la biomasa total en el reactor y la cantidad de biomasa que sale del diariamente sistema mediante la purga y en el efluente final:

$$\theta_c = \frac{X \cdot V}{X \cdot Q_p + X_s \cdot Q_s} \quad (2.3)$$

Si la concentración de biomasa en el efluente final (X_s) es despreciable, el tiempo de residencia celular resulta:

$$\theta_c = \frac{V}{Q_p} \quad (2.4)$$

Las condiciones de operación de la planta fueron: temperatura = 20 ± 2 °C, pH inicial 7, tiempo de residencia hidráulico (θ_H) 80 h. El tiempo de residencia celular fue de la planta de suero fue 20 días. En la generación de barros activados alimentados con suero

de queso y aclimatados a fenol y NPEO_x, θ_c fue variable y dependía de la capacidad del consorcio microbiano a consumir la fuente de carbóno inicialmente. Una vez obtenido un barro aclimatado, se fijo en un valor e 20 días.

2.3.4. Medidas respirométricas

La velocidad de consumo de oxígeno es un indicador de la actividad de microorganismos aerobios (Ros, 1993; Vanrollehem y col., 1994). Las medidas respirométricas se basan en los cambios de la concentración de oxígeno disuelto (OD) en un cultivo debido a la respiración aerobia de los microorganismos presentes. La respirometría ha sido utilizada, entre otras cosas, para evaluar toxicidad de aguas residuales (King y Dutka, 1986; Vanrollehem y col., 1994; Kong y col., 1996). En el presente trabajo de tesis se utilizó una técnica respirométrica para evaluar el efecto del NPEO_x sobre la actividad metabólica de los barros activados.

Los ensayos fueron llevados a cabo utilizando un respirómetro intermitente que consistía en un reactor de 1.5 L con control de temperatura ($30 \pm 0,5$ °C) en que se realizo el ensayo de aclimatación por batch consecutivos descrito en la sección 2.3.2, para analizar las velocidades de respiración del consorcio microbiano durante el proceso de adaptación a consumir NPEO_x como única fuente de carbóno. La agitación fue proporcionada por una varilla de agitación magnética y el respirómetro se aireó continuamente por una bomba de aire y se ajustó a una velocidad de flujo estable (0.5 L min^{-1}). La concentración de OD en función del tiempo se registró cada 30 segundos utilizando un sensor de oxígeno óptico (YSI ProODO) y el aireador se apagaba a intervalos regulares con un *timer* analogico. En la Figura 2.5, se muestra una fotografía del respirómetro empleando en el presente trabajo de tesis.

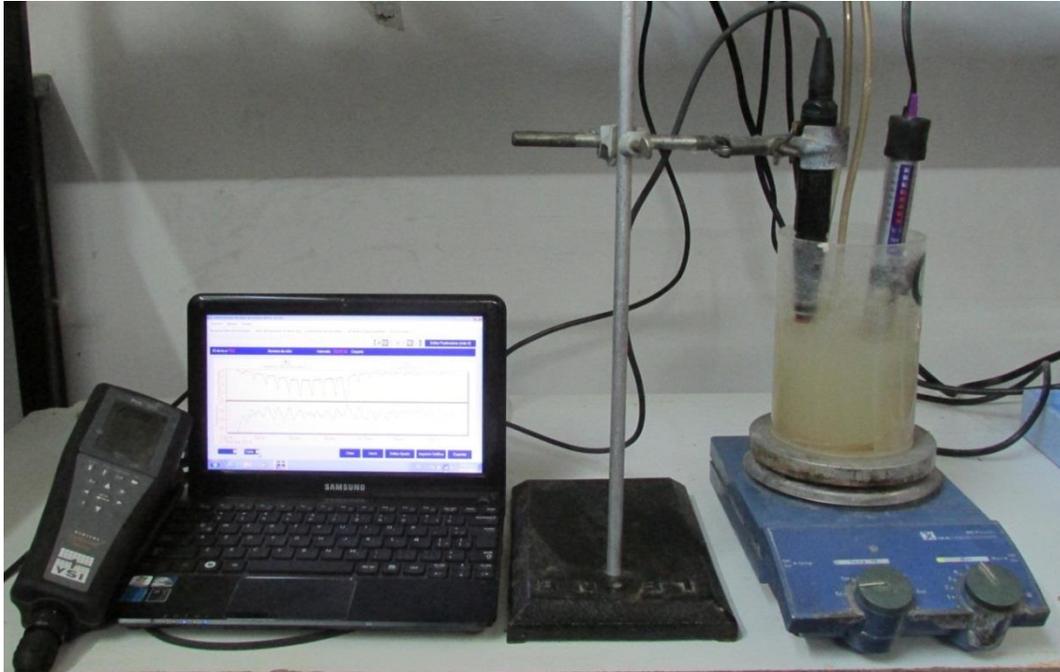


Figura 2.5. Fotografía del respirómetro utilizado

La velocidad de respiración total se calcula a partir de la pendiente de la OD con respecto al tiempo cuando el aireador está apagado (Figura 2.6).

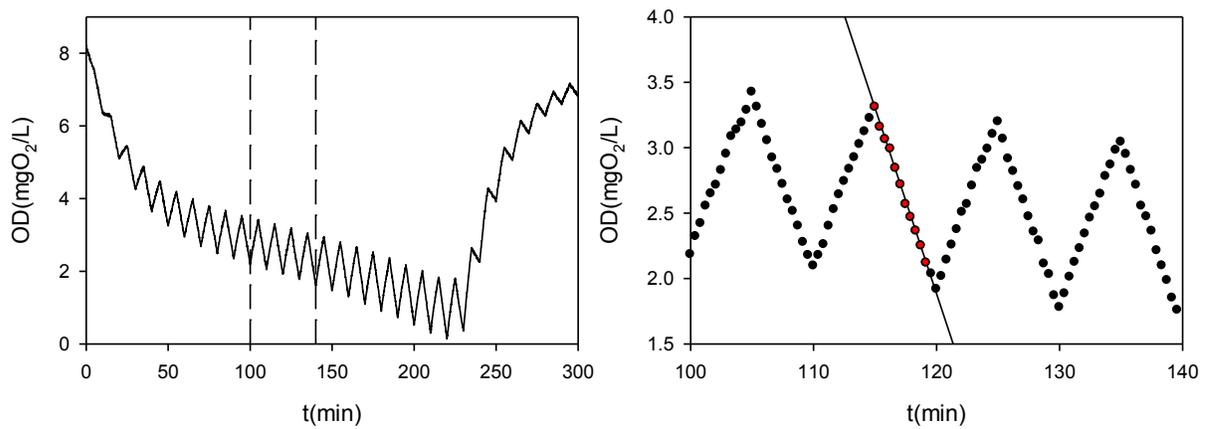


Figura 2.6: Velocidad de respiración total de cálculo

2.3.5. Análisis de comunidades bacterianas

Para analizar la variación de comunidades bacterianas en sistema de barros activados luego del proceso de aclimatación de suero de queso a fenol y a NPEO_x, se observaron por microscopía de contraste de fases usando un microscopio Leica con

cámara fotográfica y se utilizaron técnicas de biología molecular para estudiar cómo se modificaban las comunidades microbianas luego del proceso de aclimatación.

2.3.5.1. Extracción de ADN y reacción de amplificación de la polimerasa

La extracción de DNA genómico de bacterias se realizó de la siguiente manera.

- 1) Un pellet de biomasa se lavó 2 veces con buffer Tris-EDTA TE
- 2) Se agregaron perlas de vidrio de distintos tamaños y pasó por vortex 10 min.
- 3) Se resuspendió el pellet en 250 μ l de solución de sacarosa 20% en buffer TE. Se agregó 250 μ l de Lisozima 5mg/ml. Se mezcló vigorosamente invirtiendo el tubo. Se incubó 30 min a 37°C.
- 4) Se agregó 5 μ l de RNasa 10 mg/ml. Se incubó 30min a 37°C.
- 5) Se agregó 62 μ l de buffer TE, 3 μ l de Proteinasa K (20mg/ml) y 30 μ l de SDS al 10%. Se mezcló vigorosamente. Se incubó 1h a 37°C (la suspensión se pone clara y viscosa)
- 6) Se agregó 100 μ l de una solución 5M de NaCl y se mezcló vigorosamente. Se incubó a 65°C por 2 min. Se agregó 80 μ l de solución CTAB/NaCl. Se incubó la suspensión 10min a 65°C.
- 7) Se realizó extracción con un volumen equivalente de cloroformo/alcohol isoamílico (24:1). Se centrifugó a 10 g por 5 min a 4°C. Se transfirió el sobrenadante superior (fase acuosa) (Sobrenadante 1) conteniendo los ácidos nucleicos dentro de un tubo eppendorf de 2ml.
- 8) Se extrajo el Sobrenadante 1 con un volumen equivalente (aproximadamente 800 μ l) de solución de fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (25:24:1). Se centrifugó 15 g por 5 min a 4°C. Se transfirió la parte superior acuosa (Sobrenadante 2) conteniendo los ácidos nucleicos a un tubo eppendorf de 2ml.
- 9) Se agregó 0.7 volúmenes de isopropanol para precipitar los ácidos nucleicos. Se mezcló por inversión del tubo varias veces. El DNA apareció como un precipitado blanco y viscoso. Se agregó isopropanol y se dejó de 5 a 60 min a temperatura ambiente.

10) Se centrifugó a 12 g por 15-30min a 4°C. El DNA era visible como un pellet en la parte inferior del tubo eppendorf y se removió el isopropanol.

11) Se lavó el pellet con 500 µl de Etanol (70%) por inversión varias veces. Se centrifugó 12 – 15 g de 15 a 30min a 4°C. Se removió cuidadosamente el etanol y se secó el borde del tubo con toalla de papel para eliminar el exceso de líquido

12) El sobrenadante se descartó y el pellet se secó a temperatura ambiente.

13) Por último se incubó a 65°C por 20 min para inactivar las DNAsas.

Para la amplificación de una región específica del DNA se procedió primero a preparar una mezcla inicial de reacción o premix que consta de los reactivos básicos necesarios para la amplificación (Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Mezcla inicial de reacción (premix) para una muestra

Premix:	Volumen: 50 µl
Buffer 10x	5 µl
MgCl ₂	5 µl
dNTP	5 µl
Primers (Invitrogen, USA)	2,5 µl de c/uno
Taq polimerasa (Inbio -Highway, Tandil, Argentina)	0,25 µl
Agua miliq	26,42 µl
Total	46,7 µl premix

La reacción se realiza en baño de hielo para conservar la actividad de la enzima polimerasa. Seguidamente se procede a tomar una alícuota de la premix en eppendorf de 200 µl y se le adiciona a cada uno de ellos el DNA molde que se desea amplificar.

Para este trabajo se amplificó la región V3 del gen que codifica para el rRNA 16S (posición 341–534 en el gen de E. coli) utilizando los iniciadores 518R y 338f con cola GC, lo cual permite que los amplicones queden retenidos en el gel con gradiente desnaturante (Cocolin y col, 2001). Estos primers se utilizan para amplificar todas las

poblaciones bacterianas (Eubacteria) (Cocolin y col, 2001). La reacción de amplificación se realizó en un termociclador (MyCycler Thermal Cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) que es programado previamente con las temperaturas deseadas para obtener un resultado adecuado. El programa se detalla en la Tabla 2.3

Tabla 2.3: Condiciones de corrida del termociclador para la amplificación de Eubacteria

Temperatura (°C)	Tiempo	N° de ciclos	Descripción
94	5 min	1	Desnaturalización inicial
94	30 seg		Desnaturalización
60	60 seg	30	Annealing / Extensión
72	30 seg		
72	5 min	1	Extensión final

Durante todo el proceso mencionado se utilizaron guantes de latex de manera de proteger la muestra de enzimas que degradan el DNA o de contaminación con DNA foráneo. Los amplicones obtenidos se almacenaron a 4 °C hasta su utilización.

2.3.5.2. Electroforesis en gel de agarosa

Se prepararon geles con un porcentaje de 1.5 % p/v de agarosa en buffer TAE (Tabla 2.4). Se utilizó un equipo de electroforesis con un soporte de 20 x 15 cm y peines de 20 posiciones de 1.5 mm de ancho cada una.

Tabla 2.4: Composición Buffer TAE

Reactivos	Cantidad	Concentración Final
Tris base	242 g	2M
AcH glacial	57.1 ml	1M
EDTA 0.5M	100 ml	50 mM
Agua destilada	c.s.p 1000 ml	

Para la preparación del gel se pesaron 2.25 g de agarosa en frasco de vidrio y se le adicionó 150 ml de buffer TAE. La solución resultante se calentó en microondas hasta disolución completa. A esta solución se le agregó 1 µg/ml de bromuro de etidio en buffer TAE y luego se volcó sobre el soporte de electroforesis. Una vez solidificado, se procedió a la siembra de las muestras.

Para la preparación de las muestras se combinaron 25 µl de cada producto PCR con 5 µl de buffer muestra. De cada una de estas soluciones se tomaron 7.2 µl y se sembraron en las diferentes posiciones del gel. La electroforesis se desarrolló a temperatura ambiente, a un voltaje constante de 55 V durante 30-60 min. Una vez finalizada la corrida, los geles se colocaron en un transiluminador y se tomó una imagen digital.

2.3.5.3. Electroforesis en gel de acrilamida con gradiente desnaturizante (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE))

Los productos de la amplificación fueron sembrados en geles con gradiente desnaturizante de urea y formamida 40-60%.

Los geles se prepararon utilizando dos vidrios perfectamente limpios y secos, uno pequeño y uno grande. El vidrio grande se recubre con una goma y se colocan los separadores en la parte interior del vidrio tratando de minimizar el espacio que los separa (los separadores son previamente embebidos en grasa con el objetivo de disminuir efectos provocados por la corriente que deforman el gel. Luego el vidrio pequeño se coloca sobre el vidrio grande y se ajustan con seis broches. Se constata que el sistema no tenga pérdidas llenándolo con agua, luego se vacía y seca con papel de filtro.

El gradiente desnaturizante se forma utilizando un sistema de vasos comunicantes y una bomba de vacío. Los vasos comunicantes se colocan sobre un agitador magnético y se introduce un bazo pequeño en el vaso más cercano al orificio de salida. Éste va a contener la solución de mayor concentración de agente desnaturizante. Se verifica que la comunicación entre los vasos esté cerrada y se introducen ambas soluciones. Finalmente se coloca una manguera entre el orificio de salida de los vasos y el espacio entre el sistema de vidrios preparado anteriormente. Se prende la bomba de vacío, se abre la comunicación entre vasos y comienza a formarse el gel en gradiente. Debe tenerse en cuenta que la velocidad de formación del gel debe ser lo más lenta

posible y debe ser constante en los distintos geles de modo tal de lograr geles reproducibles.

Una vez completo con gel desnaturalizante el volumen que queda entre los vidrios, se colocan los peines y se deja polimerizar sin mover. En caso de que los geles se contraigan y queden espacios vacíos se completa el volumen con gel de *stacking*. Luego se retira el peine y se procede a al montaje de los vidrios conteniendo los geles sobre los soportes

El equipo consta de dos soportes con una capacidad de cuatro geles por corrida. Cada uno soporta dos geles que se montan con broches plásticos. Una vez armados los soportes, se procede a liberar la zona de la base del gel quitando la goma contenedora de manera tal que la corriente pueda circular. El sistema se introduce dentro de la cuba previamente cargada con buffer TAE y precalentada a 60°C. Gracias al sistema de recirculación de líquido del equipo las calles del gel se llenan de líquido y se procede a la siembra de la muestra.

Previo a la siembra las muestras son mezcladas con un volumen de buffer muestra (25 µl de muestra + 5 µl de buffer muestra). La siembra se realiza con jeringa Hamilton.

El equipo es conectado a una fuente (C.B.S Scientific Company) a 100 V de manera tal que la corriente que pase por cada gel sea aproximadamente de 35 mA. Las corridas electroforéticas fueron de 16 horas a 60°C.

Una vez desconectado el equipo se procedió a desmontar los geles de manera tal que el gel quede sobre uno de los vidrios. De esta manera se lo lleva a una cuba que contiene la solución de tinte con Sybr gold (Invitrogen, Oregon, USA) y se lo dejó en oscuridad por 30 minutos. Luego se llevó a un transiluminador (MAESTROGEN, Taiwan) para observar a través de luz UV. Se obtuvo una foto del gel y se analizó. La Figura 2.7 muestra el equipo de DGGE y el gel donde se lleva a cabo el gradiente.



Figura 2.7: Equipo de DGGE

2.3.6. Producción de polihidroxicanoatos (PHA)

Los biopolímeros o polihidroxicanoatos (PHA) son polímeros de ácidos hidroxicanoicos, sintetizados por más de 300 cepas bacterianas en forma de gránulos citoplasmáticos como reserva de carbono y energía bajo condiciones adversas de crecimiento tales como escases de nutrientes como nitrógeno y fósforo (Breuer, 2010).

La polimerización de los ácidos hidroxicanoicos, por acción de enzimas intracelulares, tiene lugar mediante condensación del grupo carboxilo de un monómero (ácido hidroxicanoico), con el grupo hidroxilo del siguiente, formándose un enlace éster; de ahí que se han llamados biopoliésteres (Khanna y Srivastava 2005) (Figura 2.8).

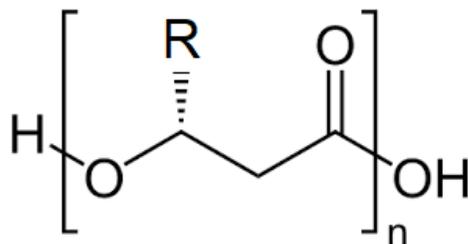


Figura 2.8. Estructura química del PHA (Andler y Díaz, 2013)

El valor de n dependerá del grupo R y el microorganismo en el cual se produce el biopolímero, variando entre 100 y 30000 (Lee, 1996). En la Tabla 2.5 se indican las

sustituciones más comunes del grupo radical y el nombre que recibe el polímero (Andler y Díaz, 2013).

Tabla 2.5: Sustituciones del grupo radical y algunos de los PHA más conocidos (Andler y Díaz, 2013).

Grupo R	Nombre del Polímero	Abreviación
CH ₃	poli(3-hidroxi butirato)	PHB
CH ₂ CH ₃	poli(3-hidroxi valerato)	PHV
CH ₂ CH ₂ CH ₃	poli(3-hidroxi hexanoato)	PHHx

Los PHA son considerados fuertes candidatos para el reemplazo de los polímeros de origen petroquímico, ya que siendo sintetizados por microorganismos, tienen características físicas similares a las de los plásticos derivados del petróleo, como el polipropileno y polietileno (González y col, 2008), pero tienen la posibilidad de ser degradados a dióxido de carbono y agua en condiciones aerobias o a metano en condiciones anaerobias (Shah y col, 2008), en hábitats tan diversos como suelo, mar, aguas estancadas o aguas residuales (Khanna y Srivastava, 2005). Asimismo, la producción de PHAs se plantea como una buena alternativa con el fin de otorgar un valor agregado a los barros generados en los sistemas de tratamiento secundario de los sistemas de tratamiento de efluente, que constituyen un elevado costo operativo para la industria ya que deben ser tratados y llevados a disposición (Metcalf y Eddy, 1995).

En este trabajo de tesis, los barros de los reactores aclimatados a fenol y NPEO_x se sometieron a un estrés producido por escasez de nitrógeno. El medio de cultivo fue reemplazado por un medio de cultivo con 10 veces menos de fuente de nitrógeno: 50 mg/L (NH₄)₂SO₄. Luego de 24 hs los lodos fueron separados para analizar la presencia de polihidroxialcanoatos (PHA). Los gránulos intracelulares de PHA de los reactores fueron detectados por tinción con Sudan Black y espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

Se determinó la presencia de PHA en los lodos activados mediante el análisis de imágenes microscópicas. Se tomaron muestras y se procedió a la tinción de los preparados microscópicos con Sudan Black. Los preparados fueron observados por

microscopía de contraste de fases (1000X) usando un microscopio Leica con cámara fotográfica.

Los espectros IR del polímero fueron obtenidos utilizando un espectrómetro Perkin–Elmer SpectrumOne (Perkin–Elmer Inc., Boston, MA, USA).

La acumulación de PHA se determinó por medio de la extracción del polímero y su respectiva cuantificación.

La extracción del polímero se llevó a cabo inicialmente secando la biomasa en estufa de vacío hasta peso constante (gST/L), luego se realizó una disminución de tamaño de la biomasa por medio de un mortero. La biomasa triturada se pesó y se llevó a un balón donde se realizó la extracción del polímero con cloroformo (60°C, 3 hs). Una vez terminada la etapa de extracción se procedió a la separación de los restos celulares mediante filtración. El filtrado obtenido se concentró en placa de calentamiento. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se procedió a precipitar el polímero con etanol al 96% a 4°C, separando la solución por centrifugación. La purificación del polímero se realizó mediante varios lavados con solución hidro-alcohólica al 50%. Finalmente, el polímero purificado se secó en estufa de vacío hasta peso constante.

El rendimiento, pureza y composición monomérica del PHA purificado se llevó a cabo en las etapas de selección y producción. El análisis de las muestras de PHA se realizó mediante la formación de ácido crotonico a partir de PHA (Mohan et al, 2010). Para ello, las muestras se pesaron y fueron llevadas a 50 ml con ácido sulfúrico concentrado, luego la solución se llevó a ebullición durante 10 min. Finalmente, la pureza y composición monomérica del PHA (HB y HV) se determinó por espectrofotometría UV. En simultáneo se realizó una curva de calibración utilizando como estándar el copolímero comercial P(3HB-3HV) (SIGMA). El contenido de PHA de las muestras se determinó a partir de la suma de HB y HV. El rendimiento se determinó a partir de la relación entre la cantidad de PHA obtenido y la biomasa seca expresándose en forma porcentual (100gPHA/gST).

2.4. Tratamiento por adsorción

2.4.1. Materiales adsorbentes

Como adsorbentes se utilizaron lignito y carbón activado. El carbón activado fue suministrado por Brascarbo Agroindustrial Ltda. (Paraná Brasil) y se identificó como 061 CLARIMEX CAE (carbón activado con ácido fosfórico a 400 °C). El lignito es un tipo de carbón que se forma a partir de la turba por compresión a poca profundidad y temperaturas inferiores a 100°C. Las muestras ligníticas utilizadas en este estudio se obtuvieron de plantas de energía Yatacan en Turquía. Se molió el lignito en 2 oportunidades para obtener un tamaño de partícula similar al del carbón activado comercial (Figura 2.9).

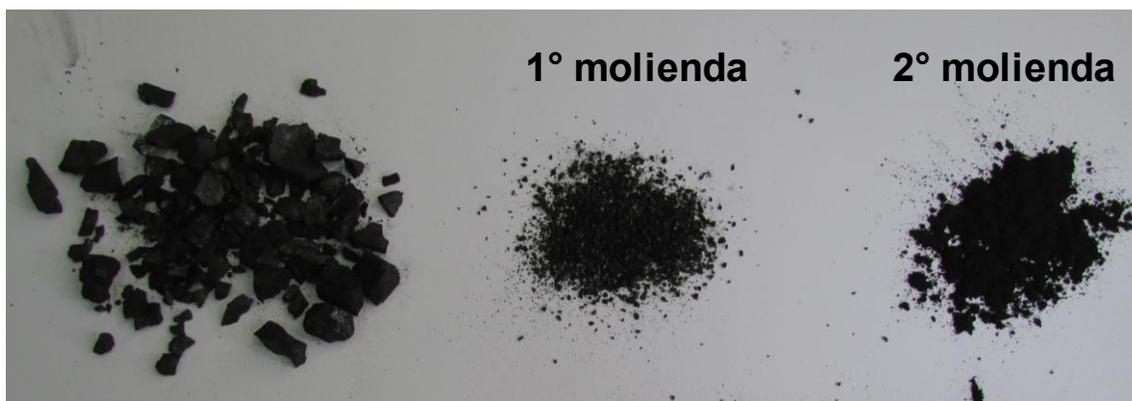


Figura 2.9. Lignito crudo, obtenido de la primera y segunda molienda

2.4.2. Caracterización de adsorbatos: Mezclas comerciales de NPEOx

2.4.2.1. Determinación de la Tensión Superficial

Se denomina tensión superficial de un líquido a la cantidad de energía necesaria para aumentar su superficie por unidad de área. Esta definición implica que el líquido tiene una resistencia a aumentar su superficie (Streeter y col, 1988). Los tensioactivos, también llamados surfactantes o agentes de superficie activa, como los NPEO_x, son sustancias capaces de modificar el comportamiento de la interfase en un sistema determinado. El análisis de este parámetro permite caracterizar a cada mezcla de surfactante en solución acuosa, ya que la adsorción de surfactantes en una interfase produce en general una reducción de la tensión superficial o interfacial (Salager, 1992). El

comportamiento global de cada surfactante depende de la importancia relativa del grupo polar y apolar de la molécula (Salager, 2002).

Se utilizó un tensiómetro Krüss, rango de medida 5 – 90 mN/m, precisión ± 0.1 mN/m, anillo Pt-Ir de diámetro igual a 20 mm y cubeta de vidrio de 50 mm de diámetro.

El tensiómetro Krüss funciona según el principio Du Nouy, en el que un anillo de platino-iridio es suspendido de una balanza de torsión (Figura 2.10), y se mide la fuerza (en mN/m) necesaria para tirar del anillo libre de la película de la superficie.

El anillo se sumerge en el líquido y luego se lo hace ascender lentamente. A medida que el mismo sube, se forma un menisco de líquido y la fuerza ejercida pasa por un máximo y luego disminuye, desprendiéndose el líquido del anillo y volviendo a su posición original.

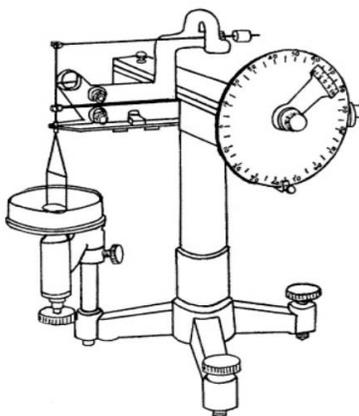


Figura 2.10. Tensiómetro de Du Nouy (Carrera y col, 2013).

El cálculo de la tensión superficial se basa en medir esa fuerza máxima, en la cual el ángulo de contacto es cero. El tensiómetro de Du Nouy consta de un fino alambre de torsión de acero asegurado en una grampa fuerte para resistir la tensión del acero en un extremo y una cabeza de torsión en el otro, que permite un ajuste fino. La cabeza de torsión tiene una escala y un vernier que permite la lectura a 0.1 dina/cm y una estimación de 0.05 dinas/cm. La escala está graduada de cero a noventa. La posición cero de la balanza se alcanza cuando el brazo que lleva el anillo coincide con la línea horizontal grabada sobre un pequeño círculo de fondo blanco. La plataforma que soporta el recipiente de líquido se puede elevar o bajar utilizando una grampa sobre un eje vertical.

El ajuste fino de la plataforma se logra a través de un tornillo micrométrico. Para efectuar la determinación de tensión superficial con el tensiómetro de Du Noüy, el líquido a determinar se coloca en un recipiente limpio. El plato que sostiene al recipiente con el líquido es elevado hasta que el anillo se sumerja en el líquido y luego se baja para que el anillo quede en la superficie y el índice esté en posición cero. Este es el punto de partida de la determinación. Los pasos se esquematizan en la Figura 2.11. Se aumenta la torsión sobre el alambre rotando la perilla para llevar el vernier a un punto cercano, pero por debajo del valor de la tensión superficial del líquido. Mientras se gira lentamente la perilla, el plato conteniendo al líquido se baja, manteniendo siempre la posición neutra del brazo de la balanza (coincidiendo con la línea del círculo blanco). Este procedimiento de doble movimiento es seguido hasta la ruptura de la película (despegue del anillo de la superficie del líquido). En la etapa 7 de la Fig. 2.11, la fuerza es máxima y el ángulo de contacto es cero.

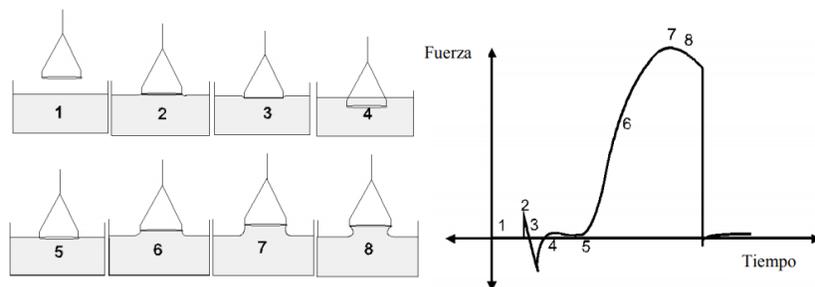


Figura 2.11: Etapas en la determinación de la tensión superficial y diagrama de Fuerza vs Tiempo (adaptado de Carrera y col, 2013).

La lectura sobre la escala en el momento de la ruptura es el indicativo de la tensión superficial aparente del líquido (γ'_L). Para obtener el valor real (γ_L) debe multiplicarse por un factor de corrección “k”, que se obtiene a partir de un líquido de tensión superficial conocida. $\gamma_L = k \cdot \gamma'_L$ siendo $k = \gamma_{H_2O} \text{ tabulado} / \gamma_{H_2O} \text{ experimental}$, donde “ $\gamma_{H_2O} \text{ tabulado}$ ” se obtiene de tablas (71.97 mN/m) y “ $\gamma_{H_2O} \text{ experimental}$ ” se determina con el tensiómetro. La tensión superficial aparente puede diferir de la real en hasta un 10%.

Como parámetro importante y debido a que la tensión superficial se ve muy afectada por la temperatura, todas las soluciones se equilibraron a 25°C. El valor de tensión superficial fue tomado cuando se obtuvo la lectura estable para una concentración de tensioactivo dado, dentro del error experimental.

Entre las aplicaciones más importantes del instrumento se destaca la determinación de los valores de la concentración micelar crítica (CMC), es decir, la mínima concentración de tensioactivo a la que se inicia la formación de agregados micelares en un medio determinado (Ribosa y col, 2007). Desde el punto de vista termodinámico, la micelación es un proceso de asociación; es el resultado de la unión, a través de enlaces físicos de varias moléculas para formar una partícula de mayor peso molecular. Esta puede producirse por medio de tensoactivos o co-polímeros. Los surfactantes, también conocidos como agentes tensoactivos o detergentes, son moléculas que poseen características hidrofóbicas e hidrofílicas dentro de la misma estructura. Estas características peculiares hacen posible que al aumentar la concentración, las moléculas se agreguen en determinadas formas para obtener un mínimo de energía libre en el sistema. Este proceso es espontáneo y los agregados macromoleculares que se forman se denominan en general micelas. Existe en algunos casos, una concentración en la cual determinadas propiedades físicas del sistema, como la tensión superficial, la intensidad de la luz dispersada o la variación de la presión osmótica, sufren un cambio brusco. Es posible visualizar este cambio en una gráfica generada mediante el tensiómetro, que corresponde a la concentración micelar crítica, y es la concentración a partir de la cual las micelas pueden formarse espontáneamente en una disolución (Gómez, 2011).

2.4.2.2. Determinación de la concentración micelar crítica (CMC)

Las sustancias anfífilas conocidas bajo el nombre de surfactantes pueden representarse esquemáticamente por la fórmula L-H. La parte lipofílica de la molécula (L) es en general un radical hidrocarbónado. Por otra parte, H representa la parte hidrofílica o polar de la molécula, que es en general un grupo oxigenado. A pesar de la gran variedad de sustancias que corresponden a la fórmula L-H, estas poseen numerosas propiedades en común; el comportamiento global de cada surfactante depende de la importancia relativa de estas dos tendencias H y L. En todo caso una solución de anfífilo presentará siempre una particularidad, a saber que una de las partes del surfactante tendrá afinidad para el solvente mientras que la otra no (Salager y Fernández, 2002).

Las moléculas anfífilas presentan a menudo un fenómeno de autoasociación por interacción hidrófoba, pueden formarse dímeros o trímeros en los cuales se minimiza la superficie de contacto entre las partes hidrófobas (L) y el solvente acuoso polar. Para los surfactantes de cadena lipofílica suficientemente larga, puede existir una asociación a

mayor escala, llamada micela (Mukerjee y Mysels, 1971). Dicho agregado puede contener varias decenas y aún centenas de moléculas. En presencia de tal asociación del soluto, es de esperar que las soluciones micelares tengan propiedades particulares, semejantes en algún sentido a las soluciones coloidales de tipo macromolecular u otro (Cates y Candau, 1990).

A la superficie agua-aire, o a la interfase aceite-agua, se observa una brusca transición de polaridad, lo que es particularmente favorable para la orientación, perpendicularmente a la interfase, de las moléculas L-H; en esta situación el grupo hidrofílico H se orienta en la fase acuosa, mientras que el grupo lipofílico L, se encuentra en un ambiente no polar (Salager y Fernández, 2002). La Figura 2.12 indica la variación de la tensión superficial en función de la concentración del surfactante y posee todas las características del caso general. A partir del valor que corresponde al agua pura (72 mN/m ó dina/cm), se observa una disminución de la tensión superficial con el aumento de concentración de surfactante; en esta primera zona (I), la gran mayoría de las moléculas de surfactante se adsorben en la superficie agua-aire, y la concentración superficial crece rápidamente. A partir de un cierto valor, la superficie está ocupada por una capa monomolecular de surfactante, y la tensión interfacial decrece linealmente con el logaritmo de la concentración; según la isoterma de Gibbs, esto indica que la concentración superficial permanece constante (Salager, 1992). En esta segunda zona (II) la superficie es por lo tanto saturada y las moléculas de surfactante que se añaden deben solubilizarse en la fase acuosa, lo que es poco favorable desde el punto de vista energético, por la presencia del grupo no polar L surfactante

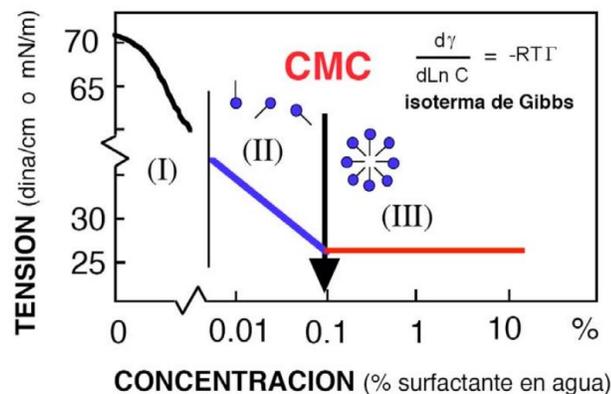


Figura 2.12: Variación de la tensión superficial del agua en función de la concentración de surfactante (Salager, 1992)

A partir de una cierta concentración, la fase acuosa se satura en moléculas individuales L-H, y se observa el cambio a la tercera zona (III) de la Figura 2.11, en la cual la tensión superficial permanece constante. En esta región, las interacciones hidrófobas entre moléculas de surfactantes se tornan suficientemente importantes respecto a las interacciones hidrofílicas surfactante/agua para que se forme espontáneamente agregados de tipo coloidal llamados micelas.

Se evaluó la dependencia de la tensión superficial en el rango de concentración de 10^{-7} M a 10^{-2} M de mezclas comerciales de NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}.

2.4.3. Caracterización de materiales adsorbentes y sistema adsorbente-adsorbato

2.4.3.1. Distribución de tamaño de partícula

Algunas técnicas ópticas, tales como la dispersión de luz dinámica (DLS), puede utilizarse para estimar la distribución de tamaño de partícula a partir de la medición de la luz dispersada por las partículas en dispersión diluida, cuando son iluminadas con una luz monocromática (típicamente, un láser).

La dispersión dinámica de luz (DDL o DLS, por sus siglas en inglés de "Dynamic light Scattering") es una técnica fisicoquímica empleada para la determinación de la distribución de tamaños de partículas en suspensión, o macromoléculas en solución tales como proteínas o polímeros (Cuadros-Moreno y col, 2014). La luz láser al alcanzar las numerosas partículas que hay en una suspensión, se dispersa en todas las direcciones posibles. Si se separa una dirección, los haces de luz dispersados por distintas partículas interfieren entre sí y se obtiene una intensidad de dispersión determinada. Como consecuencia del movimiento browniano las posiciones relativas de las partículas varían constantemente entre sí, situación que también provoca cambios en las condiciones de interferencia y en la propia intensidad de dispersión. Si las partículas se mueven rápidamente (partículas pequeñas), también se acelera la variación de la intensidad de dispersión. Por el contrario, las partículas mas grandes llevan a variaciones más lentas. Por norma general, en la dispersión de luz dinámica la suspensión de la muestra permanece en reposo. El término "dinámica" no se refiere al movimiento de la muestra como un conjunto, sino a la "vibración" de las partículas que la componen.

La DLS permite determinar el tamaño de moléculas midiendo las fluctuaciones en la intensidad de dispersión con el tiempo para determinar el coeficiente de difusión translacional (D), y luego el radio hidrodinámico. Fluctuaciones son resultado del movimiento browniano y puede correlacionarse con el coeficiente de difusión y el tamaño a partir de la ecuación 2.5

$$R_H = \frac{k \cdot T}{6\pi \cdot \eta \cdot D} \quad (2.5)$$

donde R_H es el radio hidrodinámico, T la temperatura, D es el coeficiente de difusión, k es la constante de Boltzman y η es la viscosidad

Cuando un medio líquido mueve una partícula dispersa, la mayoría de las veces se adhiere una capa eléctrica dipolar a su superficie. Debido a que esta capa influye en el movimiento de la partícula, en la dispersión de luz dinámica (DLS) el diámetro medido de la partícula, que se conoce como hidrodinámico, la mayoría de las veces es superior al diámetro seco que se mide con un microscopio electrónico (SEM) como se esquematiza en la Figura 2.13.

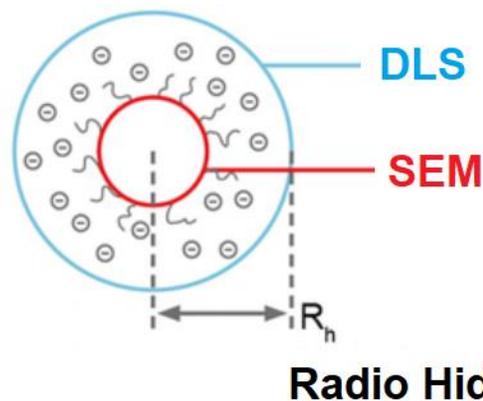


Figura 2.13: Esquema del radio hidrodinámico (Goldburg, 1999)

Para comparar los tamaños medios de partícula de los adsorbentes se utilizó un equipo Malvern Mastersizer 2000 que funciona con el principio de dispersión de luz dinámica (DLS). Se obtuvo por este método el tamaño de partícula frente a los datos porcentaje en volumen. Antes del análisis, las partículas se dispersaron en agua durante 5 minutos con la ayuda de un dispersador ultrasónico (Hielscher UP400S Ultrasonic

Technology, 24 kHz, 75 W/cm²) a 90% de la amplitud para mejorar la solubilidad de las partículas y evitar la aglomeración que contribuye a un aumento del diámetro Hidrodinámico con respecto al diámetro seco Se añadió un dispersante (un polímero líquido) a la solución para propiciar la distribución antes de introducir la muestra en el dispersador.

2.4.3.2. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

El principio del sistema microscopía electrónica de barrido (SEM) consiste en que si se hace incidir sobre la muestra un haz de electrones finamente enfocado, emite una señal que puede registrarse en una pantalla mediante un tubo de rayos catódicos. El SEM se utiliza frecuentemente como método de referencia para evaluar otras técnicas de medición de tamaños de partícula (Remiarz y col, 1983). Permite observar, además, de manera directa, la morfología de los materiales.

En el presente trabajo de Tesis las imágenes de las partículas de adsorbentes fueron tomadas por un microscopio electrónico de barrido Philips XL30 Sfeg.

2.4.2.3. Adsorción-desorción de N₂

La adsorción de gases y vapores es una de las técnicas más usadas para la caracterización textural de carbones y entre los gases que más se emplean está el N₂.

Los adsorbentes se analizaron por esta técnica empleando el modelo Brunauer, Emmet y Teller (BET) y con un dispositivo de adsorción volumétrica Micromeritics Gemini modelo 2380 para determinar el área de superficie de los materiales.

El principio de funcionamiento de este dispositivo de medición de adsorción volumétrica se basa en el seguimiento de la adsorción (o desorción) de gas nitrógeno a la superficie sólida a una temperatura constante durante. Cuando un sólido poroso, como por ejemplo un carbón es expuesto en un recipiente cerrado a un gas a una dada presión, el sólido comienza a adsorber al gas. El proceso es acompañado de un aumento en el peso del sólido (el que puede ser medido suspendiendo la muestra en una balanza) y una disminución de la presión. Esto continúa hasta que luego de un tiempo la presión se estabiliza en un valor p y el peso del sólido alcanza su valor máximo. A partir de la caída de presión, conociendo los volúmenes de la muestra y el recipiente y utilizando la ley del gas ideal podemos determinar la cantidad de gas adsorbido. En esta clase de

experimentos el material realmente adsorbido por el sólido (el adsorbente) es llamado el adsorbato, para distinguirlo del adsorbivo término que se le da al material en la fase gas que es potencialmente capaz de ser adsorbido (Figura 2.14)

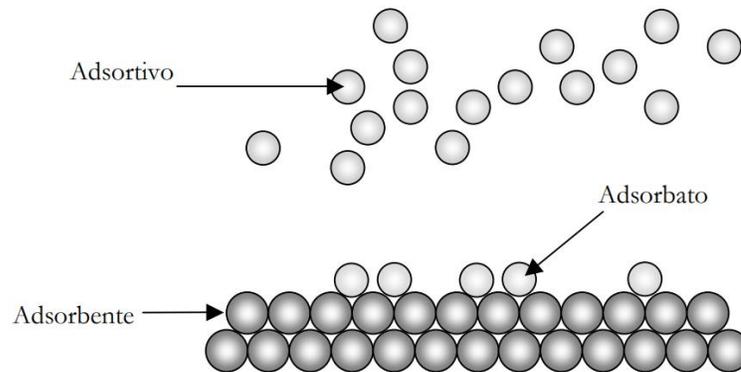


Figura 2.14. Esquema que ilustra la diferencia entre el adsorbente, el adsorbato y el adsorbivo (Martin-Martínez, 1990).

La adsorción se produce por las fuerzas de interacción entre el sólido y las moléculas del gas o de un líquido. Básicamente estas fuerzas son de dos clases: físicas y químicas, las que dan lugar a la fisisorción y a la quimisorción respectivamente. En la adsorción física las interacciones predominantes son de tipo van der Waals, mientras que en la adsorción química las interacciones semejan enlaces químicos. Esto da lugar a entalpías de adsorción muy diferentes: alrededor de -5 kcal/mol para la fisisorción y cerca de -50 Kcal/mol para la quimiadsorción.

La cantidad de gas adsorbido por la muestra es proporcional a la masa m de la muestra, y depende de la temperatura T , la presión P del vapor y de la naturaleza del sólido y del gas.

Con lo que, si n es la cantidad de gas adsorbido, expresado en moles por gramo de sólido tenemos que:

$$n = f(P, T, gas, solido) \quad (2.6)$$

Para un dado gas adsorbido sobre un determinado sólido mantenido a una temperatura constante, la ecuación 2.6 se simplifica a:

$$n = f(P)_{T,gas,solido} \quad (2.7)$$

Si la temperatura es mantenida por debajo de la temperatura crítica de condensación del vapor podemos escribir la ecuación anterior como:

$$n = f(P/P_0)_{T,gas,solido} \quad (2.8)$$

la cual es una forma más usual. Aquí P_0 es la presión de saturación del vapor del gas. Las ecuaciones 2.7 y 2.8 son las expresiones generales que definen la isoterma de adsorción, es decir, la relación a temperatura constante entre la cantidad de gas adsorbido y la presión (o la presión relativa P/P_0)

La determinación de la isoterma de adsorción se llevó a cabo a 77 K, en un rango de presiones relativas de 0.005 a 1. Se midió a cada presión el volumen adsorbido de N_2 (V_{ad}) de muestras secas y desgasificadas.

En la literatura del área podemos encontrar miles de isotermas de adsorción medidas sobre una amplia variedad de sólidos porosos. A pesar de tal diversidad la mayoría de estas isotermas, las cuales son el resultados de una adsorción física, pueden ser agrupadas convenientemente en seis clases según la clasificación de la IUPAC (Figura 2.15). Los primeros cinco tipos de la clasificación (I a V) fueron propuesto originalmente por Brunauer S., Deming L. S., Deming W. S. y Teller E. y es conocida como la clasificación BDDT (Brunauer y col. 1940). La isoterma del Tipo VI es más reciente y se la conoce como isoterma escalonada (Martin-Martínez, 1990).

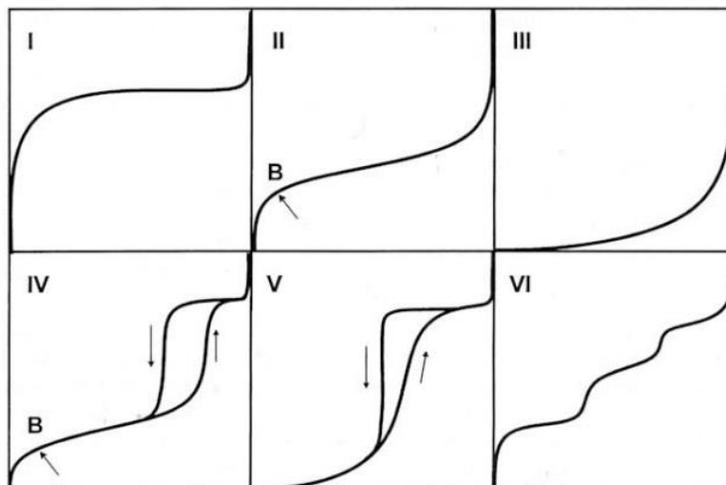


Figura 2.15. Los seis tipos de isothermas de adsorción (fisisorción) según la clasificación de la IUPAC

Tipo I: La isoterma es cóncava respecto al eje de la presión relativa (P/P_0), aumenta rápidamente a baja presión (P/P_0) aumenta rápidamente a baja presión y posteriormente alcanza un plateau de saturación horizontal. Esta clase de isothermas es característica de materiales microporosos. La alta energía de adsorción de los microporos produce que el gas se adsorba a bajas presiones. Una vez que se ha completado todo el volumen de los microporos la isoterma permanece en un valor casi constante sobre un amplio rango de presiones, lo que produce el citado plateau. Tipo II: A bajas presiones es cóncava respecto al eje de la presión relativa (P/P_0), luego aumenta linealmente y finalmente se vuelve convexa. Puede ser interpretada como la formación de una capa adsorbida cuyo espesor es incrementado progresivamente a medida que aumenta la presión. Si la rodilla de la isoterma es pronunciada, se asume que en el punto B (el punto donde comienza la sección cuasilineal de la isoterma) se ha completado la formación de la capa monomolecular (monocapa) y empieza la formación de las capas multimoleculares (multicapas). La ordenada del punto B nos da una estimación de la cantidad de adsorbato requerido para cubrir por unidad de masa, la superficie del sólido con una capa monomolecular (capacidad de monocapa). Esta clase de isoterma es característica de sólidos no-porosos o de adsorbentes macroporosos. La total reversibilidad de la isoterma de adsorción-desorción, es decir, la ausencia del lazo de histéresis es una condición que se cumple en este tipo de sistemas. Tipo III: es convexa respecto al eje de la presión relativa (P/P_0) en todo el rango de presión. Esta característica

es indicativa de interacciones débiles entre el adsorbato y el adsorbente. En la práctica no es común encontrarse con este tipo de isothermas. Tipo IV: a bajas presiones se comporta como la del Tipo II, siendo el rasgo distintivo de esta isoterma su lazo de histéresis. Es característica de los sólidos mesoporosos. Como veremos más adelante la aparición del ciclo de histéresis se debe a que el proceso de llenado de los mesoporos está gobernado por el fenómeno de condensación capilar y por las propiedades percolativas del sólido. Tipo V: del mismo modo que las de Tipo III, esta clase de isothermas se obtiene cuando las interacciones entre el adsorbato y el adsorbente son débiles. La presencia del lazo de histéresis está asociado con el mecanismo de llenado y vaciado de los poros. En la práctica es poco usual encontrarse con este tipo de isothermas. Tipo VI: o isoterma escalonada es la menos común de todas las isothermas. Se la asocia con la adsorción capa por capa sobre superficies que son altamente homogéneas respecto del adsorbato. La forma del escalón depende de la temperatura y de los detalles del sistema.

La identificación de un tipo de isoterma permitirá la caracterización de la morfología de los carbones y los datos experimentales, partir del modelo BET, permitirán determinar el área superficial (S_{BET}) del material (Do, 1998). La ecuación del modelo BET es la siguiente:

$$\frac{P}{V_{ad}(P_0 - P)} = \frac{1}{V_m C} + \frac{(C - 1)P}{V_m C P_0} \quad (2.9)$$

donde: V_{ad} = Volumen adsorbido de N_2 , V_m = Volumen de la monocapa, P_0 = Presión de vapor o de saturación de N_2 , P = Volumen adsorbido de N_2 presión de equilibrio de N_2 y C = Constante BET (depende de la temperatura y del sistema sólido-gas)

Para calcular el área superficial se grafica $\frac{P}{V_{ad}(P_0 - P)}$ vs $\frac{P}{P_0}$ y se obtiene la pendiente $a = \frac{(C-1)}{V_m C}$ y la ordenada al origen $b = \frac{1}{V_m C}$

A partir de los valores de la pendiente (a) y la ordenada al origen (b) es posible establecer que $V_m = \frac{b}{a+b}$. Con este dato se puede calcular S_{BET} según la ecuación

$$S_{BET} = \frac{V_m}{V_{N_2}} N_A a_m \quad (2.10)$$

donde: V_m = Volumen de la monocapa, V_{N_2} = Volumen molar de gas a condiciones normales ($22.414 \text{ L mol}^{-1} \text{ g}^{-1}$), N_A = Número de Avogadro (6.023×10^{23} moléculas mol^{-1}) y a_m = Área proyectada por una molécula de N_2 (16.2 \AA^2)

El analizador de superficie también se utilizó para determinar el volumen total de poros por adsorción de gas, la distribución de tamaño de poro Barret, Joyner y Halenda (BJH) y visualizar las formas de las curvas de adsorción-desorción (Barrett y col., 1951).

El llenado de poros ocurre mediante un fenómeno bastante estudiado (Gregg and Sing, 1982) que es conocido como condensación capilar. Es denominado así por el parecido que tiene con el llenado capilar de tubos: formación de capas de líquido en los bordes y un menisco al centro. La presencia de mesoporos (esto es, del fenómeno de condensación capilar), se presenta como una histéresis en la rama final de la isoterma de adsorción-desorción. Este comportamiento es modelado mediante la clásica ecuación de Kelvin (Thomson, 1871), la cual relaciona la presión relativa del vapor en equilibrio con el radio de curvatura del menisco, la tensión superficial y el volumen molar. De esta ecuación, es posible calcular el radio mínimo de los poros en los cuales ocurre la condensación capilar. En el método BJH (Barrett, Joyner y col., 1951), llamado así por las iniciales de sus creadores, se presenta un modelo geométrico-físico de la desorción basado en la ecuación de Kelvin. Este análisis supone que los poros son cilíndricos y que la cantidad de adsorbato en equilibrio con la fase vapor se produce mediante adsorción física en las paredes y condensación capilar, por lo tanto, es adecuado en el análisis de sólidos mesoporosos.

2.4.3.4. Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia infrarroja es una técnica analítica ampliamente utilizada que permite la identificación y semi-cuantificación de los grupos funcionales presentes en un material. Con el fin de estudiar la química superficial y realizar la determinación de los grupos funcionales en los carbones activados antes y después del proceso de adsorción se realizó el análisis por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) (Haaland, 1990).

Esta técnica espectroscópica se fundamenta en la absorción de la radiación IR por las moléculas en vibración. Una molécula absorberá la energía de un haz de luz infrarroja cuando dicha energía incidente sea igual a la necesaria para que se produzca

una transición vibracional de la molécula. Es decir, la molécula comienza a vibrar de una determinada manera gracias a la energía que se le suministra mediante radiación infrarroja.

Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones: de tensión y de flexión. Las vibraciones de tensión son cambios en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión están originadas por cambios en el ángulo que forman dos enlaces.

En principio, cada molécula presenta un espectro IR característico (huella dactilar), debido a que todas las moléculas (excepto las especies diatómicas homonucleares como O_2 y Br_2) tienen algunas vibraciones que, al activarse, provocan la absorción de una determinada longitud de onda en la zona del espectro electromagnético correspondiente al infrarrojo.

De esta forma, analizando cuáles son las longitudes de onda que absorbe una sustancia en la zona del infrarrojo, podemos obtener información acerca de las moléculas que componen dicha sustancia.

La espectroscopia infrarroja tiene su aplicación más inmediata en el análisis cualitativo: detección de las moléculas presentes en el material. En la zona del espectro electromagnético IR con longitudes de onda del infrarrojo medio (entre 4000 y 1300 cm^{-1}) se suelen observar una serie de bandas de absorción provocadas por las vibraciones entre únicamente dos átomos de la molécula. Estas vibraciones derivan de grupos que contienen hidrógeno o de grupos con dobles o triples enlaces aislados. En la zona del espectro electromagnético IR con longitudes de onda comprendidas entre 1300 y 400 cm^{-1} (infrarrojo lejano), la asignación de las bandas de absorción a vibraciones moleculares es más difícil de realizar, debido a que cada una de ellas está generada por absorciones individuales sumadas (multiplicidad de las bandas). Es la denominada zona de la huella dactilar (flexión de enlaces CH, CO, CN, CC, etc.). En esta zona de longitudes de onda, pequeñas diferencias en la estructura y constitución de las moléculas dan lugar a variaciones importantes en los máximos de absorción (Rubinson y col, 2000). En la Tabla 2.6 se muestran las bandas de absorción correspondientes a las moléculas orgánicas más frecuentes.

Tabla 2.6. Frecuencias características de grupos orgánicos poliatómicos. f = fuerte, m = medio, d = débil. (Rubinson y col, 2000).

Tipo de vibración		Frecuencia (cm ⁻¹)	Intensidad
C-H	Alcanos (tensión)	3000-2850	f
	-CH ₃ (flexión)	1450 y 1375	m
	-CH ₂ - (flexión)	1465	m
	Alquenos (tensión)	3100-3000	m
	Alquenos (fuera del plano de flexión)	1000-650	f
	Aromáticos (tensión)	3150-3050	f
	Aromáticos (fuera del plano de flexión)	900-690	f
	Alquino (tensión)	ca. 3300	f
	Aldehídos	2900-2700	d
C=C	Alqueno	1680-1600	m-d
	Aromáticos	1600 y 1475	m-d
C≡C	Alquino	2250-2100	m-d
C=O	Aldehído	1740-1720	f
	Cetona	1725-1705	f
	Ácidos carboxílicos	1725-1700	f
	Éster	1750-1730	f
	Amida	1670-1640	f
	Anhídridos	1810 y 1760	f
	Cloruro ácido	1800	f
C-C	Alcoholes, éteres, ésteres ácidos carboxílicos, anhídridos	1300-1000	f

O-H	Alcoholes, fenoles Libre	3650-3600	m
	Alcoholes, enlace H	3500-3200	m
	Ácidos carboxílicos	3400-2400	m
N-H	Aminas y amidas primarias y secundarias (tensión)	3500-3100	m
	Aminas y amidas primarias y secundaria (flexión)	1640-1550	m-f
C-N	Aminas	1350-1000	m-f
C=C	Iminas y oximas	1690-1640	d-f
C≡N	Nitrilos	2260-2240	m
X=C=Y	Alenos, quetanos, isocianatos, isotiocianatos	2270-1950	m-f
N=O	Nitro (R-NO ₂)	1550 y 1350	f
S-H	Mercaptanos	2550	d
S=O	Sulfóxidos	1050	f
	Sulfones, cloruros de sulfónidos	1375-1300 y	f
	Sulfatos, sulfoamidas	1200-1140	f
C-X	Fluoruro	1400-1000	f
	Cloruro	800-600	f
	Bromuro, ioduro	<667	f

El analizador utilizado constaba de dos partes: una unidad de espectrofotómetro y una PC donde se realiza el procesamiento de los datos. La unidad de espectrofotómetro mide el espectro de absorción infrarroja de una muestra. Se compone de un interferómetro, un detector de infrarrojos, fuente de luz y el compartimento de la muestra. Se utilizó un espectrofotómetro marca Perkin Elmer FTIR- 1600, óptico de haz simple y un interferómetro Michelson con rango de número de onda de 7800 cm^{-1} a 350 cm^{-1} y con 0.5 cm^{-1} de resolución. La PC acoplada al FTIR-8601 incorpora el software Hyper-IR. Este software incluye funciones de procesamiento de alto nivel, como la corrección ATR, el análisis Kramers Kronig, cuantificación mediante regresión multilínea y búsqueda de espectro, así como la sustracción del espectro y la selección de pico.

2.4.3.5. Potencial Zeta

Las propiedades y el comportamiento de cualquier material pueden verse altamente afectados por la carga en su superficie. El potencial zeta (ξ) es un importante indicador de la carga superficial y su medición proporciona una información para el entendimiento y control de los fenómenos relacionados con dicha carga (Hunter, 1993). Debido a que la adsorción de cualquier compuesto depende de su estructura química, de su concentración en disolución, así como de la estructura superficial del sólido, las medidas de potencial ξ pueden aplicarse con el fin de calcular el punto isoeléctrico ("isoelectric point", (i.e.p), pH para el cual $\xi = 0$) de diferentes sólidos y caracterizar de la estructura química superficial de los sólidos. Cuando dos fases se hallan en contacto, generalmente se desarrolla una diferencia de potencial entre ellas (Atkins y Jones, 2006). La región que se encuentra entre las dos fases está marcada fuertemente por una separación de cargas eléctricas. Por lo tanto, sobre la superficie del sólido, existe un exceso de carga de un determinado signo, que es neutralizado por la carga de signo contrario que se encuentra distribuida de alguna manera a lo largo de la disolución.

Si por ejemplo, la superficie de la fase sólida en agua se encuentra positivamente cargada, su potencial electrostático será positivo respecto a la disolución; y si ésta contiene iones disueltos, cuanto más nos alejamos de la superficie sólida y más nos adentremos en la disolución, el potencial decrecerá, más o menos regularmente hasta un valor igual a cero infinitamente lejos de la superficie. La región donde el líquido tiene un potencial electrostático positivo, acumulará un exceso de cargas negativas y repelerá los iones positivos del electrolito. La disposición de las cargas positivas en la superficie del

sólido y en la disolución, se conoce comúnmente como la doble capa eléctrica en la interfase. De acuerdo con el modelo de Gouy-Chapman-Stern-Graham o GCSG (Shaw, 1970), la doble capa eléctrica está dividida en, por un lado la capa interior (IHP) y exterior (OHP) de Helmholtz y por otro lado la capa difusa. En la Figura 2.16 se muestra una representación esquemática de una doble capa donde las moléculas del disolvente adheridas, como el agua, tendrían una alineación fija con la superficie del electrodo. Esta primera capa de moléculas de solvente muestra una fuerte orientación al campo eléctrico dependiendo de la carga. Esta orientación tiene una gran influencia en la permitividad (llamada también constante dieléctrica) del solvente que varía con la intensidad del campo. El IHP pasa a través de los centros de estas moléculas. Los iones específicamente adsorbidos y parcialmente solvatados aparecen en esta capa. Los iones solvatados del electrolito están fuera del IHP. A través de los centros de estos iones pasan el OHP. La capa difusa es la región más allá del OHP.

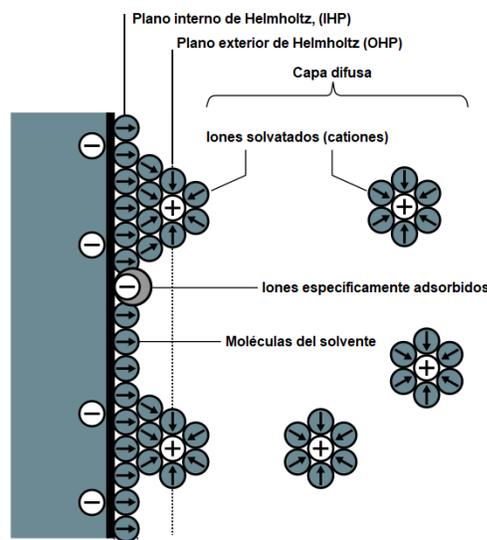
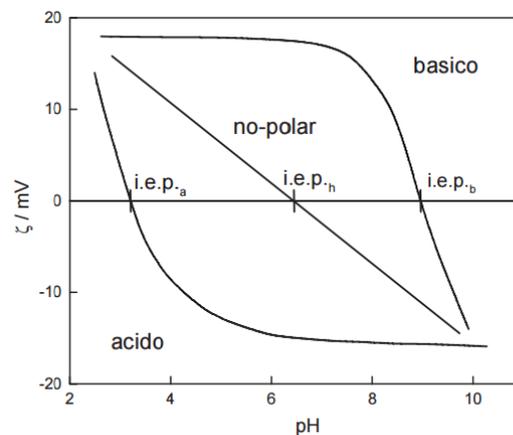


Figura 2.16: Representación esquemática de una doble capa según el modelo GCSG (adaptado de Klösgen y col, 2011)

En los experimentos electrocinéticos, se aplica una fuerza exterior al sistema sólido/líquido y se genera un movimiento relativo del líquido respecto al sólido. Este hecho genera una separación de carga en la doble capa eléctrica. Los iones que se encuentran unidos fuertemente a la superficie sólida, permanecerán igual, mientras que los iones unidos más débilmente, se moverán conjuntamente con la fase líquida. Uno de los conceptos más importantes a introducir es el plano o superficie de cizalla. Este es un

plano imaginario que se considera muy cercano a la superficie del sólido y dentro del cual el líquido es estacionario. El potencial ξ es el potencial en el plano de cizalla, que se encuentra entre la superficie cargada palabras, si la fuerza externa aplicada es conocida, el potencial ξ permite caracterizar el equilibrio entre los iones que se encuentran en la disolución electrolítica y los adsorbidos en la superficie sólida. En disoluciones electrolíticas débiles por lo tanto, el potencial llega a una distancia relativamente larga en el medio que lo rodea, mientras que en una disolución altamente electrolítica, el potencial sólo se observa cerca de la interfase. La naturaleza de las superficies de los sólidos juega un papel crucial en la adsorción de las especies iónicas en la interfase sólido/líquido. En general, los adsorbentes pueden dividirse en dos grupos, hidrófilos e hidrófobos. Los primeros, tienen superficies con gran afinidad hacia el agua debido a la presencia de grupos polares Y los segundos apolares. La acidez o basicidad de las superficies sólidas pueden determinarse cualitativamente midiendo el potencial ξ de la superficie en función del pH. Analizando la forma de la curva ξ en función del pH (Figura 2.17) se puede deducir si los procesos de adsorción y/o disociación han sido los predominantes. Asumiendo que la formación de la doble capa eléctrica es debida a la disociación de los grupos funcionales que se encuentran en la superficie del sólido, un valor constante del potencial ξ en la región alcalina significa la disociación de tales grupos y por lo tanto la superficie mostrará carácter ácido. En cambio, si los grupos disociados son ácidos, la superficie mostrará carácter básico, y por lo tanto un valor de ξ constante a valores bajos de pH. En cada curva, la posición del punto isoeléctrico es una medida cuantitativa de la acidez o basicidad de la superficie del sólido. Grupos funcionales superficiales ácidos muestran un i.e.p bajo, mientras que para los grupos superficiales básicos se observan i.e.p. altos.



CAPITULO 3

Desarrollo de un método para la cuantificación de los oligómeros individuales de Nonilfenol Polietoxilado

Para predecir la cinética de eliminación de NPEO_x con el fin de controlar de manera efectiva y mejorar el rendimiento de las instalaciones de tratamiento se desarrolló un método HPLC - UV para una determinación cuantitativa de los oligómeros individuales de NPEO_x en aguas.

Objetivo

- ✓ Desarrollar un método HPLC - UV para la determinación cuantitativa de los oligómeros individuales de NPEO_x en muestras acuosas

3.1. Elección y optimización de variables que intervienen en el proceso cromatográfico

3.1.1. Selección de la fase estacionaria

La cromatografía de fase normal fue el primer tipo de sistema HPLC y se caracteriza por separar los compuestos sobre la base de su polaridad. Esta técnica utiliza una fase estacionaria polar y una fase móvil apolar, y se utiliza cuando el compuesto de interés es polar. El compuesto polar se asocia y es retenido por la fase estacionaria. La fuerza de adsorción aumenta a medida que aumenta la polaridad del compuesto y la interacción entre el compuesto polar y la fase estacionaria polar (en comparación a la fase móvil) aumenta el tiempo de retención. La fase estacionaria puede ser de un sólido adsorbente (Sílice o Alúmina), o bien, un soporte al que se le unen químicamente moléculas orgánicas que presentan grupos funcionales de alta polaridad (Ciano, Amino, etc.)

La HPLC de fase inversa consiste en una fase estacionaria apolar y una fase móvil de polaridad moderada. Una de las fases estacionarias más comunes de este tipo de cromatografía es la sílice tratada con RMe_2SiCl , donde la R es una cadena alquil tal como $C_{18}H_{37}$ o C_8H_{17} , comúnmente denominada C_{18} y C_8 . El tiempo de retención es mayor para las moléculas de naturaleza apolar, mientras que las moléculas de carácter polar eluyen más rápidamente.

La fase estacionaria C_{18} es útil para la separación de cadena corta NPEO_x, pero la larga cadena NPEO_x generalmente eluye en un solo pico, no siendo posible identificar individualmente los oligómeros (Valsecchi y col., 2001). Esto se debe a que al aumentar el número de grupos etoxi la polaridad es superior y resulta imposible la separación de los derivados de cadena larga utilizando la columna C_{18} .

Aunque la fase estacionaria C_8 se considera una fase inversa como la C_{18} , introduce una polaridad intermedia entre la sílice y C_{18} y es posible utilizar para la

separación de los derivados de NP y etoxilados con buenos resultados. En base a estas consideraciones se decidió emplear una columna Symmetry® C₈ (4,6 mm x 150 mm).

3.1.2. Composición de la fase móvil

Se ensayaron las separaciones de una disolución de 250 ppm de NPEO_{av9} variando la composición de la fase móvil de 60 a 80% de Acetonitrilo (AcN) en agua. Empleando una proporción AcN/H₂O (60:40, v/v) se obtuvo una adecuada resolución de los picos correspondientes a los oligómeros hidrófobos, como se observa en la Figura 3.1, mientras que los correspondientes a los oligómeros de gran número de unidades etoxiladas están solapados. Con el objeto de mejorar la resolución de los picos obtenidos se ensayó la separación aumentando la proporción de AcN/H₂O. Con una proporción AcN/H₂O (70:30, v/v) se observan picos con una mejor morfología, mientras que con una proporción AcN/H₂O (80:20, v/v) se obtienen picos muy solapados, que eluyen a los 11 minutos, lo cual indica que no hay una retención adecuada o suficiente de los analitos en la columna. La proporción elegida como óptima fue AcN/H₂O (70:30, v/v), ya que se obtuvieron los mejores resultados trabajando en modo isocrático con esta mezcla

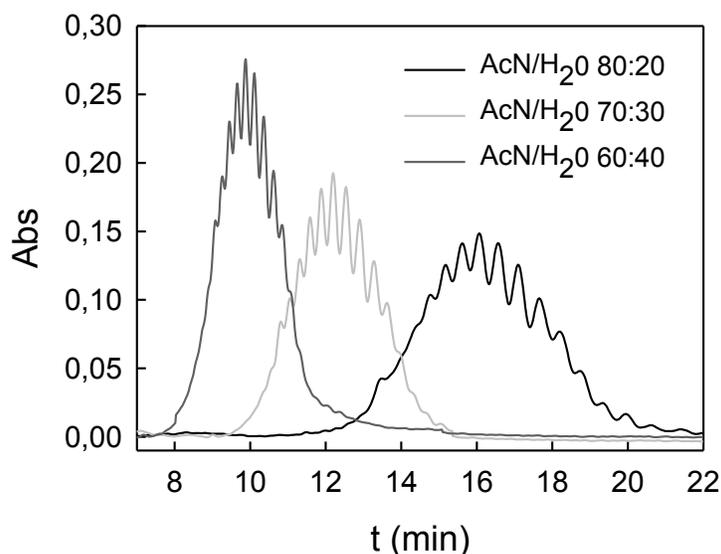


Figura 3.1. Efecto de la composición de la fase móvil en los cromatogramas correspondientes a NPEO_{av9}.

3.1.3. Temperatura de la columna

La retención y la selectividad disminuyen al aumentar la temperatura, y por lo tanto la separación de oligómeros individuales disminuye. Este efecto se relaciona con que el surfactante aumenta su carácter lipofílico, a raíz de que su interacción con la fase estacionaria polar disminuye (Bravo y col., 2006). Por lo tanto, la resolución y el tiempo de elución de los oligómeros de los tensioactivos pueden ajustarse simplemente cambiando la temperatura de la columna.

Se estudió el efecto temperatura en la separación de solución que contenía 250 ppm de NPEO_{av9} variando la temperatura de la columna en el intervalo entre 30 a 55 °C. En la Figura 3.2 se muestran los cromatogramas obtenidos a cada una de las temperaturas ensayadas. La influencia de la temperatura sobre la separación se muestra utilizando una columna C₈ y una fase móvil de con una composición de AcN/H₂O (70:30, v/v) y se ve que la mejor separación se alcanza a los 30 °C. El aumento de temperatura hasta 40 °C, redujo la separación de los oligómeros y a temperatura superiores, la separación ya no es satisfactoria.

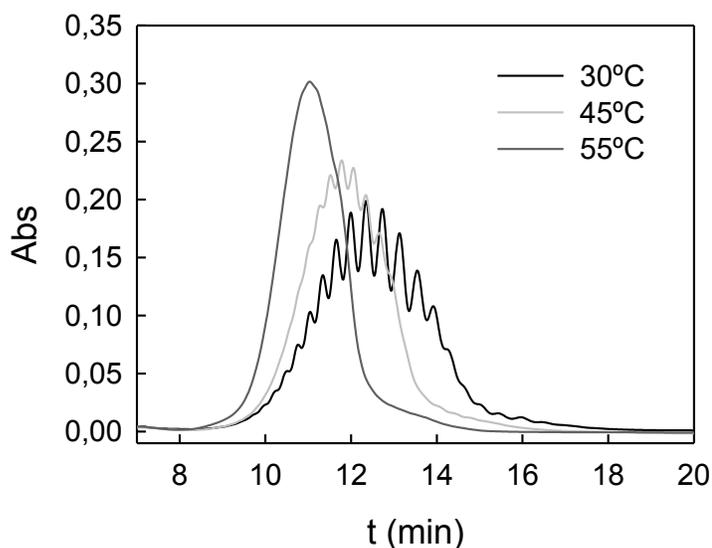


Figura 3.2. Efecto de la temperatura en los cromatogramas correspondientes a NPEO_{av9}.

3.1.4. Volumen de inyección

Cabría esperar que la anchura de banda se incrementara a medida que se aumenta el volumen de inyección; sin embargo, los resultados obtenidos, mostrados en la Figura 3.3, ponen de evidencia que este parámetro prácticamente no afecta la separación de los oligómeros del producto utilizado como referencia. Sí se observa, sin embargo, un notable incremento en el área total de los picos. De hecho, el aumento experimentado al pasar de 20 μL a 50 μL es de prácticamente 2,5 veces lo cual implica un aumento sustancial en la sensibilidad del método ya que disminuirá el límite de detección usando el volumen más pequeño. Por lo tanto, se seleccionó como volumen de inyección un volumen de 50 μL .

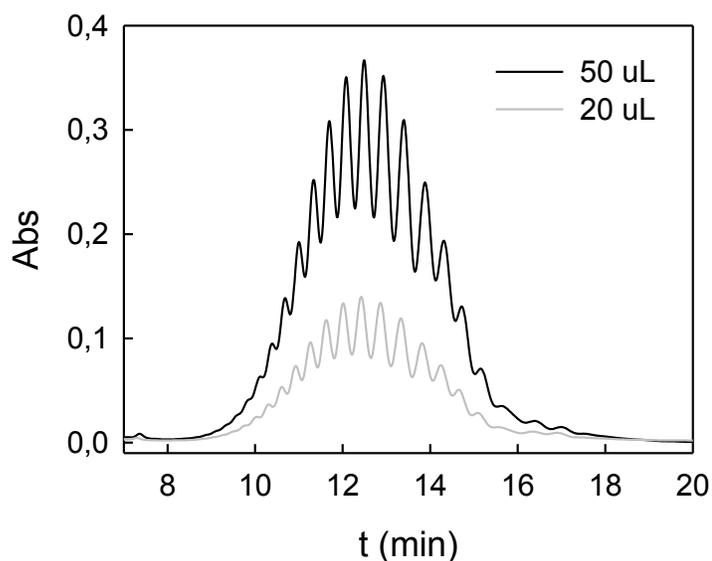


Figura 3.3. Efecto del volumen de inyección en los cromatogramas correspondientes a NPEO_{av9}.

3.1.5. Selección de la longitud de onda

Un espectrofotómetro con arreglo de diodos permitió escanear longitudes de onda de 210 nm a 330 nm. Esto permitió comparar la absorción del analito a diferentes longitudes de onda. La máxima absorción de una disolución que contenía 500 ppm de NPEO_{av9} a los 13.1 min de una corrida utilizando una columna C₈ y una fase móvil de con una composición de AcN/H₂O (70:30, v/v) se produce a 225 nm.

En la Tabla 3.1 se recopilan los valores óptimos seleccionados para cada uno de los parámetros requeridos una la separación adecuada

Tabla 3.1: Resumen de los parámetros cromatográficos utilizados para la determinación de NPEO_x

Parámetros cromatográficos	
Columna	C ₈
Composición de la fase móvil	AcN/H ₂ O (70:30, v/v)
Temperatura de la columna	30°C
Volumen de Inyección	50 µl
Flujo	0.5 mL/min
λ	225 nm

En la Figura 3.4 se muestra el cromatograma correspondiente a la determinación de NPEO_x empleando las condiciones cromatográficas optimizadas

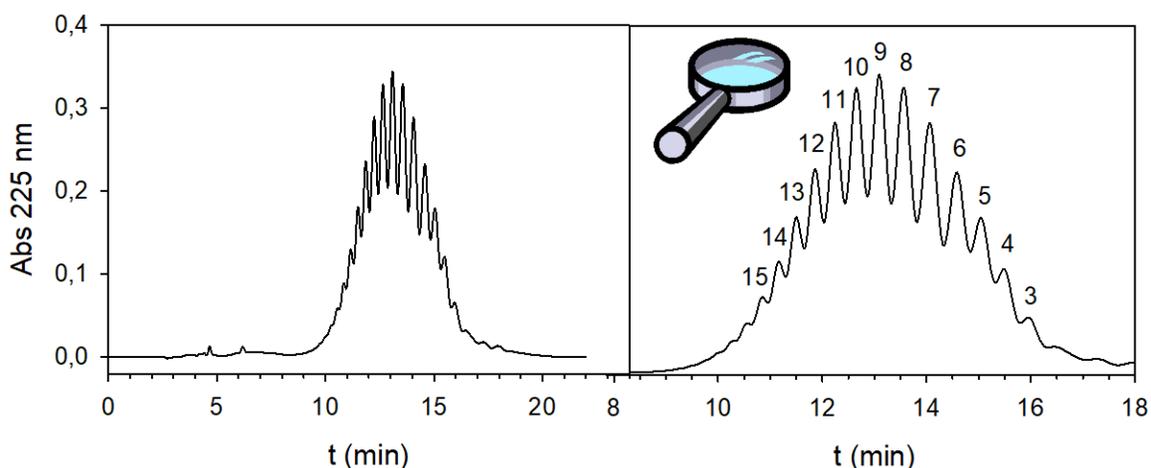


Figure 3.4: Cromatograma obtenido utilizando las condiciones cromatográficas optimizados para una solución que contiene 500 ppm de NPEO_{av9}

La separación por HPLC arrojó una serie de picos solapados correspondiente a distintas cantidades de grupos de óxido de etileno en la molécula. A medida que aumenta las unidades etoxiladas en la molécula, disminuye el tiempo de retención. Se numeran los picos arbitrariamente del 3 a 15, considerando que el NPEO_{av9} posee un promedio del oligómero NPEO₉, a continuación se demostrará que la numeración corresponde al número de etoxilos.

3.2. Análisis de los cromatogramas obtenidos

Los cromatogramas fueron analizados utilizando el software PeakFit (v.4.12). Este software supone que el cromatograma correspondiente a una mezcla de NPEO_x es generado por la superposición de un cierto número de picos. Estos picos son generados por los compuestos (por ejemplo, cada oligómero que componen la mezcla) que están presentes en la mezcla analizada. Se empleó una función gaussiana para representar la absorbancia correspondiente a cada pico (abs_i) como una función del tiempo de retención (t)

$$abs_i = a_0 e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{t-a_1}{a_2} \right)^2} \quad (3.1)$$

donde a_0 , a_1 y a_2 son coeficientes que determinan la amplitud, centro, y el ancho del pico, respectivamente. El software asume que el cromatograma puede ser representado por la suma de las absorbancias de cada pico (abs_i). Entonces, el software propone número dado de picos y calcula los parámetros a_0 , a_1 y a_2 correspondiente a cada pico.

Basándose en estos datos, fueron obtenidos el área individual (A_i) y el tiempo de retención (a_1) correspondientes a cada pico. En el presente trabajo, se utilizó el parámetro a_1 para definir el tiempo de retención de cada pico detectado. Además, el área total (A_T) se obtuvo mediante la integración sobre de todos los picos correspondiente a la mezcla de NPEO_x. En todos los casos, la diferencia máxima entre A_T de las muestras y del duplicado fue de menos de 0.02 ua min.

3.3. Aspectos teóricos de la distribución del tamaño molecular de oligómeros en mezclas comerciales de NPEO_x

Las mezclas comerciales de NPEO_x son el resultado de la reacción de Nonilfenol (NP) con óxido de etileno (EO). El producto de esta reacción es una mezcla de NP que no ha reaccionado y NPEO_i con diferente número de grupos EO añadidos. La distribución del tamaño molecular de los oligómeros (NPEO_i) en la mezcla puede ser representada por la distribución de Poisson (Flory, 1940):

$$\frac{N_i}{N_T} = \frac{e^{-x} x^i}{i!} \quad (3.2)$$

Donde N_i es el número de $NPEO_i$ con i moléculas de EO añadidas (grado de polimerización), N_T es el número total de moléculas de $NPEO_x$ y x es grado promedio de polimerización.

3.4. Cuantificación de Nonilfenol Polietoxilado total (N_T) y las concentraciones individuales de oligómeros (N_i) en muestras de agua.

La Figura 3.4 muestra que bajo las condiciones de operación seleccionadas en la sección anterior, los cromatogramas correspondientes a la mezcla comerciales $NPEO_{av9}$ estaba compuesto por varios picos que se superponen parcialmente. Aunque la contribución de un $NPEO_i$ dado a la absorbancia total depende de su concentración (N_i), la Figura 3.5 demuestra que los espectros de absorción normalizado correspondiente a cada pico fueron prácticamente similares.

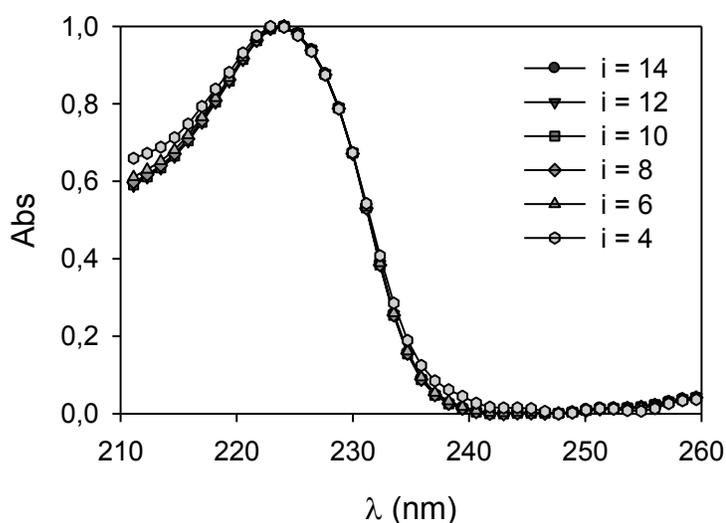


Figura 3.5. Espectros de absorción normalizado correspondiente a los picos observados. Los números indican el oligómero $NPEO_i$ que fue responsable de un solo pico.

Este resultado sugiere que los compuestos presentes en cada pico están estrechamente relacionadas.

Por otra parte, la Figura 3.6 muestra que el tiempo de retención de un pico obtenido fue constante para todas las muestras ensayadas de $NPEO_x$. Suponiendo que el máximo del pico fue obtenido para $NPEO_{av9}$ en el tiempo = 13.1 min corresponde a la oligómero de $NPEO_i$ con i igual al grado promedio de polimerización ($x = 9$, proporcionado

por el fabricante), los otros picos se puede relacionar fácilmente con el NPEO_i con diferentes valores de i . Teniendo en cuenta que se utilizó una columna C_8 , los NPEO_i con mayores valores de i (mayor polaridad) tienen un menor tiempo de retención. Entonces, el tercer pico (en $t = 11.8$ min) antes del pico en $t = 13.1$ min (NPEO_9) debe corresponder a NPEO_{12} . La Figura 3.6 muestra que el cromatograma de NPEO_{av12} exhibió uno de los picos más altos en $t = 11.8$ min. Teniendo en cuenta que el grado promedio de polimerización correspondiente a NPEO_{av12} es $x = 12$ (Tabla 3.2), y que según la ecuación 3.2, NPEO_{12} es uno de los más abundantes oligómeros en muestras de NPEO_{av12} , se puede concluir que uno de los picos más altos deben corresponder a NPEO_{12} . Esta conclusión está concuerda con la suposición anteriormente mencionada de que el tercer pico (en $t = 11.8$ min) antes del pico en $t = 13.1$ min (NPEO_9) debe corresponder a NPEO_{12} . Usando un procedimiento similar, se puede concluir que el cuarto pico (a $t = 15.1$ min) después del pico en $t = 13.1$ min (NPEO_9) debe corresponder a NPEO_5 , que es el más abundante oligómero en las muestras de NPEO_{av5} . Una vez más, el cromatograma correspondiente a NPEO_{av5} exhibió uno de los picos más altos en $t = 15.1$ min (Figura 3.6).

Con el fin de cuantificar la concentración Nonilfenol Polietoxilado total (N_T), se realizaron curvas de calibración con soluciones estándar de mezclas comerciales de NPEO_x con diferentes concentraciones usando las condiciones seleccionadas en la sección anterior. Teniendo en cuenta el grado de polimerización promedio correspondiente a cada mezcla comercial proporcionado por el fabricante, de acuerdo con la ecuación 3.2 la distribución molecular de NPEO_x en cada muestra era bastante diferente. Sin embargo, todas las pendientes de las curvas de calibración correspondientes a las mezclas comerciales NPEO_{av5} , NPEO_{av9} y NPEO_{av12} fueron similares (Figura 3.7), lo que indica que la capacidad de absorción molar de cada NPEO_x no dependía de la longitud de la cadena etoxilada. Santacesaria y col. (1990) reportaron que la absorción molar de NPEO_x no dependía del número de unidades etoxiladas, ya que solo el anillo aromático fue el responsable de la absorción.

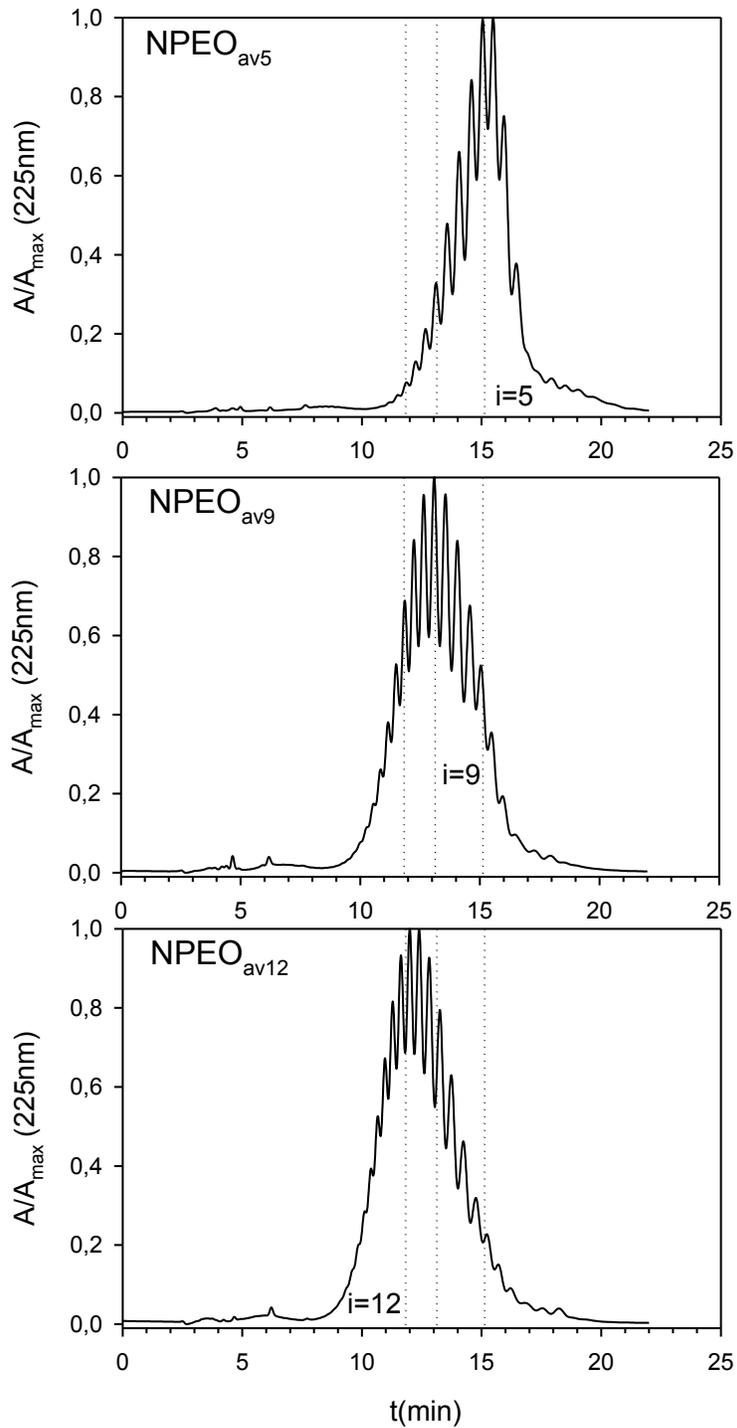


Figure 3.6. Cromatogramas normalizados correspondientes a las mezclas comerciales NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}. Las líneas de puntos indican el tiempo de retención correspondiente a la absorbancia máxima, números indican el valor medio reportado por el fabricante correspondiente a cada tipo de NPEO_x ensayado.

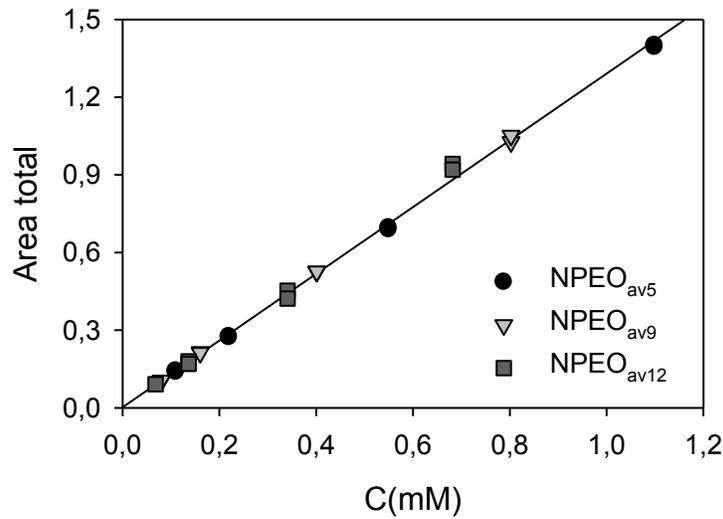


Figure 3.7. Area total en función de la concentración correspondiente a NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}. En este caso, la longitud de onda de detección fue de 225 nm.

La regresión lineal global correspondiente a la superficie total (A_T) como una función de la concentración (N_T) para los tensioactivos ensayados produjo una pendiente $s = 1.29 \pm 0.01 \text{ mM aumin}^{-1}$ y intersección $y_0 = 2.3 \times 10^{-3} \pm 6.6 \times 10^{-3} \text{ aumin}$, y un coeficiente de correlación $r^2 = 0,9979$ ($n = 23$ datos).

El método de propagación de error (Pasternack y col, 2006) se utilizó para calcular el error asociado con la cuantificación de N_T por la técnica propuesta. Utilizando los resultados obtenidos de la regresión lineal N_T , y aplicando el método de propagación de error, se obtiene la siguiente expresión

$$\sigma_N^2 = \left(\frac{\sigma_A}{s}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{y_0}}{s}\right)^2 + \left[\frac{(A_T - y_0)\sigma_s}{s^2}\right]^2 \quad (3.3)$$

donde $\sigma_A = 0,01 \text{ aumin}$, $\sigma_{y_0} = 6 \times 10^{-3} \text{ aumin}$ y $\sigma_s = 0,01 \text{ aumin mM}^{-1}$ son los errores asociados con la cuantificación de la superficie total, intercepción y pendiente, respectivamente. Teniendo en cuenta que la mayor concentración ensayada en el presente trabajo fue de 1.1 mM, esta concentración corresponde a una área total de 1.42 uamin. Así, según ecuación 3.3, dentro de los errores de concentraciones de NPEO_x mínimo y máximo ensayados asociados con N_T fueron $\sigma_{N_{\min}} = 0.009$, y $\sigma_{N_{\max}} = 0.012 \text{ mM}$. Sobre la base de estos valores, se estimó el límite de cuantificación igual a 0.02 mM como la concentración correspondiente a dos veces $\sigma_{N_{\min}}$.

Las Figuras 3.6 a 3.7 demuestran que cada pico corresponde a un único NPEO_i, y que la absorptividad molar de cada NPEO_i no depende del número de grupos EO (i) unido al resto de Nonilfenol. Basándose en estas consideraciones, se puede obtener la ecuación 3.4.

$$\frac{A_i}{A_T} = \frac{N_i}{N_T} \quad (3.4)$$

donde N_i es la concentración de un NPEO_i dado en la mezcla comercial, N_T es la sumatoria de NPEO_i desde i = 0 a ∞, A_i es el área del cromatograma correspondiente a NPEO_i, y A_T es el área total. Combinando las ecuaciones 3.2 y 3.4.

$$\frac{A_i}{A_T} = \frac{e^{-x} x^i}{i!} \quad (3.5)$$

La ecuación 3.5 muestra que si la absorptividad molar de cada NPEO_i no depende de i, la relación A_i/A_T debe seguir la distribución de Poisson. El software PeakFit (v.4.12) se utilizó para evaluar el área de cada NPEO_i (A_i) y el área total (A_T). La figura 5a muestra que el procedimiento de ajuste seleccionado pudo identificar adecuadamente los picos individuales correspondientes a cada NPEO_x en las muestras analizadas de NPEO_x.

Teniendo en cuenta las posiciones de tiempo relativas de los picos individuales correspondientes a NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12} (Figura 3.6), se obtuvo el tiempo de retención de cada NPEO_i individual. La Figura 3.8 muestra que el tiempo de retención de un oligómero dado de NPEO_i es constante y no depende de la muestra de tensioactivo comercial (a₁, ecuación 3.1). Por otra parte, el parámetro de anchura correspondiente a cada pico detectado (a₂, ecuación 3.1) también fue constante (a₂ = 0.14 ± 0.01 min). Estos resultados confirman que cada pico corresponde a un solo NPEO_i con un valor de i definida.

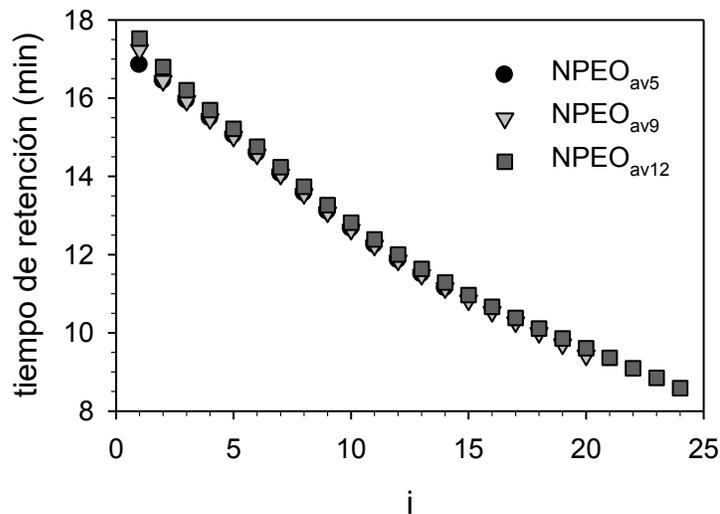


Figure 3.8. El tiempo de retención de cada pico individual (a_i , ecuación 3.1) en función del grado de polimerización de muestras NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}.

Las distribuciones de peso molecular correspondiente a NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12} se obtuvieron de la siguiente manera. Para cada muestra, el tiempo de retención (a_i), el área (A_i) correspondiente a cada pico individual que comprendían todo el cromatograma y el área total (A_T) se obtuvieron usando el PeakFit software. Debido a que el tiempo de retención correspondiente a cada NPEO_i era conocido (Figura 3.8), la fracción de cada NPEO_i se calculó como la relación A_i/A_T (ecuación 3.4).

La Figura 3.9 muestra que las distribuciones de tamaño molecular obtenidos correspondientes a las muestras de NPEO_x ensayadas fueron curvas en forma de campanas asimétricas, de acuerdo con la distribución de Poisson. La ecuación 3.5 se ajustó a la distribución molecular experimental de cada muestra de NPEO_x para obtener el grado promedio de polimerización (\bar{x}) y partir de la fórmula molecular de NPEO_x $((C_2H_4O)_x \cdot C_{15}H_{24}O)$ se obtuvo peso molecular promedio (M_w) según la ecuación 3.6.

$$M_w(\bar{x}) = (2 \cdot 12 + 4 + 16)\bar{x} + 15 \cdot 12 + 24 + 16 = 220 + 44\bar{x} \quad (3.6)$$

La Tabla 3.1 muestra que tanto \bar{x} y como M_w que corresponde a todas las muestras ensayadas de NPEO_x obtenidos en el presente trabajo fueron similares a los reportados por el fabricante, proporcionando una fuerte validación de la técnica propuesta para evaluar la distribución molecular de NPEO_i en muestras de tensioactivo comercial.

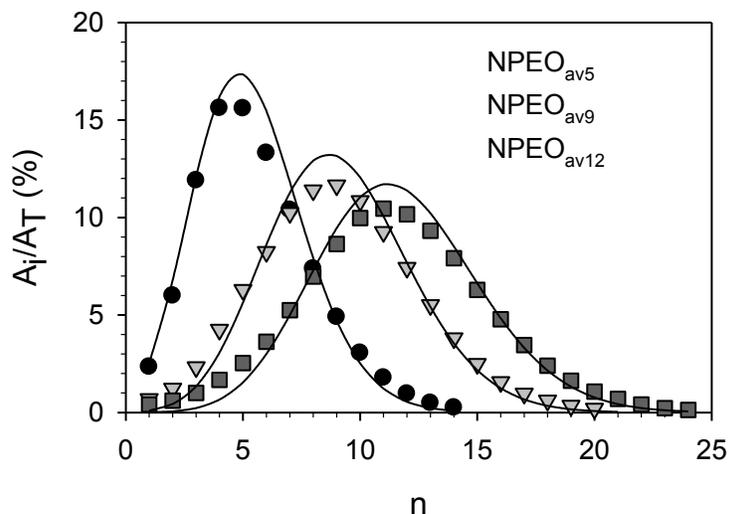


Figure 3.9. Distribución de tamaño molecular experimental de las muestras ensayadas NPEO_x comerciales. Las líneas indican los resultados obtenidos por ajuste de la ec 3.5 a los datos experimentales.

Tabla 3.2. Comparación entre el grado medio de polimerización (\bar{x}) de las muestras ensayadas mezclas comerciales de NPEO_x reportados por el fabricante y los valores obtenidos en el presente trabajo

Formula NPEO _x : (C ₂ H ₄ O) _x ·C ₁₅ H ₂₄ O			Fabricante		Valores obtenidos	
Muestra	NPEO _x	Nombre comercial	X	M _w (g/mol)	X	M _w (g/mol)
A	NPEO _{av5}	CO-520	5	441	5.35 ± 0.09	455 ± 4
B	NPEO _{av9}	CO-630	9	617	9.17 ± 0.11	623 ± 5
C	NPEO _{av12}	CO-720	12	749	11.67 ± 0.11	733 ± 5

3.5. Aplicación de la técnica de HPLC desarrollado para analizar mezclas del tensioactivo comercial de distribuciones de tamaño molecular desconocidos

La técnica de HPLC descrita anteriormente se utilizó para analizar mezclas comerciales de NPEO_x con otras distribuciones de tamaño molecular en lugar de la distribución de Poisson. Las soluciones patrones con 500 mg/L de NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12} se prepararon en AcN/H₂O 1:1 (v/v). Estas soluciones se mezclaron en diferentes proporciones conocidas para obtener una distribución de tamaño molecular de

NPEO_x que era una combinación de dos distribuciones de Poisson. Entonces, las soluciones madre o patron y mezclas preparadas se analizaron por HPLC para obtener la concentración total de NPEO_x (N_T), y la función de distribución de NPEO_x como se describió en la sección anterior.

La Figura 3.10 (cuadro izquierdo) muestra varios ejemplos de cromatogramas correspondientes a las mezclas preparados de NPEO_x. Como se ha obtenido anteriormente para las muestras originales de NPEO_x (Figura 3.6), sus mezclas también produjeron cromatogramas compuestos por picos solapados. La Tabla 3.2 muestra que el método HPLC propuesto podría adecuadamente para cuantificar el total de NPEO_x tanto en las muestras comerciales de tensioactivos originales (Tabla 3.2, las muestras A, B, C), y en mezclas comerciales preparadas (Tabla 3.3, las muestras D a H); en todos los casos, el error fue de menos de 5% de la concentración real N_T.

La Figura 3.10 (cuadro de la derecha) muestra la distribución del tamaño molecular experimental en las mezclas llamadas D, F y H (Tabla 3.3) determinado por el método HPLC propuesto. Aunque la forma de la distribución del tamaño molecular en mezclas D, y F fueron similares a una distribución de Poisson, la distribución experimental correspondiente a la mezcla de H mostró claramente una cresta. Con el fin de verificar si este cresta correspondió a la distribución real o si era un artefacto experimental, la distribución del tamaño molecular de NPEO_x en estas mezclas se calculó como sigue. En primer lugar, se supuso que la distribución del tamaño molecular de NPEO_x en las soluciones originales corresponde a la distribución de Poisson. Entonces, si el grado de polimerización promedio (x) y la concentración NPEO_x total (N_T) correspondiente a cada solución patron (A, B, C, en la Tabla 3.2) son conocidos, se calculó la distribución molecular de NPEO_i en una mezcla dada usando el siguiente expresión

$$\frac{A_i}{A_T} = \frac{\left(\frac{e^{-x_A} x_A^i}{i!}\right) f_A N_{TA} + \left(\frac{e^{-x_B} x_B^i}{i!}\right) f_B N_{TB} + \left(\frac{e^{-x_C} x_C^i}{i!}\right) f_C N_{TC}}{f_A N_{TA} + f_B N_{TB} + f_C N_{TC}} \quad (3.7)$$

donde f_A, f_B y f_C son las fracciones de volumen de las soluciones madre A, B y C en la mezcla. La ecuación 3.7 se utilizó para calcular la distribución del tamaño molecular de NPEO_x correspondiente a las mezclas D, F y H (Tabla 2) utilizando los x valores experimentales representados en la Tabla 3.1 que corresponden a las muestras comerciales originales (A, B, C). La Figura 3.10 (cuadro derecho) muestra que las

distribuciones de tamaño molecular obtenidos por el método de HPLC-UV propuesto concuerdan con los calculados usando la ecuación 3.7. Este resultado demuestra que el método de HPLC-UV desarrollado en el presente trabajo puede ser útil para analizar muestras comerciales con distribuciones desconocidas de $NPEO_i$. Este método podría ser particularmente útil en el estudio del tratamiento de aguas que contienen $NPEO_x$, analizando la efectiva remoción de los oligómeros tóxicos.

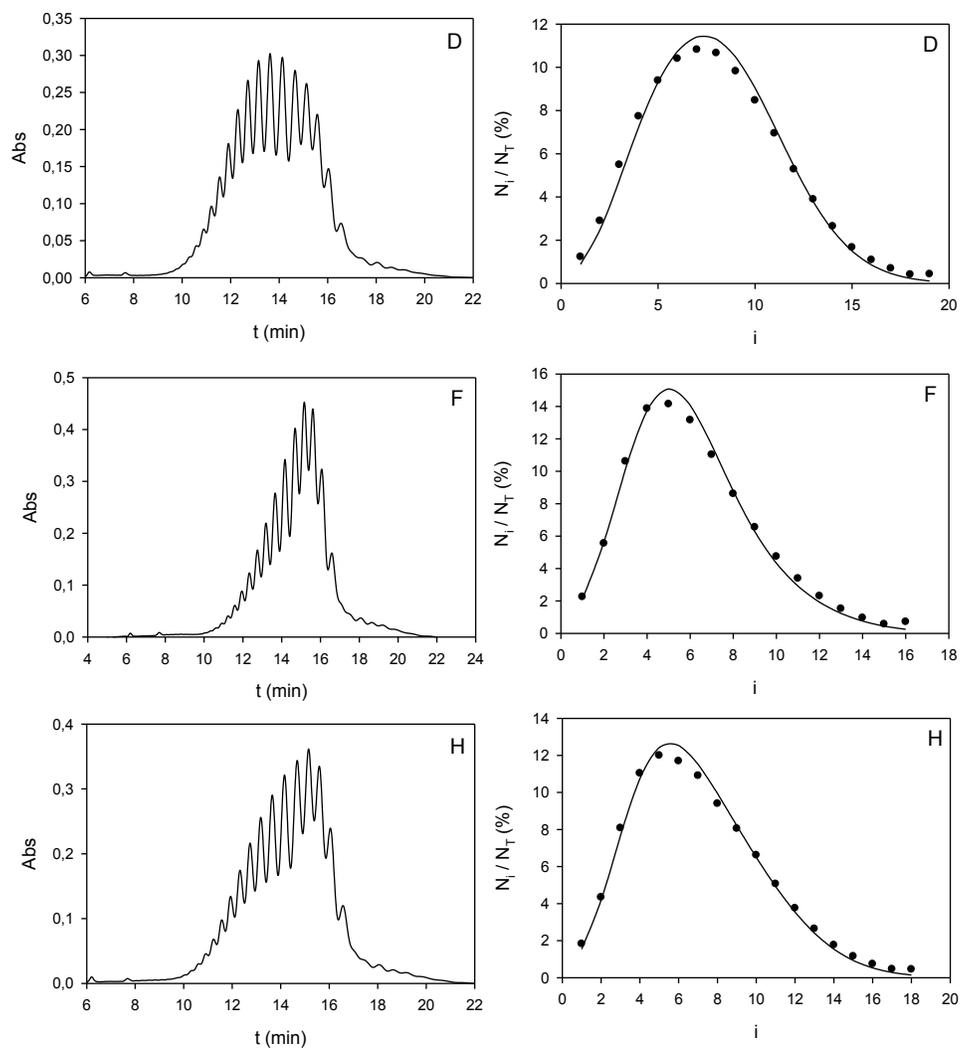


Figura 3.10. Cromatogramas (cuadro izquierdo) y distribuciones de tamaño molecular (cuadro derecho) correspondientes a las Mezclas de D, F, y H (Véase la Tabla 3.3). Las líneas indican la distribución molecular calculada usando la ecuación 3.7 teniendo en cuenta el grado promedio de polimerización (x) de las muestras originales de $NPEO_x$ comercial (A, B, C) obtenidos en el presente estudio (Véase la Tabla 3.2)

Table 3.3. Los resultados del análisis HPLC de las muestras originales de NPEO_x comercial (A, B, C), y de las mezclas de con otra distribución de tamaño molecular en lugar de la distribución de Poisson (muestras D a H)

Muestra	Fracción Volumétrica			N _T (mM)	N _T (mM) (por HPLC)	Error (%)
	NPEO _{av5}	NPEO _{av9}	NPEO _{av12}			
A	1	0	0	1.10	1.09	-1.3
B	0	1	0	0.80	0.81	0.8
C	0	0	1	0.68	0.71	4.6
D	0.25	0.75	0	0.88	0.88	0.0
E	0.50	0.50	0	0.95	0.97	2.0
F	0.75	0.25	0	1.03	1.02	-0.2
G	0	0.50	0.50	0.74	0.77	3.7
H	0.50	0	0.50	0.89	0.89	0.0

3.6. Conclusiones del capítulo

En este capítulo, se desarrollo un método de HPLC-UV para la determinación cuantitativa de los oligómeros presentes en las muestras de agua de NPEO_x. El método comprende una separación parcial de los oligómeros usando una columna C₈ de fase inversa, fase móvil AcN/H₂O 70:30 (v / v) en el modo isocrático operado a 30 °C. Aunque los cromatogramas obtenidos consistían en varios picos solapados, el software PeakFit permitió obtener la contribución de cada pico a la absorbancia total. Los resultados obtenidos demuestran que:

- ✓ Cada pico representa un NPEO_i con un determinado grado de condensación (i)
- ✓ La absorción molar de cada NPEO_i no depende de i.
- ✓ Las distribuciones de tamaño molecular obtenidos correspondientes a las muestras de mezclas comerciales ensayados estaban concuerdan con la distribución de Poisson
- ✓ Tanto el grado promedio de polimerización (\bar{x}) como el peso molecular promedio (M_w) de todas las muestras estudiadas NPEO_x en el presente trabajo fueron similares a los reportados por el fabricante.

- ✓ Usando el método de HPLC-UV propuesto, el error correspondiente a la concentración total $NPEO_x$ (N_T) en muestras originales $NPEO_x$ comercial, y en mezclas preparadas era menos del 5% de la concentración real N_T .

- ✓ El método de HPLC-UV desarrollado en el presente trabajo podría ser útil para analizar muestras comerciales con distribuciones desconocidas de $NPEO_i$



CAPITULO 4

Remoción de Nonilfenol Polietoxilado de aguas residuales empleando tratamiento biológico

Los tratamientos biológicos se utilizan en la actualidad para lograr detoxificar aguas contaminadas con compuestos tóxicos. En este capítulo se analiza la posibilidad de utilizar reactores biológicos de barros activados para degradar Nonilfenol Polietoxilado

Objetivos

- ✓ Analizar la posibilidad de utilizar reactores biológicos batch de barros activados para degradar NPEO_x
- ✓ Utilización de barros activados aclimatados al fenol para la remoción de NPEO_x de aguas residuales. Comparar de los resultados obtenidos mediante la utilización de barros activados no aclimatados y aclimatados al fenol.
- ✓ Investigar de la toxicidad NPEO_x sobre la comunidad microbiana
- ✓ Estudiar el proceso de aclimatación a NPEO_x por ensayos de batch consecutivos y por ensayos de respirometría intermitente para conocer los rendimientos del sistema y la cinética de degradación
- ✓ Observar la dinámica de comunidades bacterianas y su capacidad para producir polihidroxicanoatos (PHA).
- ✓ Analizar, cuantificar la producción cada uno de los oligómeros de NPEO_x la remoción en reactores batch de barros activados y la acumulación de metabolitos tóxicos.
- ✓ Estudiar el efecto de la concentración inicial de NPEO_x y el número de unidades etoxiladas sobre la biodegradación de NPEO_x.
- ✓ Proponer un mecanismo de remoción para explicar los resultados obtenidos

4.1. Análisis de la capacidad de comunidades microbianas en la remoción de NPEO_x

En la presente sección se analiza la capacidad de remoción de una mezcla comercial de NPEO_{av9} por consorcios microbianos. Se compara la biodegradación de las NPEO_{av9} empleando dos fuentes distintas de barros activados. La primera muestra de barros activados fue tomada de una planta de tratamiento de barros activados alimentada con un sistema modelo de agua residual de una industria láctea con suero de queso como única fuente de carbono y la segunda muestra fue tomada de una planta de tratamiento de barros activados aclimatados a consumir fenol como única fuente de carbono.

4.1.1 Ensayo experimental

Para estudiar la capacidad para degradar NPEO_x de barros proveniente de modelo de agua residual de la industria láctea y de barros aclimatados a fenol se utilizó un biorreactor como el que se describió en la sección 2.4.3 del Capítulo 2. La aireación se proporcionó en la parte inferior del reactor a través de un difusor de aire a 2 L/min; el oxígeno disuelto (DO) se mantuvo por encima de la concentración de 4 mgO₂/L a temperatura ambiente (20°C ± 2°C).

Los barros activados se obtuvieron como se describió en el Capítulo 2. Los ensayos se realizaron empleando un medio de cultivo con Igepal CO-630 (NPEO_{av9}) como la única fuente de carbón: 300 mg/L y un medio mineral compuesto por (NH₄)₂SO₄, 500 mg/L, K₂HPO₄, 250 mg/L KH₂PO₄, 25.2 mg/L MgSO₄·7H₂O, 2 mg/L CaCl₂, 1 ml de M₁, 1 ml de M₂, 1 ml de antiespumante siliconado y 300 mg/L NPEO₉. La composición de las soluciones M₁ y M₂ se describió en la en la sección 2.4.3 del Capítulo 2. El pH se ajustó a 7.0 ± 0,05 mediante la adición de unas pocas gotas de soluciones concentradas de NaOH o HCl.

El reactor se controló periódicamente con mediciones de sólidos suspendidos totales (SST) y demanda química de oxígeno soluble (DQO_s). Los métodos analíticos utilizados han sido descritos en el Capítulo 2.

4.1.2 Remoción de NPEO_x por barros no aclimatados y aclimatados a fenol

En la Figura 4.1 a se encuentran los perfiles de degradación de NPEO_{av9} en el tiempo para el primer ciclo de alimentación con diferentes barros aclimatados y no aclimatados a fenol, alimentados con 300 mg/L de NPEO_{av9} como única fuente de carbón.

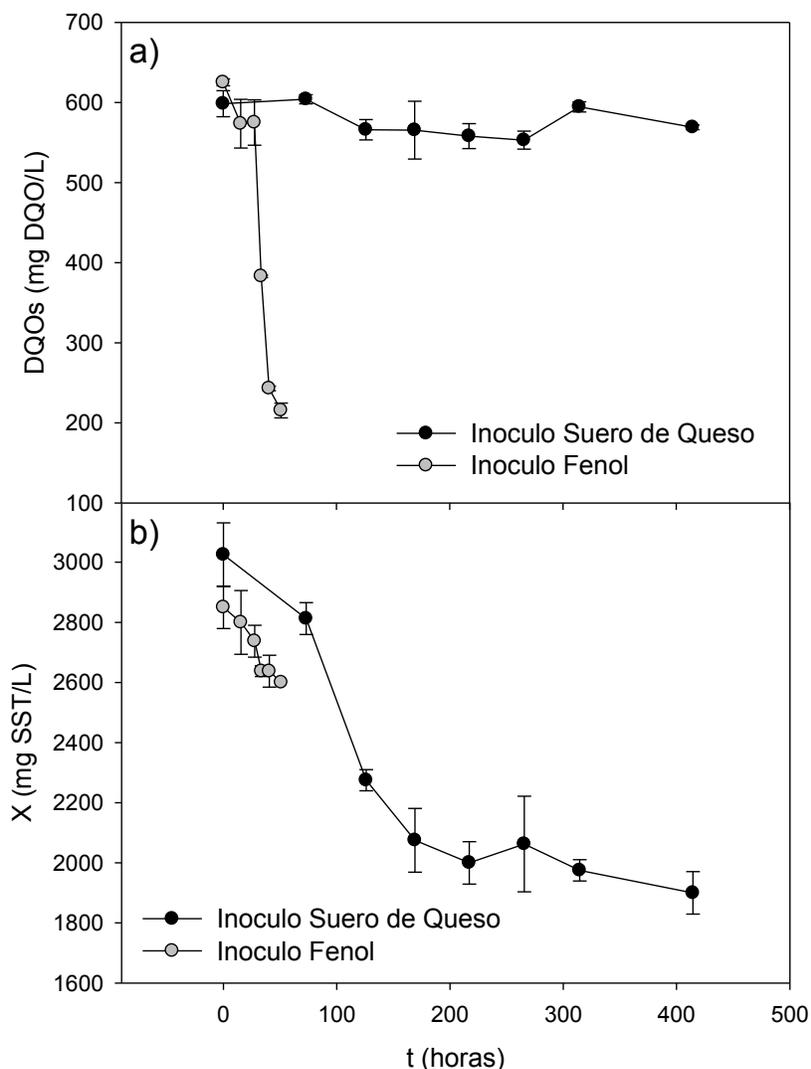


Figura 4.1. a) Perfil de degradación de $NPEO_{av9}$ en el tiempo y b) Variación de la concentración de biomasa en el tiempo para el primer ciclo de alimentación con 300 mg/L de $NPEO_{av9}$ con Barros alimentados con Suero de Queso y Barros aclimatados a fenol.

Cuando microorganismos no adaptados a degradar fenol son alimentados con $NPEO_{av9}$ como única fuente de carbón no se observó consumo de DQO_s en 414 hs (17 días). Sin embargo, cuando se utilizan barros previamente aclimatados a fenol se observa un consumo de DQO_s del 66% en 50 hs.

La concentración de biomasa disminuyó un 37% en el caso de utilizar barros provenientes de un sistema modelo de agua residual de una industria láctea, sin constar consumo de $NPEO_{av9}$, mientras que la disminución fue solo del 9% para barros

aclimatados previamente con fenol (Figura 4.1 b), evitando así una disminución de un 28.5% de la biomasa total.

Jurado y col. (2009) estudiaron la degradación de una mezcla de NPEO_x con 9.5 unidades etoxiladas con un cultivo mixto obtenido del sedimentador secundario de una planta de tratamiento de líquidos cloacales. Las concentraciones iniciales de NPEO_{av9.5} ensayadas fueron 5-50 mg/L, obteniendo la degradación del tensioactivo en aproximadamente 300 hs, sin embargo las concentraciones iniciales en ese caso eran de 6 a 60 veces menor que las utilizadas en este trabajo. Por otra parte, Wyrwas y col. (2013) ensayaron la degradación de una mezcla comercial de octilfenol polietoxilado con un promedio de 9 unidades etoxiladas en un rango de concentración de 1-1000 mg/l, utilizando un inóculo de una planta de tratamiento de líquidos cloacales municipales, durante 36 días, logrando degradación de concentraciones del orden de 200-500 mg/L en dicho tiempo de ensayo.

En el presente estudio no se observó consumo de NPEO_x con barro proveniente del modelo de agua residual de la industria láctea en el tiempo ensayado, mientras que los barros aclimatados a fenol resultaron adecuados para la remoción de 300 mg/L NPEO_{av9} en un tiempo considerablemente inferior al reportado en literatura (Gabriel y col, 2005; Wyrwas y col., 2013). Esto podría deberse a que las especies que constituyen el inóculo inicial que degradan el fenol son capaces de remover NPEO_{av9}. Esto se analizará luego en la sección 4.4 de este capítulo. Por lo tanto, a partir de los resultados obtenidos, se decidió seguir los estudios con barros aclimatados a fenol.

En la Figura 4.2 se muestra perfil de degradación de NPEO_{av9} en el tiempo para el primer ciclo de alimentación con inóculo aclimatado a fenol con diferentes concentraciones iniciales de NPEO_{av9}. En la degradación de NPEO_{av9}, los barros activados presentaron un período de adaptación de 30 horas, luego de este período la concentración de NPEO_{av9} disminuyó considerablemente. Por ello, los perfiles de degradación de NPEO_{av9} pueden ser divididos en dos fases, un período de adaptación (donde no se observa una variación en la concentración de NPEO_{av9}) y un período de degradación (donde se evidencia una marcada disminución en la concentración). Los periodos de aclimatación fueron iguales para diferentes concentraciones iniciales. Eso indicaría que no existe inhibición de la flora microbiana por NPEO_x en el rango de concentración estudiado

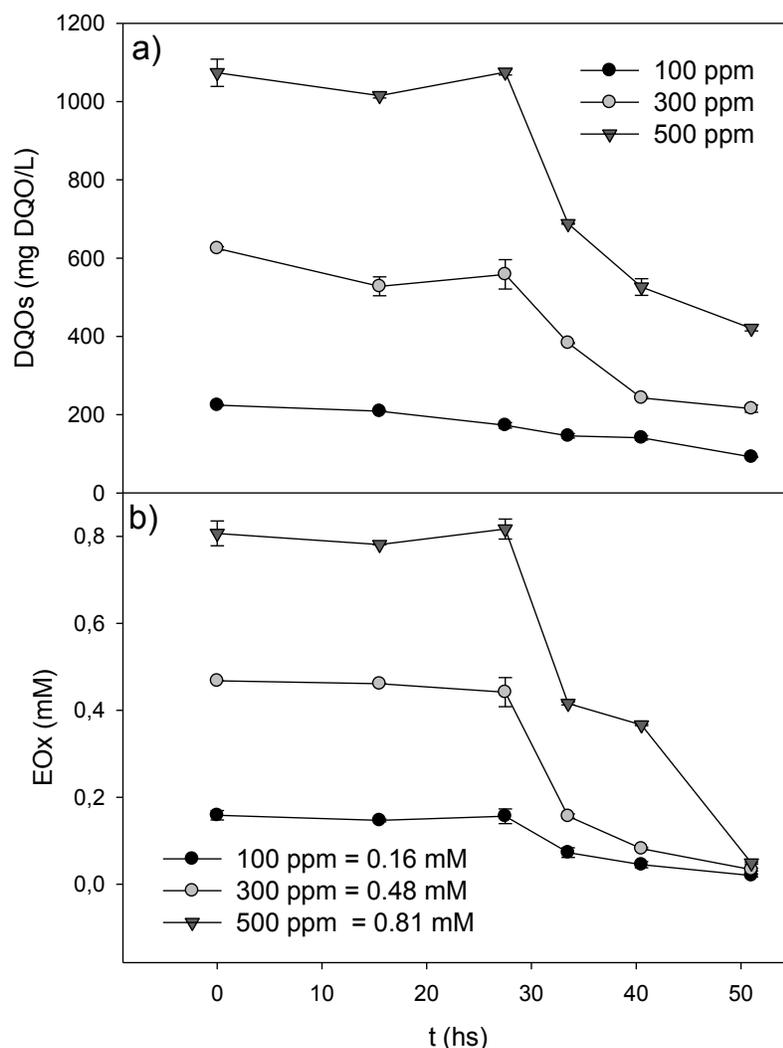


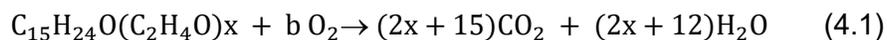
Figura 4.2. Perfil de degradación de NPEO_{av9} en el tiempo medido como a) DQO_s y b) con el método Y-Y para el primer ciclo de alimentación con inoculo aclimatado a fenol con 100 mg/L (0.16 mM), 300 mg/L (0.48 mM) y 500 mg/L (0.81 mM) de NPEO_{av9}

Se puede observar en la Figura 4.2 que el perfil de remoción de NPEO_{av9} en el tiempo, medido como DQO y a través del método Yodo-Yoduro (Y-Y) (que mide la fracción de unidades etoxiladas del NPEO_x y que denominaremos como EO_x) ambos disminuyen en función del tiempo a medida que progresa la degradación del tensioactivo y parecen tener cierto grado de correlación. La DQO es un indicador de la cantidad total de materia orgánica (Muñoz y col, 2016) (en este caso la materia orgánica soluble ya que se midió solo la fracción soluble), por lo tanto, representa la cantidad total de NPEO_x. Por otra parte, el agente Yodo-Yoduro reacciona con la cadena etoxilada del NPEO_x, por lo

que la cantidad de NPEO_x medida con el método Y-Y representa la porción de unidades etoxiladas unidas al Nonilfenol (Cassidy y col, 1999; Villena y Serrano, 2005). En la Figura 4.2 se puede ver que aproximadamente todo el NPEO_{av9} medido por el método Y-Y fue consumido. Estos resultados son comparable con otros autores (Jurado y col., 2009) que han analizado la remoción biológica NPEO_{av9} por el método Y-Y, obteniendo remociones del 90%.

Con relación a la DQO, se obtuvo en promedio una remoción del 61.8% ± 3.4. Algunos autores (Chiu y col., 2010; Corvini y col., 2006) han informado que la biodegradación de NPEO_x utilizando cultivos puros de microorganismos produce la despolimerización de NPEO_x hasta la formación de Nonilfenol Dietoxilado (NPEO₂), Nonilfenol Monoetoxilado (NPEO₁) y Nonilfenol (NP). Es decir, el NPEO_x no se remueve completamente, en coincidencia con la DQO_s remanente no removida que se observó en los ensayos mostrados en la Figura 4.2. Esos estudios son consistentes con los resultados obtenidos ya que el NPEO_x medido por el método Y-Y es consumido completamente indicando que prácticamente todas las unidades etoxiladas son removidas durante la degradación mientras que el remanente de la DQO_s correspondería a la molécula NPEO_x que no es removida (anillo aromático y cadena carbónada).

La fórmula del tensioactivo comercial NPEO_x es C₁₅H₂₄O(C₂H₄O)_x, donde x es el número promedio de unidades etoxiladas. La oxidación total del tensioactivo comercial estará representada por la ecuación 4.1:



donde b es la cantidad de oxígeno consumido por mol de tensioactivo para su oxidación total. A partir de la ecuación 4.1 se obtiene:

$$b \left(\frac{\text{mol}O_2}{\text{mol NPEO}_x} \right) = \left(\frac{5x + 41}{2} \right) \quad (4.2)$$

La Demanda Teórica de Oxígeno (ThOD) para el NPEO_x, es decir, la cantidad de oxígeno consumido para la oxidación total del NPEO_x, será entonces:

$$\text{ThOD} \left(\frac{\text{g}O_2}{\text{gNPEO}_x} \right) = \frac{32 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}O_2} \right) \cdot b}{PM_{NPEO_x}} \quad (4.3)$$

Para el caso de $NPEO_{av9}$, el PM reportado por el fabricante es 617 $gNPEO_{av9}/molNPEO_{av9}$. A partir de la ecuación 4.2, b es igual a 43 $molO_2/mol NPEO_{av9}$ y a partir de la ecuación 4.3 la ThOD resulta 2.23 $gO_2/gNPEO_{av9}$. Por lo tanto, si la concentración inicial de $NPEO_{av9}$ en los ensayos de biodegradación es C_0 (mg/L), la DQO_s debería ser aproximadamente de $2.23C_0$. En la Tabla 4.1 se puede ver la concentración inicial de DQO_s resultó aproximadamente $2.23C_0$.

Tabla 4.1: Comparación entre la DQO_s inicial teórica y hallada experimentalmente

Co(g/L)	DQO_s Teórico ($2,23C_0$)	DQO_s Experimental
100	223.0	224.5
300	669.0	625.0
500	1115.0	1073.5

Para una cierta concentración inicial C_0 (mg/L) de $NPEO_x$ se pueden obtener los valores de teóricos de DQO_s final, si el consumo de oxígeno se debe a la despolimerización de $NPEO_x$ desde un x_i a un x_f y asumiendo que todo el tensioactivo permanece en solución

$$DQO_f = 16 \cdot \frac{(5x_f + 41)}{PM_{NPEOx}} \cdot C_0 \quad (4.4)$$

La DQO_f calculada mediante la ecuación 4.4 es en realidad la cota mínima de DQO_f ya que también puede haber productos microbianos solubles y restos celulares resultantes de la lisis celular que aportan DQO_s . En la Tabla 4.2 se calculan los valores de DQO_s final, asumiendo diferentes grados de despolimerización (x_f) y se comparan con los valores obtenidos al final del experimento. Si $x_f=2$ o $x_f=1$, el producto de degradación final sería $NPEO_x$ con un promedio de 2 o 1 unidades etoxiladas, respectivamente, mientras que si $x_f=0$, el producto de degradación sería Nonilfenol.

Tabla 4.2: DQO_f teórica y experimental asumiendo diferentes grados de despolimerización (x_f)

Co(mg/L)	DQO _f teórico (ec. 4.4)			DQO _f experimental
	$x_f = 0$	$x_f = 1$	$x_f = 2$	
100	106.6	119.6	132.6	92.0
300	319.8	358.8	397.8	215.5
500	533	598	663	420.5

Los valores de DQO_s obtenidos al finalizar el ensayo ($t = 51$ hs.) resultaron menores a los calculados mediante ecuación 4.4, sugiriendo entonces que todo el tensioactivo no permanece en solución. Varios autores han demostrado que el NP y los NPEO₁ y NPEO₂ se acumulan en los barros activados (Chryssa Bouki y col, 2010; Gao y col, 2014; Priac y col, 2017), alcanzando niveles hasta dos órdenes de magnitud más altos que la concentración de éstos en fase acuosa. Esto se debe a la naturaleza hidrofóbica tanto de NPEO_x de cadena corta como de los biosólidos. De esta manera, los resultados indican que el proceso de biodegradación aeróbica de NPEO_x mediante barros activados conduciría a la despolimerización de éste, hasta un valor de x_f entre 0 y 2, seguido por una adsorción de los oligómeros de cadena corta a la biomasa, lo que reduce la concentración de NPEO_x.

4.2. Estudio del proceso de aclimatación a NPEO_x de barros activados previamente aclimatados a fenol por ensayos de batch consecutivos

El primer paso para biodegradar sustancias tóxicas en una planta de tratamiento de aguas residuales es la aclimatación de los microorganismos. Cuando los mismos se ponen en contacto con compuestos tóxicos, en un ambiente favorable puede ocurrir la adaptación la biomasa a degradar estos compuestos (Aelion y col, 1989).

Como se mencionó en párrafos anteriores, la degradación de NPEO_{av9} por barros activados requirió un período de adaptación de aproximadamente 30 horas, ya que para que ocurra el proceso de remoción biológica de NPEO_x es necesario que los

microorganismos presentes en el inóculo inicial puedan aclimatarse a la presencia de NPEO_x y generar nuevos individuos que conserven la capacidad de remover el NPEO_x.

En esta sección fue evaluada la aclimatación y la estabilidad de la capacidad de remoción de NPEO_x de los barros activados llevando a cabo ensayos de remoción de NPEO_x en forma consecutiva, de manera que, el inóculo microbiano inicial de cada batch provenía del anterior.

4.2.1 Ensayos experimentales

La aclimatación de barros activados a NPEO_x se llevó a cabo en ensayos de batch consecutivos (Ferro Orozco y col, 2010). Los barros activados previamente aclimatados a fenol fueron alimentados con un medio de cultivo con NPEO_{av9} como la única fuente de carbón. Luego, el inóculo para el siguiente ensayo batch se obtuvo del ensayo anterior. Antes de comenzar cada batch, la biomasa fue separada por sedimentación y se resuspendió en medio de cultivo fresco para servir como inóculo para el siguiente ensayo batch. La composición del medio de cultivo utilizado para aclimatar la biomasa a NPEO_x fue la siguiente: NPEO_{av9} 100-300 mg/L y el medio mineral se describió en 4.1.1.

La biomasa fue aclimatada a NPEO_x con una estrategia de ciclos temporales variables, en los cuales se seguía el proceso de biodegradación con mediciones de DQO_s. Los ciclos se interrumpían cuando la DQO_s final era constante y alcanzaba un valor de remoción del 60% aproximadamente. Entonces, el sobrenadante era reemplazado de modo de iniciar un nuevo ciclo de degradación. Se realizó la aclimatación a tres concentraciones iniciales de NPEO_x: 100, 300 y 500 mg/L.

Para cada ciclo de alimentación se determinó la cinética de consumo de NPEO_x; para ello se midió en función del tiempo la DQO_s, la concentración de etoxilos por el método Yodo-Yoduro (EO_x), la concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT) y de biomasa (X) como sólidos suspendidos totales.

4.2.2. Aclimatación de los barros activados a diferentes concentraciones iniciales de NPEO_{av9}

Los resultados obtenidos de los datos de concentración de DQO_s y EO_x en función del tiempo para los distintos experimentos de aclimatación de la biomasa a 100,

300 y 500 mg/L de NPEO_{av9} se muestran en la Figura 4.4. Las líneas punteadas indican los diferentes ciclos de aclimatación. Se realizaron en total 10 ciclos de aclimatación.

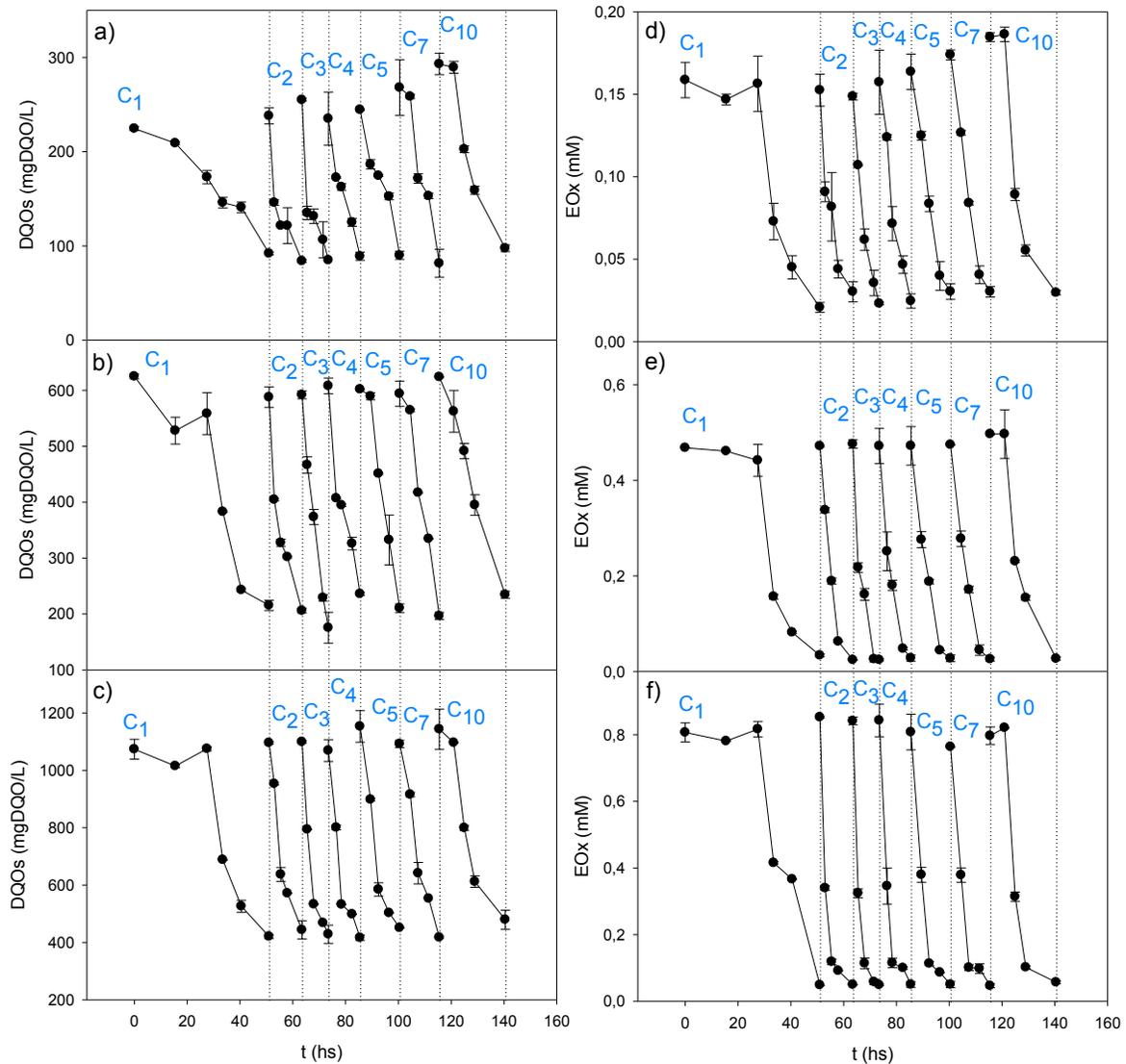


Figura 4.3. Evolución de DQO_s en proceso de aclimatación de barros activados a: a) 100 mg/L, b) 300 mg/L y c) 500 mg/L de NPEO_{av9} y seguimiento de EO_x por el método Y-Y durante la aclimatación a d) 100 mg/L (0.16 mM) e) 300 mg/L (0.48 mM) y f) 500 mg/L (0.81 mM), de NPEO_{av9}

En todos los experimentos se observó una disminución de la DQO_s y de EO_x . Sin embargo, las características del primer batch fueron diferentes a las observadas en los seis ensayos siguientes. En el primer ensayo se observó un período de latencia de aproximadamente 30 horas, luego del cual comenzó la remoción de NPEO_{av9} . Por otro

lado, el periodo de latencia no fue observado a partir del segundo experimento, ya que en los ciclos sucesivos de degradación de NPEO_{av9} se evidenció un descenso inmediato del sustrato como también una disminución del tiempo empleado en degradar NPEO_{av9} . Se determinó que durante el período de aclimatación el tiempo para degradar NPEO_{av9} inicial se redujo gradualmente, en el primer ciclo fue de 50 h y se obtuvo un período de degradación de 10 h en el ciclo 3.

En la Figura 4.4 se muestra cómo se modificó la concentración de biomasa (X) y de NAT durante los primeros dos ciclos de la aclimatación del consorcio microbiano a 300 mg/L de NPEO_{av9} (Figura 4.4. a) y en los ciclos restantes (Figura 4.4. b).

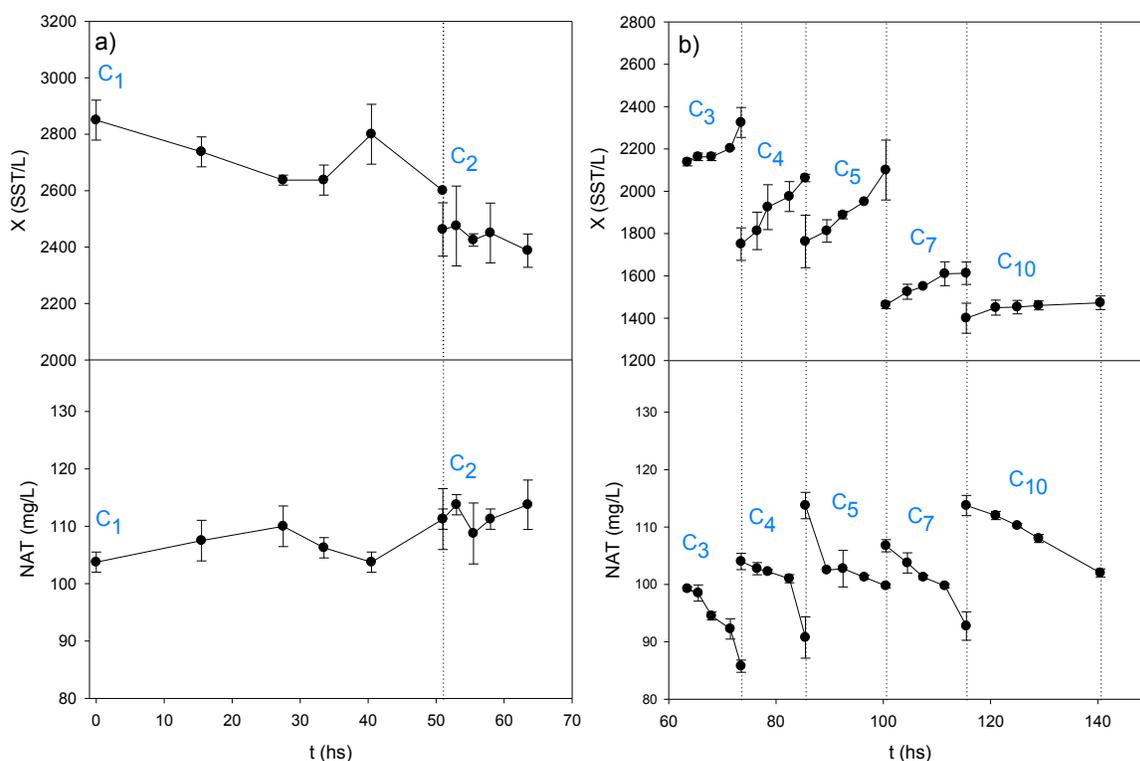


Figura 4.4. Evolución de la concentración de a) biomasa (X) y b) de NAT en los Ciclos 1 y 2 del proceso de aclimatación de barros activados a 300 mg/L de NPEO_{av9} y b) a partir del Ciclo 3.

Para las tres concentraciones ensayadas se obtuvieron perfiles de concentración de biomasa (X) y de nitrógeno amoniacal total (NAT) similares, donde en los primeros 2 ciclos de aclimatación se observó una disminución de la concentración de X y un aumento de la concentración de NAT, consistente con un aumento de concentración de proteínas

en el medio debido a la lisis microbiana, comprobado con un aumento del NAT (Schwarz y Forchhammer, 2005).

A partir del tercer ciclo se advierte un consumo de NAT y un incremento de X. Estos resultados sugieren que durante los primeros dos ensayos se produciría la aclimatación de la comunidad microbiana a las nuevas condiciones que presenta el medio.

Para cada ciclo de alimentación y a partir de las concentraciones iniciales (i) y finales (f) de biomasa (X, mgSST/L), DQO_s (mgDQO/L) y EO (mM), se calcularon los siguientes rendimientos en biomasa:

$$Y_{X/DQO_s} = \frac{X_f - X_i}{DQO_{si} - DQO_{sf}} \quad (4.5)$$

$$Y_{X/EO_x} = \frac{X_f - X_i}{EO_i - EO_f} \quad (4.6)$$

En la Figura 4.5 se puede observar los rendimientos en biomasa (a) Y_{X/DQO_s} , (b) Y_{X/EO_x} en función del número de ciclo de alimentación correspondientes al promedio de tres concentraciones iniciales de NPEO_{av9} ensayadas, calculados según la ecuación 4.5 y 4.6.

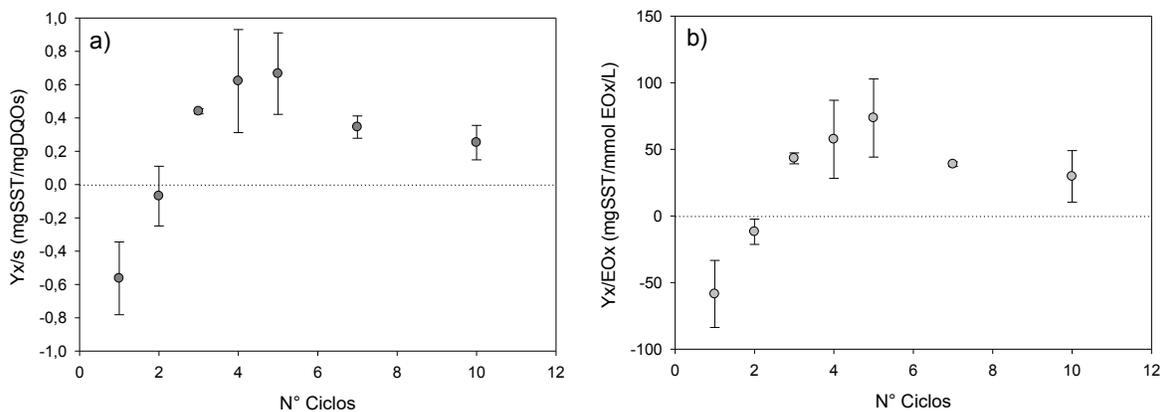


Figura 4.5. Rendimientos en biomasa a) Y_{X/DQO_s} , b) Y_{X/EO_x} en función del número de ciclo de alimentación correspondientes al promedio de tres concentraciones iniciales de NPEO_{av9} ensayadas.

Para todas las concentraciones ensayadas de NPEO_{av9} se observó que, aunque había un consumo de NPEO_{av9} desde el inicio de los ensayos (Figura 4.3), la concentración de biomasa al final de los ciclos 1 y 2 era menor que al inicio de los mismos (Figura 4.4); por esta razón los rendimientos en biomasa ($Y_{X/S}$) resultaron negativos. A partir del tercer ciclo de alimentación la biomasa se aclimató a los NPEO_x, pudiéndolos emplear como sustrato para el crecimiento. A partir de ciclo 7, los rendimientos se estabilizaron en 0.30 ± 0.07 mgSST/mgDQO_s y 34.4 ± 6.6 mgSST/mmolEO_x.

Con el objeto de realizar comparaciones entre los ensayos batch, se calcularon los valores correspondientes a la velocidad de consumo de DQO_s (R_{DQOs}), de EO_x (R_{EOx}) y de nitrógeno amoniacal (R_{NAT}) como la pendiente de la porción lineal del cambio de DQO_s, EO_x y NAT en función del tiempo (Melo y Kholi ,2005). A fines comparativos, el valor obtenido de cada velocidad (R) se dividió por la concentración de biomasa (X) para obtener las velocidades específicas respectivas:

$$q_{EOx} = \frac{R_{EOx}}{X} \quad (4.7)$$

$$q_{DQOs} = \frac{R_{DQOs}}{X} \quad (4.8)$$

$$q_{NAT} = \frac{R_{NAT}}{X} \quad (4.9)$$

siendo X el valor promedio de las concentraciones de biomasa obtenidos en el experimento (gSST/L).

Los valores obtenidos de la velocidad específica de consumo de NPEO_{av9} en función del número de ciclos de aclimatación para las 3 concentraciones iniciales de NPEO_{av9} se calcularon según las 4.7-4.9 y se muestran en la Figura 4.6. En el transcurso de la aclimatación, los valores de q_{DQOs} y q_{EOx} se incrementaron gradualmente hasta alcanzar un valor constante correspondiente a la máxima velocidad específica de degradación de NPEO_x.

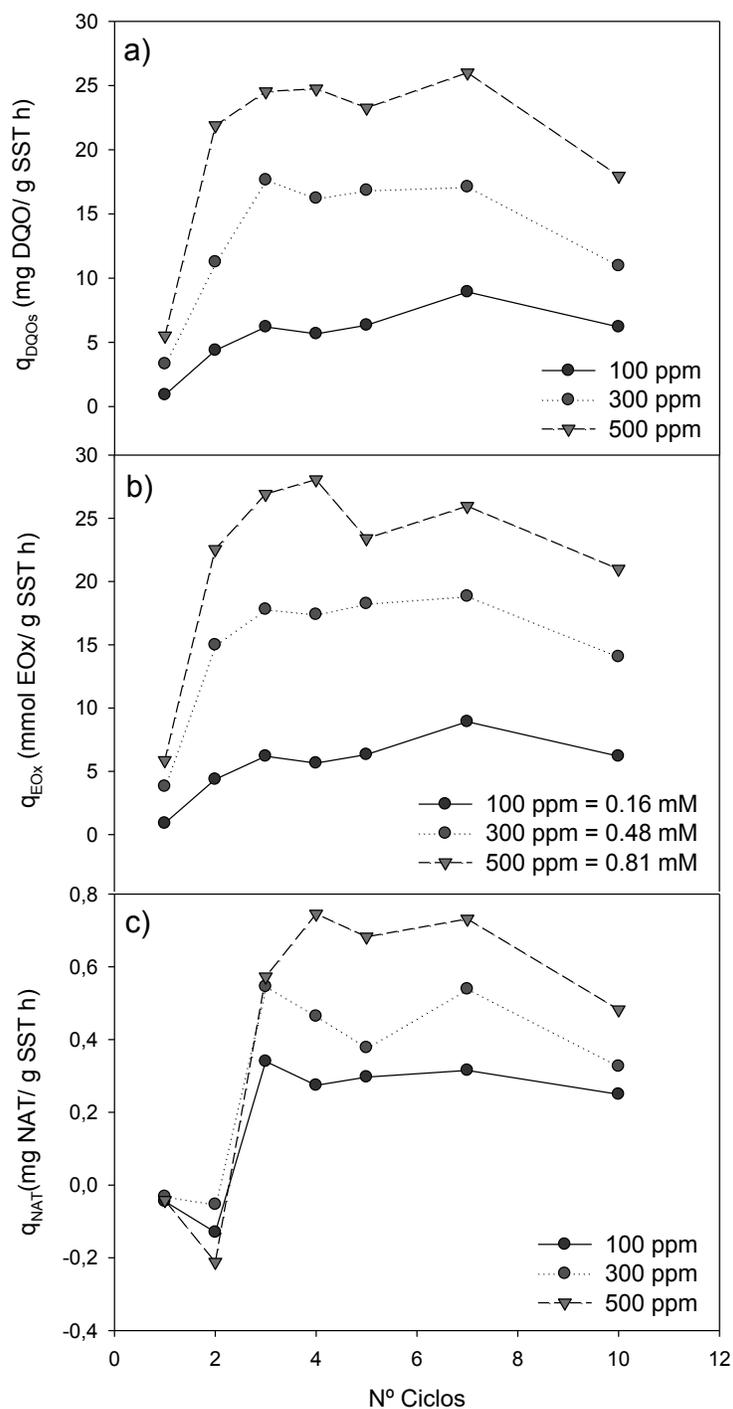


Figura 4.6. Velocidad específica de consumo de a) DQO_s, b) EO_x y c) NAT en función del número de ciclos de aclimatación a 100 mg/L (0.16 mM), 300 mg/L (0.48 mM) y 500 mg/L (0.81 mM) de NPEO_{av9}

La Figura 4.6 muestra que la aclimatación de los barros se logró a partir del 3° ciclo de operación del reactor. En este ensayo, el valor promedio de q_{DQOs} y q_{EOx} obtenido una vez alcanzada la aclimatación de los barros a 100 mg/L de $NPEO_{av9}$ fue de 6.7 ± 1.3 mgDQO/gSST/h y 5.9 ± 0.8 mmolEOx/gSST/h y se mantuvo aproximadamente constante a lo largo de 10 ciclos. El valor promedio de la velocidad específica de consumo de sustrato una vez alcanzada la aclimatación de los barros a 300 mg/L y 500 mg/L de $NPEO_{av9}$ fue de 15.7 ± 2.7 mgDQO/gSST.h y 17.3 ± 1.9 mmolEOx/gSST/h y de 23.3 ± 3.1 mgDQO/gSST/h y 25.1 ± 2.8 mmolEOx/gSST/h, respectivamente. Estos resultados sugieren que la velocidad específica de consumo de sustrato sería proporcional a la concentración inicial de sustrato.

Las altas concentraciones de la fuente de carbón pueden resultar inhibitorias o tóxicas para las bacterias, y niveles bajos pueden limitar la transferencia de masa que conduce a una restricción en la biodegradación (Boopathy, 2000). En este caso, para la concentración ensayada, no hubo inhibición por sustrato ya que la velocidad específica de consumo creció proporcionalmente con la concentración de sustrato. Chen y col (2005) estudiaron la capacidad de 5 cepas para consumir Octilfenol Polietoxilado (Triton X-100) con un promedio de 9.5 unidades etoxiladas en el rango de concentración 0.1 a 100000 mg/L; los resultados mostraron que las cepas pudieron sobrevivir en una amplia gama de concentraciones del tensioactivo y fueron capaces de crecer en ese ambiente sin observarse disminución de la velocidad específica de crecimiento hasta concentraciones de 1000 mg/L.

En la Figura 4.6c se presenta la variación de la velocidad específica de consumo de Nitrógeno amoniacal total (NAT) en el caso de la aclimatación a 100, 300 y 500 mg $NPEO_x$ /L. El valor negativo de los primeros 2 primeros ciclos de aclimatación se debe al aumento de la concentración de NAT observada en la Figura 4.4. A partir del tercer ciclo la velocidad específica de consumo de NAT alcanza un valor aproximadamente constante, igual a 0.29 ± 0.03 , 0.45 ± 0.09 y 0.64 ± 0.11 mgNAT/gSST/h para las concentraciones 100, 300 y 500 ppm respectivamente. A partir del tercer ciclo q_{NAT} alcanza aproximadamente el mismo valor, al igual que sucede con las velocidades específicas de consumo de sustrato (q_{DQOs} y q_{EOx}), por lo que se puede asociar el consumo de NAT al requerido para la degradación aerobia del $NPEO_x$.

4.3. Estudio del proceso de aclimatación a NPEO_x de barros activados previamente aclimatados a fenol por ensayos de batch consecutivos por ensayos de respirometría intermitente

En esta sección se utilizó la técnica de respirometría intermitente para monitorear la actividad metabólica de los lodos activados durante la aclimatación a NPEO_{av9} y calcular el coeficiente de oxidación de sustrato ($Y_{o/s}$), el cual es una medida del requerimiento de oxígeno por los microorganismos por unidad de NPEO_x degradado.

4.3.1. Ensayos Experimentales

El respirómetro consistía en un reactor de 1.5 L, con 600 L de volumen de trabajo, con control de temperatura (30 ± 0.5 °C) en el que se colocó la muestra de lodos activados aclimatados a fenol. La biomasa fue separada por sedimentación, se lavó y se resuspendió en buffer fosfato (KH_2PO_4 2.0 g/L, K_2HPO_4 0.5 g/L, pH = 7).

La biomasa lavada se resuspendió en medio de cultivo fresco para servir como inóculo para el siguiente ensayo. La composición del medio de cultivo utilizado para aclimatar la biomasa a NPEO_x fue la siguiente: NPEO_{av9} 100-300 mg/L, y un medio mineral como se describió en la sección 4.1.1. La agitación fue proporcionada por una barra de agitación magnética; el respirómetro se aireó continuamente por una bomba de aire, ajustándose a una velocidad de flujo estable ($0.5 \text{ L}_{\text{aire}} / \text{min}$). La concentración de oxígeno disuelto (C_{O_2}) se registró en función del tiempo (t) cada 30 segundos utilizando un sensor de oxígeno óptico (YSI ProODO). El aireador se apagaba a intervalos regulares, cada 30 min se apagaba el aireador durante 15 min y la velocidad total de la respiración (R_T) se calculó a partir de la pendiente del descenso de la concentración de OD en función del tiempo cuando se interrumpía la aireación.

4.3.2 Análisis de la actividad respiratoria de barros activados durante la remoción de NPEO_{av9}

Alternando la aireación del barro a intervalos regulares, fue posible seguir el proceso de degradación de NPEO_{av9} durante los distintos ciclos de aclimatación que, como se determinó en la sección anterior, requieren periodos de 50 horas para el primer ciclo de aclimatación y de 10 horas, una vez que el consorcio microbiano se encuentra

aclimatado a degradar NPEO_{av9}. Las mediciones obtenidas dan como resultado curvas como las que se muestran en la Figura 4.7.

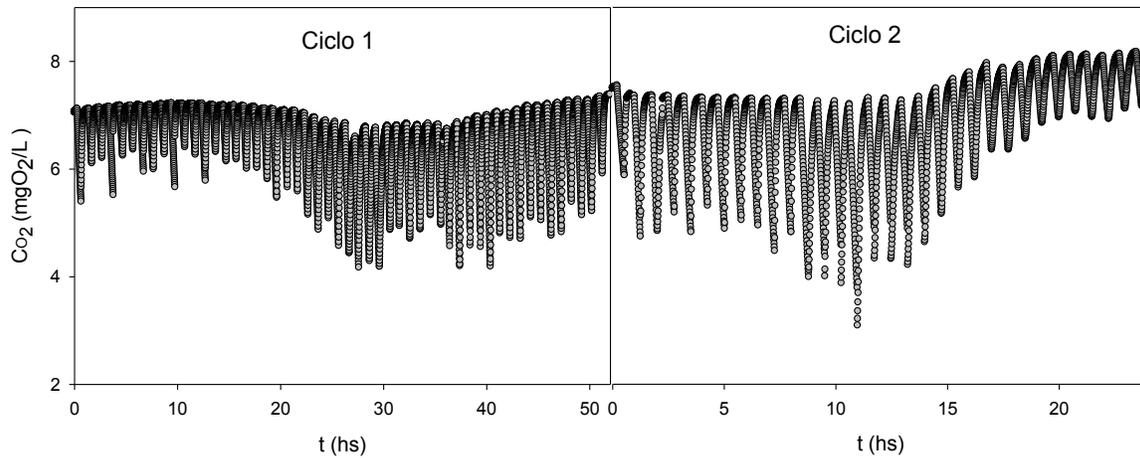


Figura 4.7. Mediciones de oxígeno por la técnica de respirometría intermitente para los 2 primeros ciclos de aclimatación a 300 mg/L de NPEO_{av9}

Como se muestra en la Figura 4.7, durante algunos minutos se registra la disminución de la concentración de oxígeno en reactor. La relación entre la disminución de la concentración de oxígeno y el tiempo es normalmente una línea recta y la velocidad de respiración (R_T) se determina como la pendiente de la dicha recta.

La velocidad de respiración depende de la presencia de sustratos oxidables. En ausencia de sustrato, los microorganismos poseen una velocidad de respiración endógena (R_{en}) correspondiente a la oxidación de su biomasa con el objeto de generar energía para mantenimiento celular. Por otro lado, la velocidad de respiración exógena (R_{ex}) corresponde a la velocidad de respiración asociada al consumo de un sustrato externo (Contreras y col., 2008). Cuando el aireador está apagado la transferencia de oxígeno desde la atmósfera hacia la fase acuosa es despreciable. En estas condiciones, el balance de oxígeno disuelto en el respirómetro resulta:

$$\frac{dC_{O_2}}{dt} = R_T = R_{ex} + R_{en} \quad (4.10)$$

El agregado de un sustrato provoca un aumento en R_{ex} el cual determina un rápido descenso en la concentración de OD, (una mayor pendiente). A medida que el sustrato es oxidado y se agota, el valor de R_{ex} disminuye tendiendo a cero. Debido a que el respirómetro mide R_T , R_{en} se calculó como la pendiente antes de agregado del pulso de

sustrato. En la Figura 4.8 se ejemplifica como se realizó el cálculo de las velocidades de respiración para el tercer ciclo de aclimatación a 300 mg/L de NPEO_{av9}.

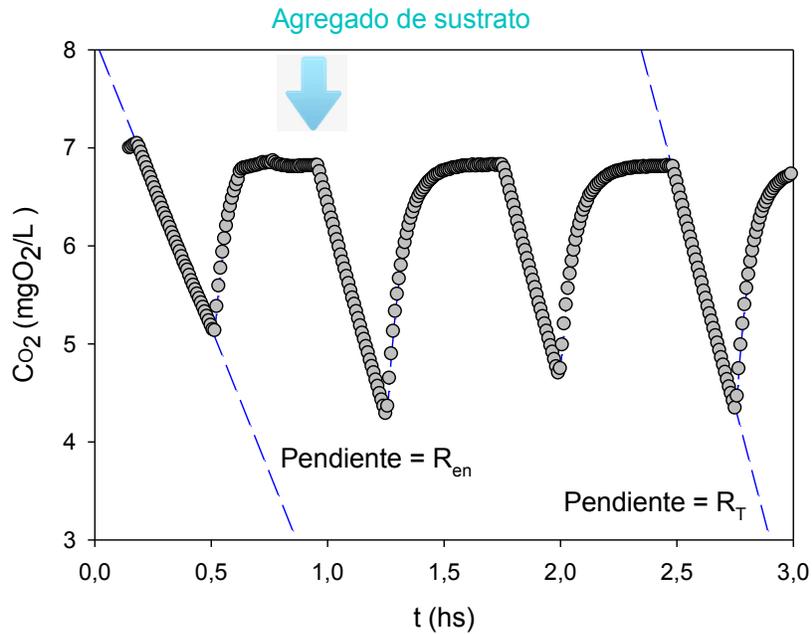


Figura 4.8. Cálculo de R_T y R_{en} durante el tercer ciclo de aclimatación a 300 mg/L de NPEO_{av9}

En la Figura 4.9 se muestra la variación de la velocidad de respiración (R_T) obtenidos para los primeros tres ciclos de aclimatación. Un análisis cualitativo de la Figura 4.9 sugiere que con barros no aclimatados la degradación del tensioactivo podría estar ocurriendo en múltiples etapas sucesivas, por lo que el respirograma muestra más de un pico. Este resultado es coherente con los informados por varios autores (Carvalho, 2004; Mezzanotte y col, 2003; Gejlsbjerg, 2003) y se apoya en el hecho de que las vías metabólicas propuestas para la degradación de los tensioactivos etoxilados incluyen la degradación secuencial, a diferentes velocidades, de diferentes partes de la molécula inicial. Algunos de los productos intermedios pueden eventualmente ser resistentes a la biodegradación por barros no aclimatados.

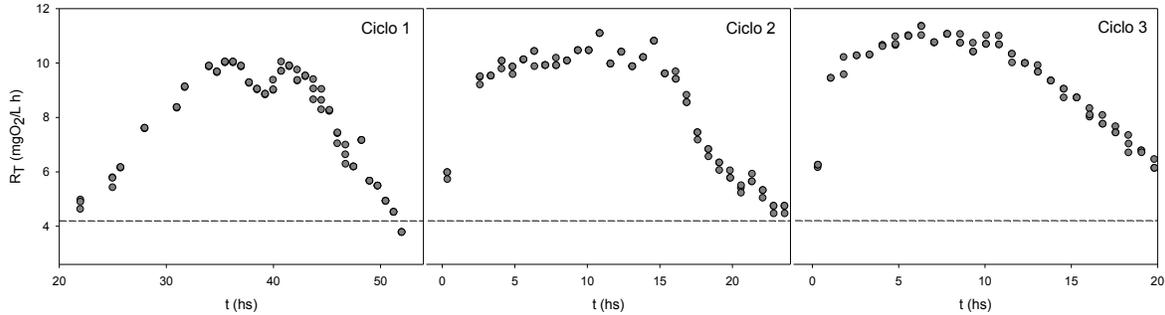


Figura 4 .9. Respirogramas para los tres primeros ciclos de aclimataciones a 300 mg/L de NPEO_{av9}. La línea punteada indica la velocidad de respiración endógena.

A partir del tercer ciclo el consumo de NPEO_{av9} pareciera ocurrir en una sola etapa, o no se distingue entre las etapas sucesivas; el tiempo necesario para remover del NPEO_{av9} se mantiene aproximadamente constante. Se puede ver en la Figura 4.10 los respirogramas obtenidos a partir del tercer ciclo de aclimatación. Estos resultados sugieren que durante el tercer ciclo se alcanza la aclimatación de la comunidad microbiana a las nuevas condiciones que presenta el medio; esto condice con los resultados obtenidos en la sección 4.2.

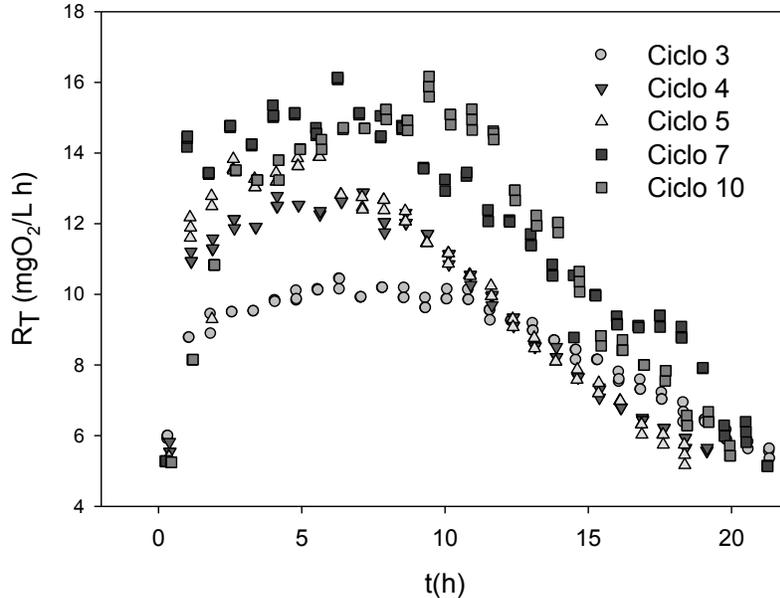


Figura 4 .10: Respirogramas del ciclo 3-10 de aclimatación a 300 mg/L de NPEO_{av9}

Los valores de R_T , R_{en} y R_{ex} son dependientes de la concentración de biomasa (X), y como la misma disminuye en cada ciclo de aclimatación, como se observó en la

Figura 4.4, es necesario calcular la velocidad específica de consumo de oxígeno, que se obtiene dividiendo las velocidades de respiración por la concentración de biomasa, utilizando las ecuaciones 4.11, 4.12 y 4.13.

$$q_T = \frac{R_T}{X} \quad (4.11)$$

$$q_{ex} = \frac{R_{ex}}{X} \quad (4.12)$$

$$q_{en} = \frac{R_{en}}{X} \quad (4.13)$$

siendo X la concentración de biomasa promedio (gSST/L) y R_{ex} se calcula a partir de la ecuación 4.10.

En Figura 4.11 a se muestra como varía en función del número de ciclos de aclimatación la velocidad específica de respiración exógena máxima (q_{ex} , mgO₂/ (gSSTh)) calculada como el promedio de los máximos valores alcanzados y la velocidad específica de respiración endógena (q_{en} , mgO₂/ (gSSTh)).

A medida que avanzaron los ciclos de aclimatación, se incrementó la velocidad específica de respiración exógena, indicando que los barros activados eran cada vez más eficientes en la remoción de NPEO_{av9}. Por otro lado, q_{en} aumentaba durante los primeros ciclos, coherente con un proceso de aclimatación donde la biomasa modifica su metabolismo para poder asimilar el NPEO_{av9} como única fuente de carbóno y energía, para lo cual necesitara un mayor consumo de energía para mantenimiento celular, luego se estabiliza a partir del tercer ciclo cuando la biomasa está aclimatada a consumir NPEO_{av9}.

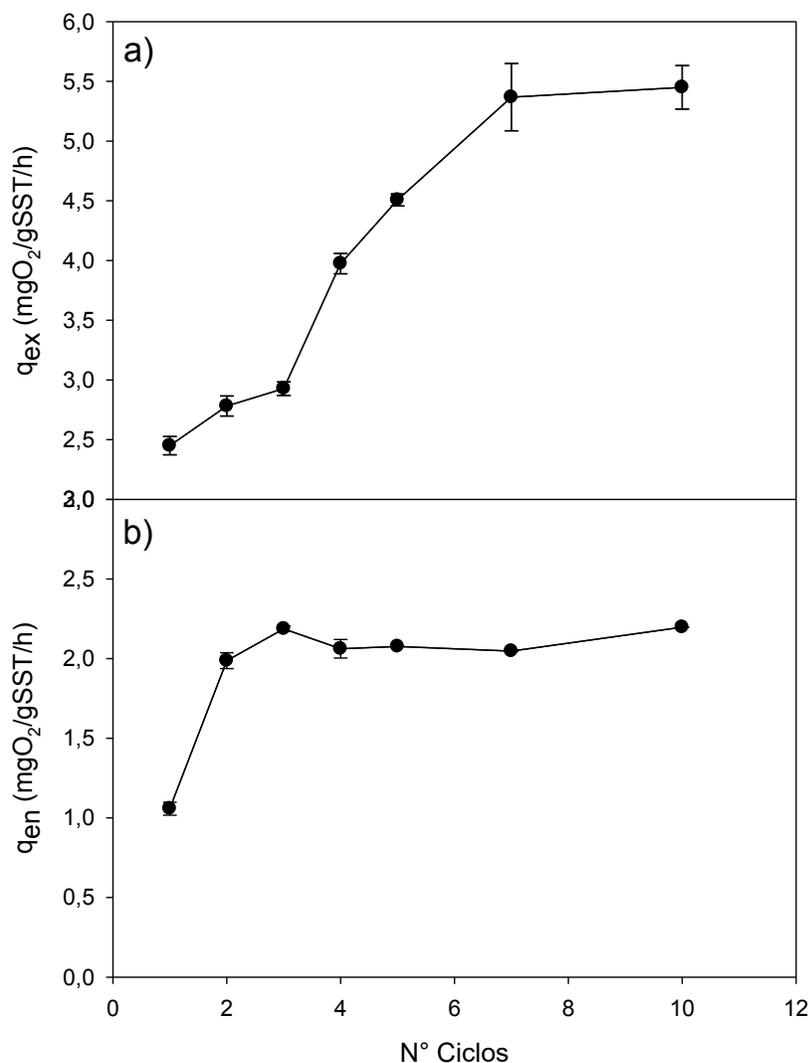


Figura 4.11: Velocidad específica de consumo de oxígeno a) exógena (q_{ex}) y b) endógena (q_{en}) en función de los diferentes ciclos de aclimatación a 300 mg/L a NPEO_{av9}

En la Figura 4.12 se muestra el efecto de diferentes concentraciones de NPEO_{av9} sobre la velocidad de respiración de los barros activados correspondientes al tercer ciclo de aclimatación. Se observa que a medida que aumenta la concentración inicial del tensioactivo, la velocidad del consumo de oxígeno es mayor, sugiriendo que no hay inhibición por sustrato para las concentraciones ensayadas. Esto es consistente con lo mostrado en la Figura 4.6, donde se demostró que las velocidades específicas de consumo de sustrato se incrementaban con el aumento de la concentración inicial de sustrato.

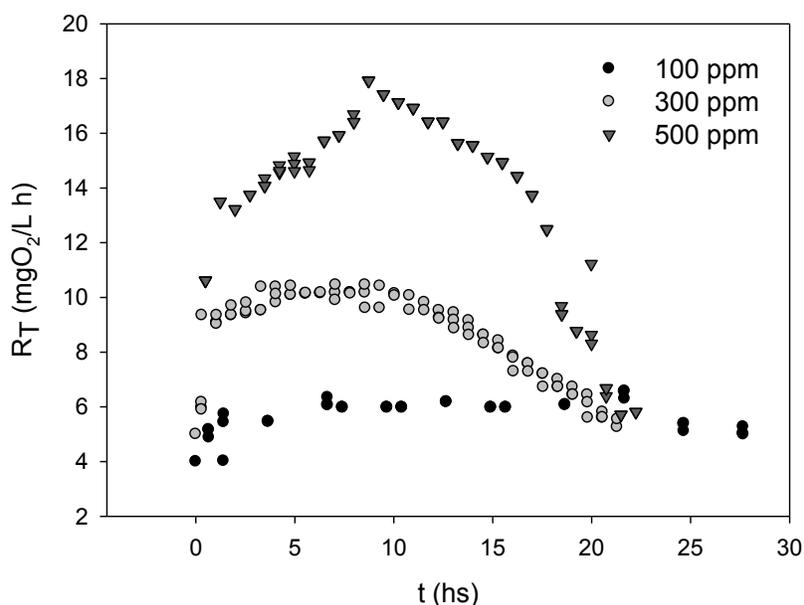


Figura 4.12. Velocidad de respiración durante el tercer ciclo de aclimatación a 100, 300 y 500 mg/L de NPEO_{av9}

A partir de los respirogramas obtenidos de R_T en función del tiempo, se determinó el oxígeno consumido (OC) durante la oxidación del sustrato mediante la siguiente ecuación (Orhon y Artan, 1994):

$$OC = \int_0^t (R_T - R_{en}) dt \quad (4.14)$$

Se define el coeficiente de oxidación del sustrato ($Y_{O/S}$) como la cantidad de oxígeno máxima que consumen los microorganismos (OC) por unidad de sustrato agregado (S_0):

$$Y_{O/S} = \frac{OC}{S_0} \quad (4.15)$$

Debido a que los valores de OC aumentaron progresivamente a medida que la concentración de sustrato se incrementaba, los valores obtenidos de $Y_{O/S}$ para cada concentración inicial ensayada resultaron aproximadamente iguales, obteniéndose un valor medio de $Y_{O/S}$ de 0.37 ± 0.04 mgO₂/mg NPEO_{av9}, el cual corresponde a 7.1 ± 0.8 molO₂/mol NPEO_{av9}. No se hallaron valores reportados en bibliografía de $Y_{O/S}$ para la

remoción de NPEO_x. Carvalho y col (2001, 2002 y 2004) obtuvieron valores similares (0.45 ± 0.2 mgO₂/mg POE 10) para detergentes no iónicos etoxilados lineales con un promedio de 10 unidades etoxiladas.

4.4. Degradación aerobia de NPEO_x por barros activados aclimatados a NPEO_x

Se analizaron parámetros característicos (rendimientos y velocidad de crecimiento) de la biodegradación de NPEO_x por barros activados aclimatados a NPEO_x. Los ensayos fueron llevados a cabo con un inóculo aclimatado previamente con dos ciclos de alimentación al NPEO_x estudiado, como se explicó en las secciones anteriores.

4.4.1 Ensayo experimental

Para el ensayo se utilizó un biorreactor de barros activados discontinuo como se describió en sección 4.1.1. Se realizó un ensayo preliminar de la degradación de NPEO_x con una concentración inicial de 300 mg/L de NPEO_{av9}. Se tomaron muestras a diferentes tiempos y en cada caso se midió EO_x (por el método Y-Y), DQO_s, DQO_T, concentración de biomasa (X) como sólidos suspendidos totales (SST), nitrógeno amoniacal total (NAT), nitratos, pH y concentración de NPEO_x (total, soluble y adherida a la biomasa) por HPLC (C_{NPEOx}) en función del tiempo, tal como se explicó en el Capítulo 2. En un segundo ensayo, se estudió la evolución de X y C_{NPEOx} para diferentes concentraciones iniciales de NPEO_{av9}.

4.4.2. Ensayo preliminar de biooxidación de 300 mg/L de NPEO_{av9} por barros activados aclimatados a NPEO_x

En la Figura 13 se muestra las variaciones de X, EO_x y las diferentes fracciones de DQO en el tiempo al añadir 300 mg/L NPEO_{av9}, como única fuente de carbón, a un inóculo proveniente del segundo ciclo de aclimatación (Sección 4.2). La Figura 4.13a muestra la variación de las diferentes fracciones de DQO; se observa un patrón de batch típico, con una fracción total y soluble (DQO_T, DQO_S) que disminuyen en el tiempo. Diversos autores (Contreras, 2006; Andreottola y Foladori, 2007; Bougrier y col., 2008; Oliveira y col., 2011) emplean la diferencia entre DQO_T y DQO_S como una medida de la concentración de biomasa. En la Figura 4.13 se observa que la DQO asociada a la biomasa se incrementa paulatinamente hasta que se agota el sustrato soluble.

Como se puede observar en la Figura 4.13b, el consorcio microbiano fue capaz de utilizar la mezcla de NPEO_{av9} como única fuente de carbón en un periodo de 8 hs ya que los sólidos totales se incrementaron de 1150 a 1350 mg/L a las 6 hs de ensayo. A partir de este tiempo, tanto los sólidos como la DQO asociada a la biomasa se estabilizaron en valores constantes, período que concuerda aproximadamente con el agotamiento de la concentración de grupos etoxilos (EO_x), así como la constancia del valor final de DQO_s.

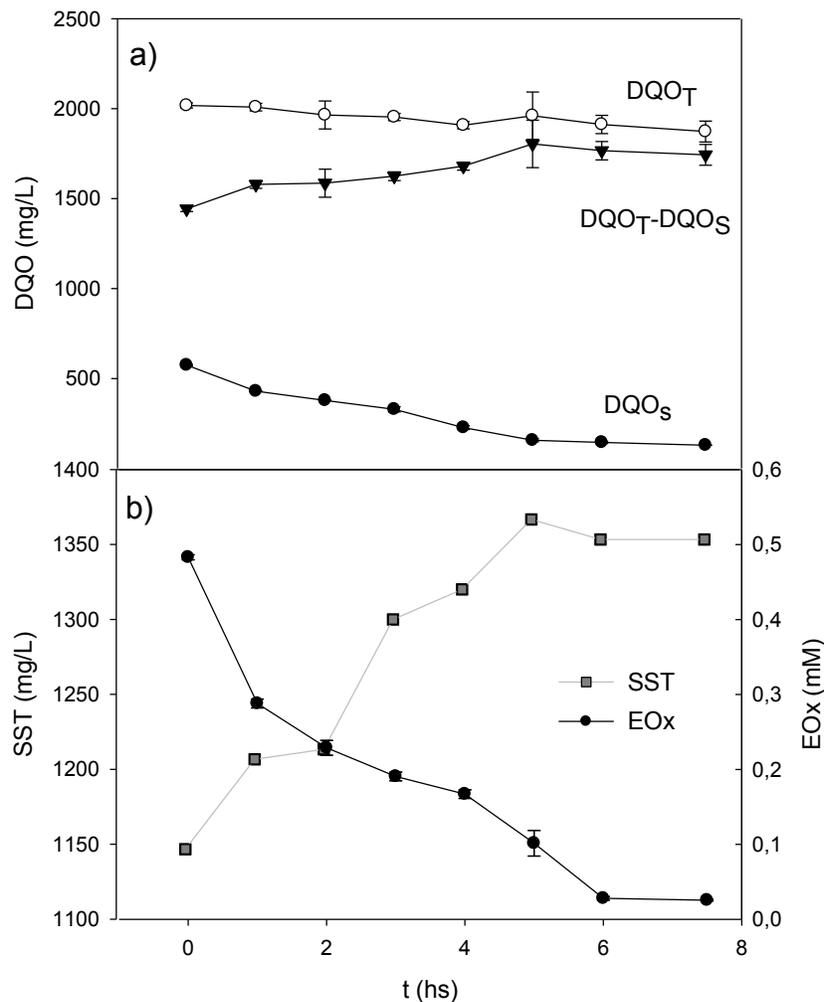


Figura 4.13: Variación de a) las diferentes fracciones de DQO, fracción total y soluble (DQO_T, DQO_S) y b) SST y EOx en el tiempo durante la remoción de 300 mg/L (0.48 mM) de NPEO_{av9}

La Figura 4.14 muestra que el consumo de NAT se detiene a las 6 hs, justo cuando se detiene el incremento de X, lo cual sugiere un consumo de NAT acoplado al

crecimiento. Para descartar el posible consumo de NAT por bacterias nitrificantes se midió la concentración de nitratos en el medio. Las bacterias nitrificantes emplean amonio como fuente de energía y lo oxidan aerobicamente a nitrito y luego a nitrato (Focht y Chang, 1975). Debido a que no se observó un aumento de la concentración de nitritos en el cultivo, se descartó el consumo de NAT por parte de estos microorganismos. Adicionalmente, se analizó la variación del pH durante el cultivo, el cual disminuyó levemente de 7 a 6.8 después de 8 hs de incubación. Algunos autores han informado la producción de metabolitos ácidos durante la remoción de NPEO_x , como el ácido nonilfenoxi acético (Corvin y col, 2006; Ömeroğlu y Sanin, 2014). Sin embargo, en esos casos la disminución informada era mucho mayor a la observada en los experimentos de la presente Tesis. Los resultados sugieren que la leve disminución del pH observada en el experimento podría deberse únicamente a la utilización del amonio como fuente de nitrógeno (Papagianni, 2005).

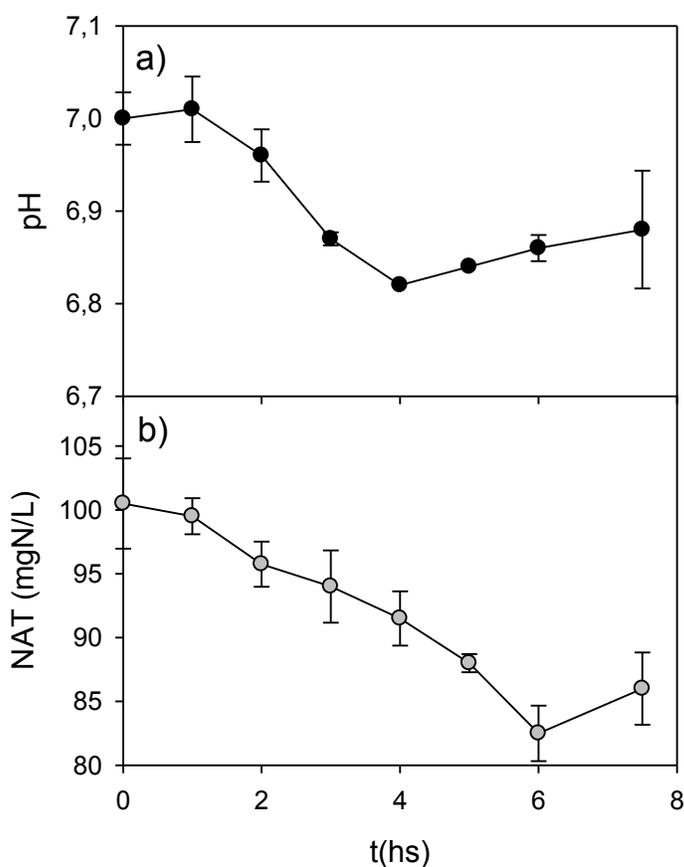


Figura 4.14. Variación de a) pH y b) nitrógeno amoniacal total (NAT) en el tiempo durante la remoción de 300 mg/L de NPEO_{av9}

Durante el experimento en batch de remoción de 300 mg/L de NPEO_{av9} hubo un consumo máximo de NAT de aproximadamente 15 mg/L. Para determinar si dicho consumo esta asociado al incremento de 200 mg/L de biomasa observado en el experimento, se considerará la formula de la biomasa estandar (C₅H₇O₂N, Orhon y Artan, 1994) para determinar la relación de la produccion de biomasa y el consumo de nitrogeno según la ecuacion 4.16

$$\Delta N = 0.2 \cdot \Delta X \quad (4.16)$$

donde N es la concentracion de nitrogeno en moles y X es la concentracion de biomasa en Cmol.

El consumo de nitrogeno medido experimentalmente es 15 mg/L que corresponde aproximadamente a un consumo de 1 mmol/L de N. Según a ecuacion 4.16, el consumo de N equivaldria a una produccion de 5 mmolC/L de Biomasa. En los casos en que se desconozca la composición de la biomasa se puede asumir que 1 Cmol de biomasa equivale aproximadamente a 25.8 gramos de SST (Mignone y Donati, 2004), por lo que la producción de biomasa seria 129 mg/L de SST. Este valor es aproximadamente la mitad del valor observado (200 mg/L de SST), sugiriendo que hay una fracción de los sólidos que no estaría asociada al crecimiento microbiano. Esta fracción no microbiana podria estar compuesta por productos de degradación de NPEO_x adheridos a la biomasa (por ejemplo, NPEO_x de cadena corta) o por compuestos reserva de carbóno y energía como polihidroxicanoatos (Ekdal, 2014; Reddy y col, 2015).

En la Figura 4.15 se muestra la evolución la concentración total, soluble y adherida a la biomasa de NPEO_x. Se puede observar que en fase soluble la degradación NPEO_x fue rápida durante el período inicial. El porcentaje de degradación fue de 49% a 3 hs. Luego la degradación procedió mas lentamente hasta alcanzar un 77% a las 7,5 hs. La concentración de NPEO_x adherida a la biomasa aumentó en el transcurso del ensayo, lo que podría originar el aumento de SST no asociado al incremento a de la biomasa que se observó anteriormente. Debe tenerse en cuenta que el inóculo utilizado provenía de dos batch consecutivos previos. Por esta razón, ya venía con algo de NPEO_x adsorbidos a la biomasa. Además, no se observa fase de latencia por lo que la biomasa aumenta progresivamente consumiendo la fuente de carbóno durante la fase de crecimiento hasta alcanzar una fase estacionaria, donde el NPEO_x se ha agotado.

Es importante recordar que el método de medición de NPEO_x por HPLC detecta los anillos aromáticos de la molécula (Capítulo 3). Como en la Figura 4.15 se observa que la concentración total de NPEO_x fue constante en función del tiempo, este resultado indica claramente que los barros activados no pudieron clivar el anillo aromático del NPEO_x en las condiciones ensayadas. Este resultado sugiere que los microorganismos no pudieron haber empleado esta parte de la molécula de NPEO_x como fuente de carbón. Los resultados presentados en esta sección sugieren que la remoción biológica de NPEO_x comenzaría con el acortamiento secuencial de la cadena de etoxilos, los cuales serían la verdadera fuente de carbón para el crecimiento bacteriano, seguido de la adsorción de los NPEO_x de cadena corta a la biomasa.

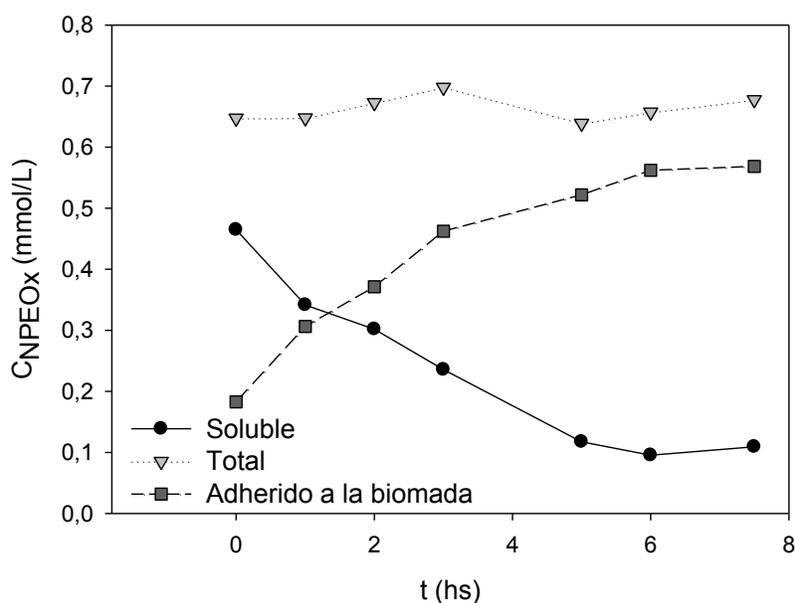


Figura 4.15. Concentración de NPEO_{av9} determinado por HPLC soluble (●), adherida a la biomasa (■) y total (▼)

Con el objeto de calcular la velocidad específica de crecimiento de la biomasa (μ) se planteó el balance de biomasa en el reactor:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (4.17)$$

Asumiendo que μ es constante dentro de un intervalo de tiempo determinado, integrando la ecuación 4.17 se obtiene la siguiente expresión:

$$\ln X = X_0 + \mu t \quad (4.18)$$

donde μ es la velocidad específica de crecimiento, X la concentración de biomasa en cada momento y X_0 la biomasa al inicio del ensayo. En la Figura 4.16 se representa el $\ln(X)$ en función del tiempo para una concentración inicial de NPEO_{av9} de 300 mg/L.

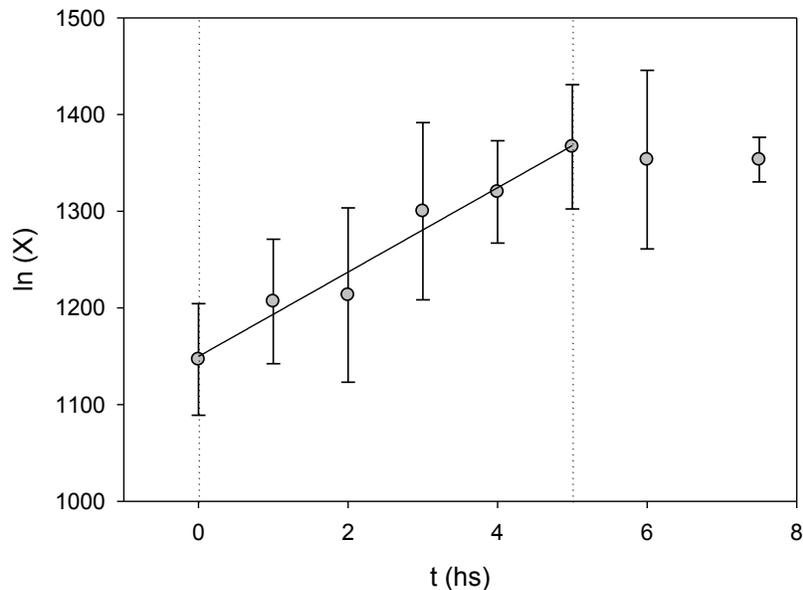


Figura 4.16. $\ln(X)$ en función del tiempo para una concentración inicial NPEO_{av9} de 300 mg/L. Las líneas punteadas indican la zona considerada para el cálculo de μ .

El valor de μ fue calculado a partir de la zona de crecimiento exponencial del cultivo y se obtuvo un valor de 0.034 h^{-1} . Chen y col (2005) estudiaron la capacidad de 5 cepas para consumir Octilfenol Polietoxilado con un promedio de 9.5 unidades etoxiladas y obtuvieron velocidades específicas de crecimiento de 0.014 a 0.093 h^{-1} para una concentración inicial de 100 mg/L de NPEO_{av9} . Por otro lado, Jurado y col (2009) estudiaron la biodegradación de NPEO_{av9} con un consorcio microbiano y obtuvieron una velocidad específica de 0.144 h^{-1} para una concentración inicial de sustrato de 50 mg/L. La concentración inicial de sustrato utilizada por Jurado y col (2009) fue 6 veces menor que la utilizada en la presente sección, mientras que la velocidad resultó 4.3 veces mayor, por lo que existe una aparente proporcionalidad entre la concentración inicial del sustrato y la velocidad específica de crecimiento, lo que coincide con los resultados mostrados en las Figuras 4.6 y 4.12.

4.4.3. Efecto de la concentración inicial de NPEO_{av9} en la cinética de crecimiento de biomasa y en la biodegradación del sustrato. Modelado matemático.

El conocimiento de la cinética de biodegradación de un determinado contaminante orgánico resulta esencial a la hora de evaluar su persistencia en el medio y valorar los posibles riesgos que pueden suponer (Alexander, 1994). Con el objetivo de formular expresiones que describan la velocidad de biodegradación del contaminante estudiado, se estudió la biodegradación de diferentes concentraciones iniciales de NPEO_{av9} utilizando un inóculo aclimatado. En la Figura 4.17 se muestran los resultados de la variación de la concentración de NPEO_{av9} y biomasa (X) en función del tiempo correspondiente para concentraciones iniciales entre 100 - 600 mg NPEO_{av9} /L.

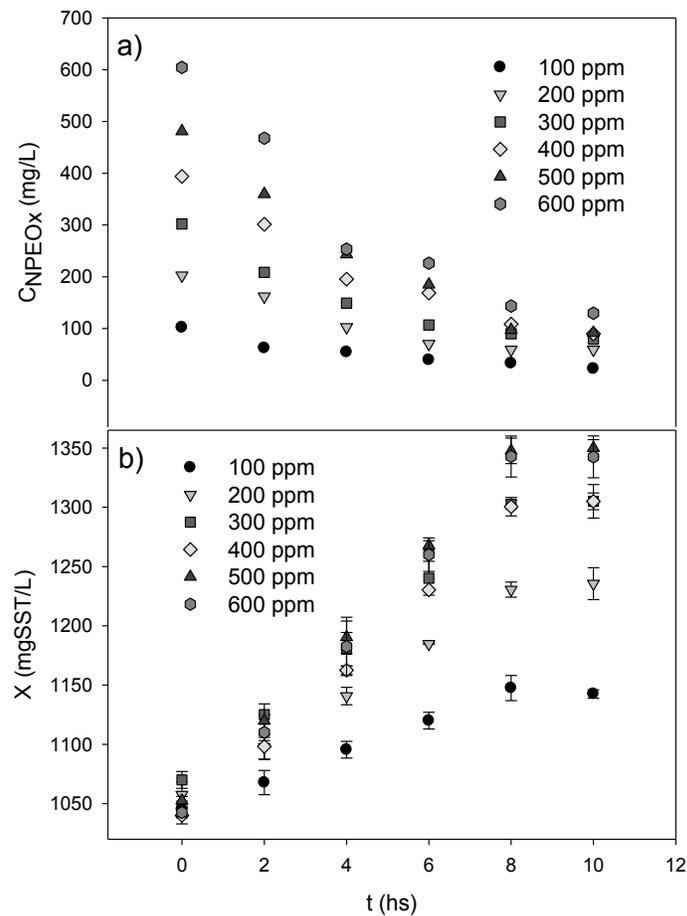


Figura 4.17. Variación de la concentración de a) NPEO_{av9} (C_{NPEOav9}) y b) biomasa (X) en función del tiempo correspondiente a las siguientes concentraciones iniciales de tensiactivo entre 100 - 600 mg NPEO_{av9} /L (en mg/L)

A partir de los datos mostrados en la Figura 4.17 b, se calculó la velocidad de crecimiento específica (μ) para distintas concentraciones iniciales de NPEO_{av9} ($C_{\text{NPEOav9o}} = 100 - 600 \text{ mg/L}$) tal como se explicó en la sección anterior.

La variación de μ en función de C_{NPEOav9o} que se muestra en la Figura 4.18 puede ser representada adecuadamente por la ecuación de Monod que, proporciona una buena aproximación para modelizar el crecimiento de cultivos mixtos y consumo de sustrato limitante del crecimiento (Simkins y Alexander, 1984).

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} \quad (4.19)$$

donde μ_{\max} es la velocidad específica máxima de crecimiento, S es la concentración del sustrato limitante del crecimiento celular (en este caso, NPEO_{av9}), y K_S es una constante de semisaturación. Esta constante es una medida de la afinidad que tiene el microorganismo por el sustrato en cuestión, a menor K_S mayor afinidad. Mediante regresión no lineal se ajustó la ecuación 4.19 a los datos mostrados en la Figura 4.18, obteniéndose los siguientes coeficientes: $\mu_{\max} = 0.050 \pm 0.003 \text{ h}^{-1}$, $K_S = 323 \pm 45 \text{ mg/L}$. Como puede observarse en la Figura 4.18, la ecuación de Monod representó adecuadamente la variación de la velocidad de crecimiento específica (μ) en función de C_{NPEOav9o} . Jahan y col (2008) modelaron la eliminación de Nonilfenol, informando valores de μ_{\max} y K_S de $0.075 \pm 0.005 \text{ h}^{-1}$ y $348.9 \pm 0.9 \text{ mg/L}$, respectivamente.

A partir de los perfiles de C_{NPEOav9} en función del tiempo mostrados en la Fig. 4.17 a, se calculó la velocidad inicial de consumo de NPEO_{av9} (R_{S0} , mg/L/h). Con estos valores, y considerando las concentraciones iniciales de biomasa en cada caso (X_0), se obtuvo la velocidad específica inicial de consumo de NPEO_{av9} (q_{S0}) como el cociente entre R_{S0} y X_0 . La Figura 4.19 muestra que q_{S0} se incrementa proporcionalmente con la concentración inicial de NPEO_{av9} (C_{NPEOav9o}).

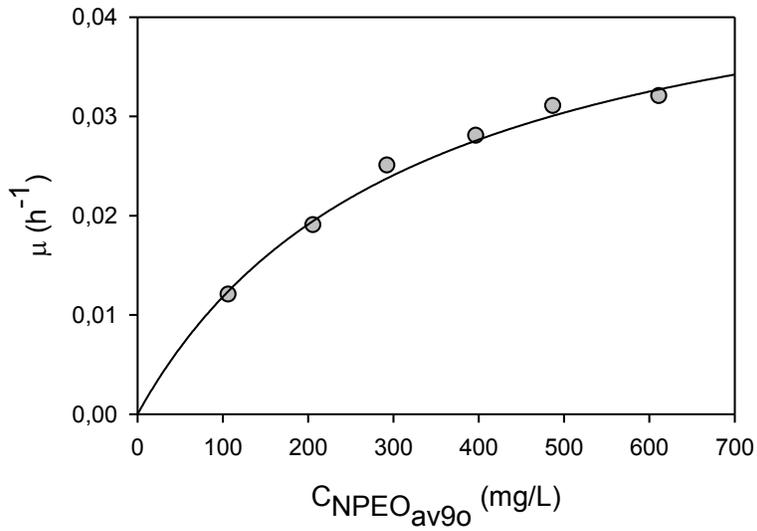


Figura 4.18. Velocidad de crecimiento específica (μ) de los barros activados para diferentes concentraciones iniciales de NPEO_{av9} (NPEO_{av90}). La línea continua representa la ec.4.22. empleando los siguientes coeficientes: $\mu_{max} = 0.05 h^{-1}$, $K_S = 323 mg/L$.

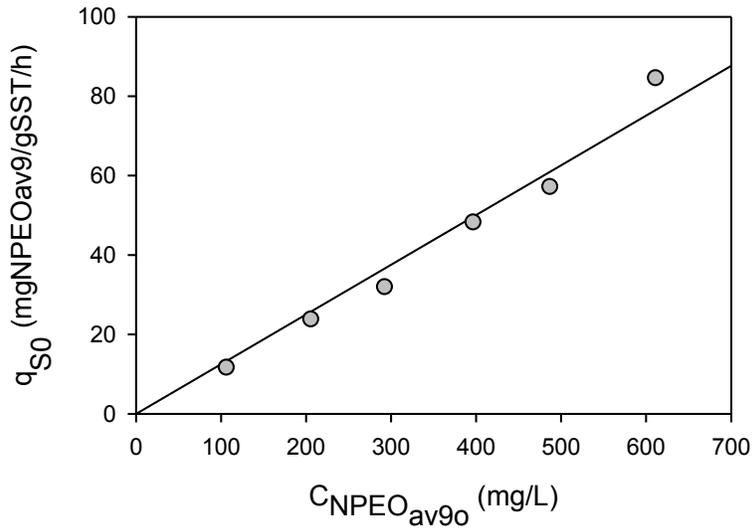


Figura 4.19. Efecto de la concentración inicial de NPEO_{av9} ($C_{NPEO_{av90}}$) sobre la velocidad específica de consumo de sustrato (q_{S0}). La pendiente de la recta corresponde a un valor de $k_1 = 0.125 L/gSST/h$

Desde el punto de vista de la ecuación de Monod, esto implica que el valor de la constante de semisaturación para q_{S0} debe ser mucho mayor que el límite superior estudiado de $C_{NPEO_{av90}} = 600 mg/L$ y en este caso, la ecuación de Monod se reduce a una

cinética de primer orden. Por lo tanto, la Figura 4.19 sugiere que la velocidad de consumo de sustrato podría representarse adecuadamente con una cinética de primer orden respecto de la concentración de sustrato. Considerando además la dependencia tipo ecuación de Monod entre μ y $C_{\text{NPEO}_{\text{av90}}}$ que se muestra en la Figura 4.18, se propusieron las siguientes ecuaciones para representar las velocidades de crecimiento de biomasa (R_X) y consumo de NPEO_{av9} (R_S) en función de las concentraciones de sustrato (S) y biomasa (X):

$$R_X = \mu_{\max} \left(\frac{S}{K_S + S} \right) X \quad (4.20)$$

$$R_S = K_1 X S \quad (4.21)$$

Teniendo en cuenta que en un experimento tipo batch no hay términos de entrada o salida de sustrato o biomasa al reactor, los balances de materia para X y S son:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{\max} \left(\frac{S}{K_S + S} \right) X \quad (4.22)$$

$$\frac{dS}{dt} = -K_1 X S \quad (4.23)$$

Se empleó el software GEPASI para ajustar las ecs. 4.22 y 4.23 a los datos mostrados en la Figura 4.17. Como punto de partida del algoritmo de ajuste, el software necesita que se le suministre un conjunto de valores estimados de los coeficientes a ajustar (μ_{\max} , K_S y K_1). Para ello, se empleó el valor de los coeficientes obtenidos a partir de los datos presentados en las Figuras 4.18 y 4.19. Los resultados del procedimiento de ajuste se muestran en la Tabla 4.4.

Como puede verse en la Figura 4.20 el modelo propuesto representa adecuadamente la variación de la concentración de biomasa (X) y NPEO_x (S) en función del tiempo.

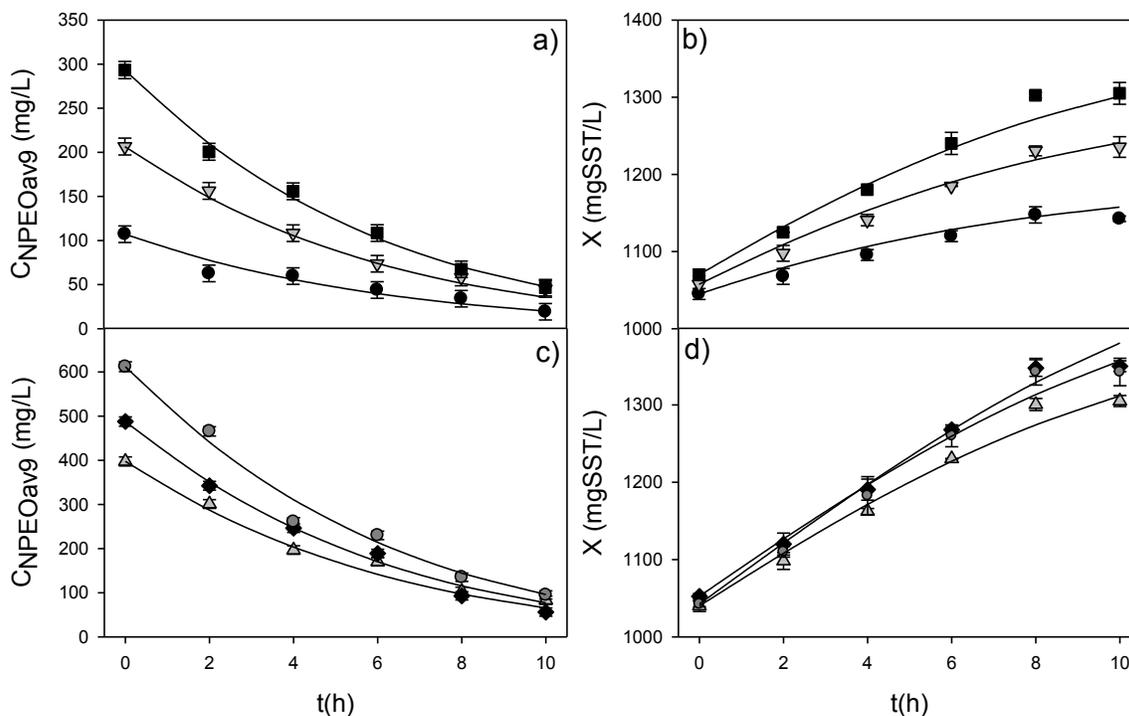


Figura 4.20. Variación de la concentración de a) NPEO_{av9} ($C_{NPEOav9}$) y b) biomasa (X) (b,d) en función del tiempo correspondiente a las siguientes concentraciones iniciales de tensiactivo (en mg/L): 100 (●), 200 (▼), 300 (■), 400 (▲), 500 (◆) y 600 (◐). Las barras indican el desvío estándar. Las líneas continuas representan el modelo propuesto (ecs x, y) empleando los coeficientes de la Tabla 4.4

Tabla 4.4. Coeficientes cinéticos del modelo propuesto (ecs. 4.23 y 4.24)

Coeficiente	Valor inicial	Valor ajustado
μ_{max} (h^{-1})	0.05	0.050 ± 0.003
K_S (mgS/L)	323	196 ± 21
K_1 ($L \text{ gSST}^{-1} h^{-1}$)	0.125	0.151 ± 0.002

Los coeficientes de correlación (r^2) entre los valores de S y X calculados por el modelo (S_C , X_C) empleando los coeficientes ajustados (Tabla 4.4) en función de los valores experimentales (S, X) fueron 0.9903 y 0.9827, respectivamente (Figura 4.21).

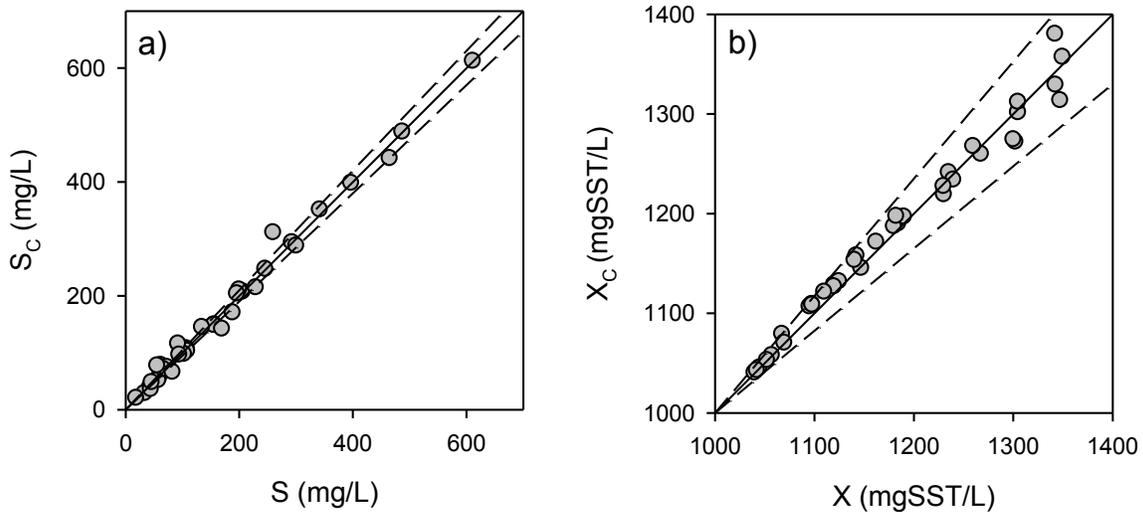


Figura 4.21. Valores de a) S y b) X calculados por el modelo (S_C , X_C) empleando los coeficientes ajustados (Tabla 4.4) en función de los valores experimentales (S, X). Las líneas continuas indican la correlación perfecta y las líneas discontinuas la banda de $\pm 5\%$ del valor experimental.

El rendimiento en biomasa ($Y_{X/S}$) representa la biomasa producida por unidad de sustrato consumido. Este coeficiente se puede calcular de diversas maneras. Por ejemplo, considerando que cuando el sustrato se agota se detiene el crecimiento de la biomasa, se puede obtener una estimación del rendimiento en biomasa como el cociente entre la biomasa producida y el sustrato agregado:

$$Y_{X/S} = \frac{X_f - X_0}{S_0} \quad (4.24)$$

Por otra parte, se puede calcular un rendimiento en biomasa como el cociente entre las velocidades (o de velocidades específicas) de crecimiento (R_X , μ) y de consumo de sustrato (R_S , q_S) (Pirt, 1975):

$$Y_{X/S} = \frac{R_X}{R_S} = \frac{\mu}{q_S} \quad (4.25)$$

En la Figura 4.22 se muestran los valores de $Y_{X/S}$ calculados mediante las ecuaciones 4.24 y 4.25 empleando los datos mostrados en las Figura 4.17 a 4.19. Como puede observarse en la Figura 4.22, $Y_{X/S}$ decrece con el aumento de S_0 .

De acuerdo al modelo propuesto, el rendimiento en biomasa calculado como el cociente entre las velocidades de crecimiento (R_X) y de consumo de sustrato (R_S) resulta:

$$Y_{X/S} = \frac{R_X}{R_S} = \frac{\mu_{max}}{k_1(K_S + S)} \quad (4.26)$$

Así, el modelo predice una disminución de $Y_{X/S}$ en función de S_0 , en concordancia con el comportamiento de observado (Figura 4.22).

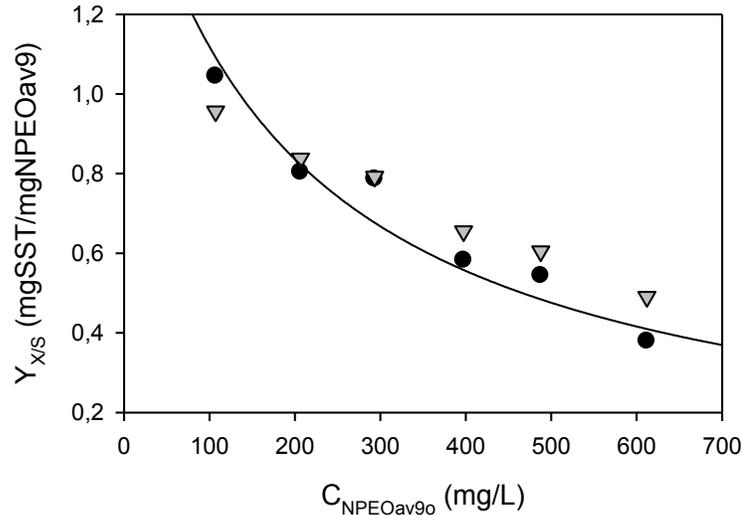


Figura 4.22. Efecto de la concentración inicial de $NPEO_{av9}$ ($C_{NPEO_{av90}}$) sobre el rendimiento en biomasa ($Y_{X/S}$) calculado a partir de los datos experimentales mediante las ecs. 4.24 (●) y 4.25 (▼). La línea continua representa los resultados del modelo propuesto (ec. 4.26) empleando los coeficientes de la Tabla 4.4

Los resultados descritos en la presente sección demuestran que el rendimiento en biomasa de los barros activados aclimatados a $NPEO_x$ disminuye (en forma hipérbolica) con el aumento de la concentración inicial de $NPEO_x$ (Figura 4.22). Este comportamiento se observa en los casos en que un cierto sustrato puede presentar además un efecto tóxico para la biomasa que lo está metabolizando. La toxicidad podría deberse la presencia de altas concentraciones del sustrato, o bien al a formación de algún

metabolito tóxico durante la utilización del sustrato (Rittmann y Saez, 1993; Liu, 1998; Gostomski y De Vela, 2018). Debe tenerse en cuenta además que los NPEO_x estudiados son tensioactivos no iónicos que en altas concentraciones pueden desestabilizar la membranas de las bacterias, alterando el normal funcionamiento de las mismas. Debido a esto, los microorganismos tendrían que destinar una mayor fracción de la energía que producen, en funciones de mantenimiento celular. Por otra parte, la despolimerización de NPEO_x por parte de los microorganismos genera NPEO_x de cadena corta, los cuales son mas hidrofóbicos y tienen un mayor efecto desestabilizante de las membranas bacterianas. En ambos casos, esto determinaría una disminución de la producción de biomasa, y por lo tanto, del rendimiento celular (Gostomski y De Vela, 2018).

4.5. Cuantificación de los oligómeros NPEO_i durante la degradación de una mezcla comercial de NPEO_x

Los NPEO_x estudiados en la presente Tesis son una mezcla de oligómeros NPEO_i con un determinado tiene un número promedio (\bar{x}) de unidades etoxiladas. En esta sección se estudió la función de distribución de los oligómeros NPEO_i durante la biodegradación de la mezcla comercial por barros activados en reactores batch.

4.5.1. Ensayo experimental

Se realizaron experimentos típicos de degradación de 300 mg/L de NPEO_{avg} empleando barros activados aclimatados al mismo. Los oligómeros individuales de NPEO_x con un determinado grado de polimerización fueron cuantificados mediante HPLC tal como se describió en el Capítulo 3. Se evaluaron los NPEO_x en solución, los totales y por diferencia se calcularon los NPEO_x adsorbidos a la biomasa. Para la medida de los NPEO_x en fase acuosa, las muestras se centrifugaron durante 5 min a 13000 rpm (Eppendorf 5415C); luego, y se realizó una dilución con acetonitrilo (1:1 v/v) del sobrenadante para mantener en solución todos los oligómeros.

Con el objeto de cuantificar los NPEO_x totales (en solución y adsorbidos en la biomasa), se realizaron extracciones de la biomasa utilizando la siguiente metodología: a 1 mL previo al centrifugado se le agregó 1 mL de acetonitrilo puro para obtener una solución 1:1 v/v AcN/muestra, se agitaron las muestras en un mezclador tipo vortex, se centrifugaron a 13000 rpm durante 10 minutos en una centrífuga Eppendorf 5415C, se

agitaron por segunda vez y se volvió a centrifugar; por último se filtraron empleando una membrana Millipore de 0.45 micrones. (Lang y col., 2009)

4.5.1. Medida de los oligómeros NPEO_i durante la remoción de NPEO_x en reactores batch de barras activados

La Figura 4.21 muestra los cromatogramas y las distribuciones de NPEO_i (obtenidas a partir de los cromatogramas como se explicó en el Capítulo 3) correspondientes a muestras tomadas al inicio del experimento de biodegradación de NPEO_{av9} con barras activados aclimatados al xenobiótico. Si se comparan las distribuciones correspondientes a los NPEO_i en fase acuosa, los NPEO_i totales (en solución y adsorbidos a la biomasa) con la distribución de un patrón de NPEO_{av9}, puede observarse que las muestras iniciales contenían una mayor cantidad del oligómeros de cadena corta. Por ejemplo, los oligómeros con $i \leq 5$ en el patrón suman un 15% mientras que en las fases acuosa y total dichos oligómeros corresponden a un 28 y 43%, respectivamente.

El aumento de la proporción de oligómeros de cadena corta en las muestras al inicio del experimento se debió a que el inóculo provenía de un cultivo previamente aclimatado a NPEO_x. Si durante la aclimatación a NPEO_x los oligómeros de cadena corta se adsorben a la biomasa, al ser empleada ésta como inóculo para el siguiente ensayo, los NPEO_x adsorbidos son agregados al sistema junto con el inóculo. Entonces, cuando se adiciona el pulso del NPEO_{av9} a degradar, la distribución de oligómeros resultante es una combinación de la distribución del NPEO_{av9} con el aporte de los oligómeros provenientes del inóculo.

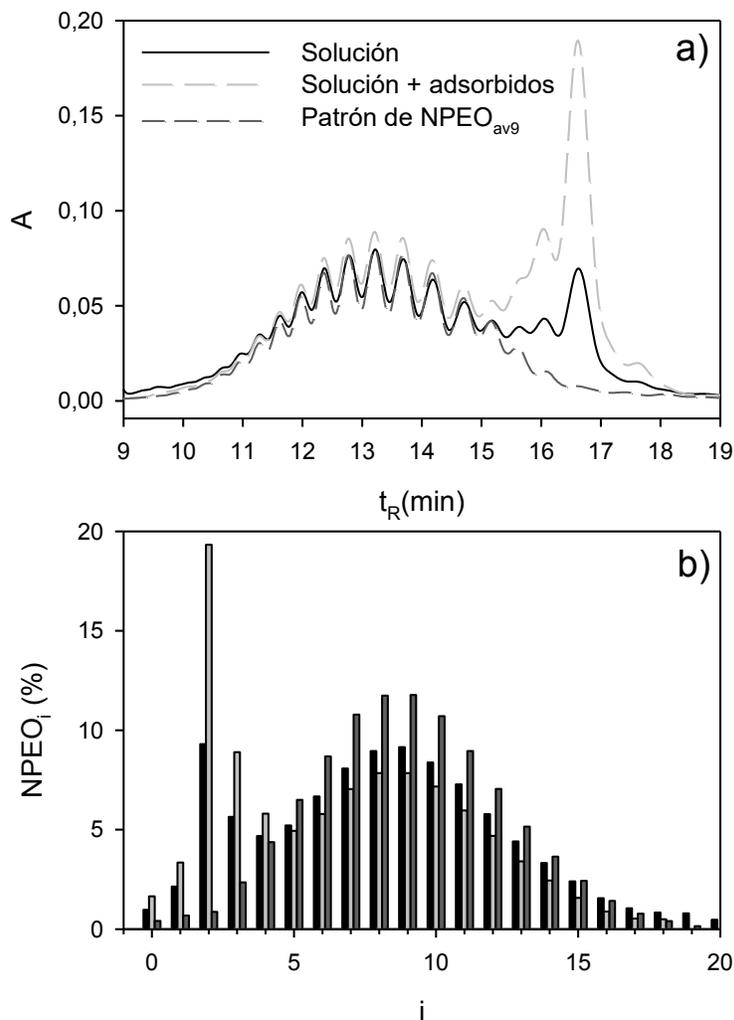


Figura 4.23. a) Ejemplos de cromatogramas y b) distribución relativa de oligómeros NPEO_i en fase acuosa (■) y totales (▒) al inicio del experimento. Como comparación se muestra un patrón de NPEO_{av9} (▓).

En la Sección 4.4.2 se discutió que durante la biodegradación de NPEO_x mediante barros activados, la concentración de NPEO_x totales en fase acuosa disminuye en forma exponencial en función del tiempo (Figura 4.15). Sin embargo, esa disminución de debió a una acumulación de los mismos sobre la biomasa. Por esta razón la concentración total de NPEO_x se mantuvo aproximadamente constante. Debe tenerse en cuenta que el método de medida de NPEO_x mediante HPLC detecta el anillo aromático de la molécula. Por lo tanto, la constancia de la concentración de NPEO_x totales indicó que en las condiciones ensayadas los microorganismos no pueden clivar el anillo aromático.

Las Figuras 4.24 a 4.26 muestran la evolución de los oligómeros NPEO_i totales (fase acuosa más adsorbidos), en fase acuosa y adsorbidos en función del tiempo, respectivamente. En términos generales se observa que durante la degradación del NPEO_{av9} ocurre un acortamiento de la cadena de etoxilos hasta obtener principalmente NPEO₂ (Figura 4.24). En la fase acuosa (Figura 4.25) no se detectaron oligómeros de cadena mayor a 5 unidades etoxiladas al final del experimento (t = 7.5 hs). Hubo un aumento transitorio de las concentraciones de NPEO₂ a NPEO₄, con un máximo aproximadamente a las 3 - 4 hs del experimento. Las concentraciones de NPEO₀ y NPEO₁ permanecieron aproximadamente constantes. Es decir, la concentración en la fase acuosa de los oligómeros de cadena larga (i > 5) disminuyó en el curso del experimento. En contraposición, la concentración de oligómeros de cadena corta mostró una tendencia creciente en el período inicial y, a continuación una reducción hasta valores similares a los iniciales. Debe notarse que aunque en la fase líquida no hay una remoción significativa de oligómeros con i < 5, la eficiencia de remoción de los oligómeros con i ≥ 5 fue prácticamente del 100%. La Figura 4.26 muestra que al final del experimento los NPEO_i de cadena corta generados por despolimerización se acumulan sobre la biomasa, principalmente como NPEO₂ (57%), NPEO₃ (22%) y NPEO₄ (11%). Por otra parte, los oligómeros con i ≤ 1 en conjunto representan aproximadamente un 10% mientras que la suma de todos los oligómeros de cadena larga (i > 5) no supera el 10%.

La acumulación de oligómeros de cadena corta sobre la biomasa puede deberse a la hidrofobicidad de los diferentes oligómeros. Cuando el número de grupos EO aumenta, la hidrofobicidad de los oligómeros disminuye (Salager y col, 2000) y tendrán mayor probabilidad de encontrarse en la fase acuosa. Como los microorganismos despolimerizan los NPEO_x, esto favorece la adsorción de los NPEO_x de cadena corta sobre la biomasa. Este efecto podría explicar en parte el incremento de SST no asociado al crecimiento que se discutió en la sección 4.4.

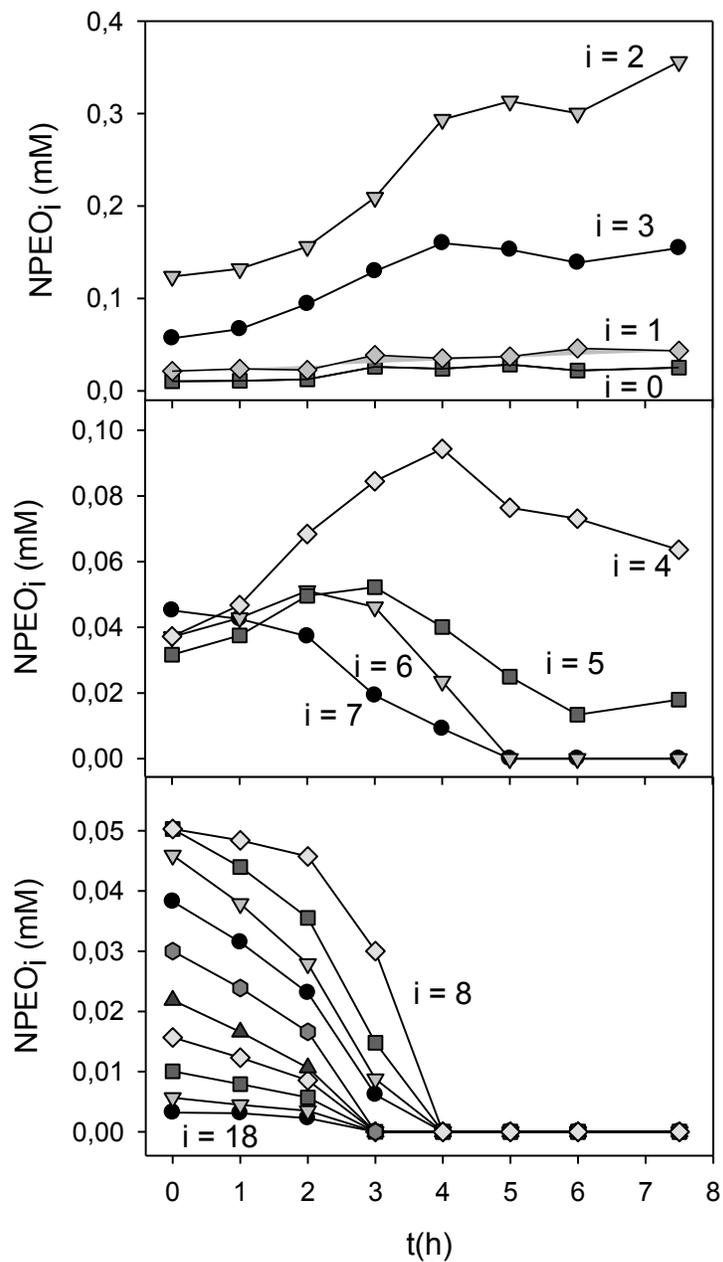


Figura 4.24. Concentración de oligómeros NPEO_i totales (fase acuosa + adsorbidos) en función del tiempo.

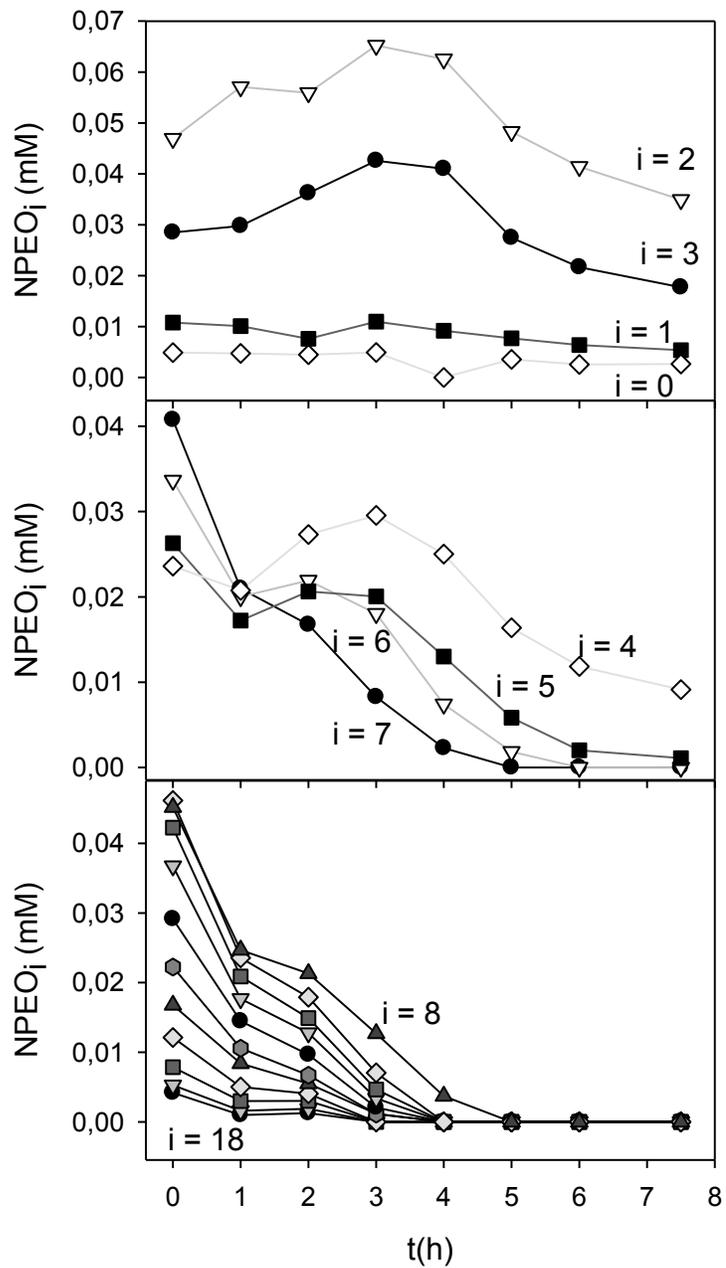


Figura 4.25. Concentración de oligómeros $NPEO_i$ en fase acuosa en función del tiempo.

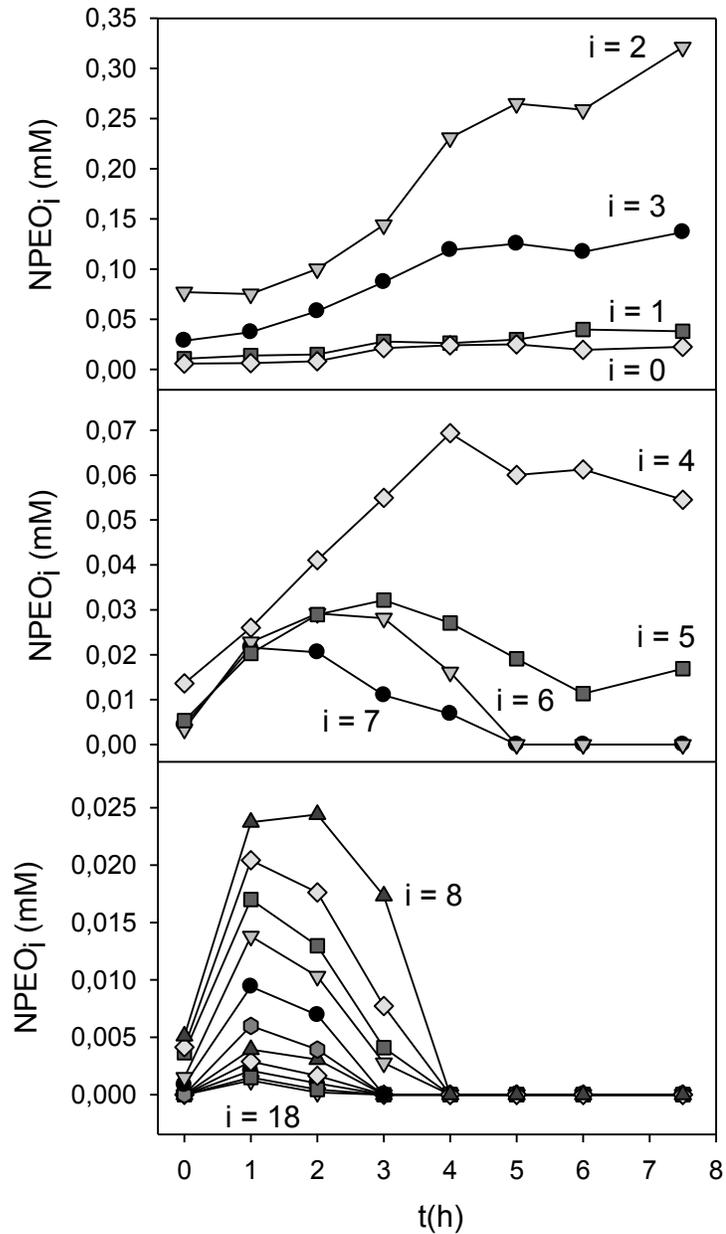


Figura 4.26. Concentración de oligómeros $NPEO_i$ adsorbidos a la biomasa en función del tiempo

En la Figura 4.27 se muestra como varía las concentraciones totales los diferentes oligómeros durante la aclimatación de un consorcio microbiano a $NPEO_{av9}$ como única fuente de carbón.

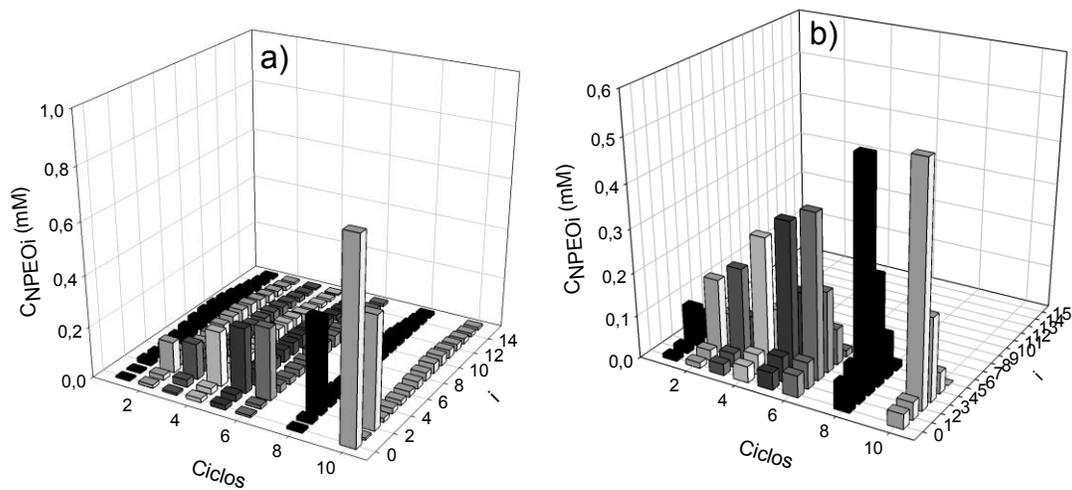


Figura 4.27. Variación de la concentración de los oligómeros en función los ciclos de aclimatación al a) Inicio y b) al final de cada batch consecutivo.

Como la aclimatación se realizó mediante una serie de batch secuenciales de remoción de $\text{NPEO}_{\text{av}9}$, en donde la biomasa al final de un cierto batch es empleada como inóculo para el batch posterior, se puede ver claramente que hay una cantidad creciente de oligómeros de cadena corta que fueron producidos en el batch anterior, principalmente NPEO_2 . Esto podría causar un efecto negativo sobre el crecimiento microbiano y el mantenimiento celular. En la sección 4.3.2 se vio que de la respiración endógena aumentó desde $1.0 \text{ mgO}_2/\text{gSST}/\text{h}$ en el ciclo 1 a $2.2 \text{ mgO}_2/\text{gSST}/\text{h}$ en el ciclo 10 (Figura 4.11), esto indica que el consorcio microbiano requiere el doble de suministro de oxígeno para la respiración endógena en el último ciclo en comparación con el primero.

4.6. Efecto del promedio de las unidades etoxiladas (x) en la remoción de NPEO_x en reactores batch de barros activados

En esta sección se analiza el efecto de las unidades etoxiladas en la degradación, utilizando diferentes mezclas comerciales con un promedio cinco, nueve y doce unidades etoxiladas ($\text{NPEO}_{\text{av}5}$, $\text{NPEO}_{\text{av}9}$, $\text{NPEO}_{\text{av}12}$) como única fuente de carbón.

4.6.1 Ensayo experimental

Se analizó el efecto del promedio de las unidades etoxiladas en la remoción de NPEO_x por barros activados aclimatados en reactores batch. El medio de cultivo mineral fue el mismo que el utilizado en el inciso 4.1.1.

Para el ensayo se utilizó un biorreactor discontinuo constituido por un vaso cilíndrico de vidrio de 600 mL con 300 L de volumen de trabajo. La aireación se proporcionó como se describió en sección 4.1.1. Se estudió la biodegradación de tres mezclas comerciales de NPEO_x , con un promedio de 5 ($\text{NPEO}_{\text{av}5}$), 9 ($\text{NPEO}_{\text{av}9}$) y 12 ($\text{NPEO}_{\text{av}12}$) unidades etoxiladas. En todos los casos se utilizó una concentración inicial de NPEO_x de 300 mg/L. En cada experimento se midió la concentración total de NPEO_x en solución y la distribución de oligómeros individuales en función del tiempo y la concentración de biomasa.

4.6.2. Análisis del efecto del número promedio de las unidades etoxiladas (n) en la remoción de NPEO_x en reactores batch de barros activados

En la Figura 4.28 se muestra la degradación de las mezclas comerciales estudiadas en la fase soluble y la acumulación en la fase insoluble, utilizando como única fuente de carbón cada uno de los tres tensioactivos. En términos generales se observó que el inóculo aclimatado a consumir $\text{NPEO}_{\text{av}9}$ fue capaz de utilizar como única fuente de carbón y energía otras mezclas comerciales de NPEO_x ($\text{NPEO}_{\text{av}5}$ y $\text{NPEO}_{\text{av}12}$). Con relación a los rendimientos celulares finales medidos como mgSST/L, los mismos aumentaron en el orden $\text{NPEO}_{\text{av}5} < \text{NPEO}_{\text{av}9} < \text{NPEO}_{\text{av}12}$ (Tabla 4.5). Estos resultados sugieren que la verdadera fuente de carbón para el crecimiento se deriva exclusivamente de la cadena de etoxilos (EO).

Para todas las mezclas comerciales utilizadas, la biodegradación se produjo por el acortamiento de la cadena etoxilada, lo que condujo a la acumulación de NPEO_2 indistintamente de la cantidad de grupos etoxiladas promedio del NPEO_x utilizado como fuente de carbón como se puede ver en la Figura 4.29. Estos resultados son coherentes con los obtenidos por varios autores (Ferguson y col, 2001; Loos y col, 2007; Yu y col, 2009) que estudiaron la biodegradación de diferentes mezclas comerciales de Nonilfenol Polietoxilado (NPEO_x) y Octilfenol Polietoxilado (OPEO_x) por diferentes cepas y sostienen que la biodegradación de mezclas comerciales de NPEO_x y OPEO_x con un promedio x de

unidades etoxiladas conducen al acortamiento de las cadenas etoxilada, produciendo metabolitos que tienen baja solubilidad en agua y se adsorben a sólidos en suspensión y sedimentos.

Como se trató previamente, la despolimerización de un cierto $NPEO_{avx}$ (con $x = 5, 9$ o 12) se detiene aproximadamente en $NPEO_2$. Así, los microorganismos tendrían disponibles como fuente de carbono $(x - 2)$ moles de EO por mol de $NPEO_{avx}$ despolimerizado. Si C_{x0} es la concentración inicial (mM) del $NPEO_{avx}$ estudiado, la concentración de EO disponibles como fuente de carbono (EO_D) es:

$$EO_D = (x - 2)C_{x0} \quad (4.27)$$

Si se asume que todos los EO que se liberaron por despolimerización fueron consumidos por los microorganismos, se puede calcular un rendimiento de biomasa en etoxilos ($Y_{X/EO}$) como

$$Y_{X/EO} = \frac{\Delta X}{EO_D} \quad (4.28)$$

donde ΔX es el incremento en biomasa.

La Tabla 4.5 muestra que para cada $NPEO_x$ estudiado los valores calculados de $Y_{X/EO}$ fueron similares, confirmando que la cadena de EO es la verdadera fuente de carbono para los microorganismos

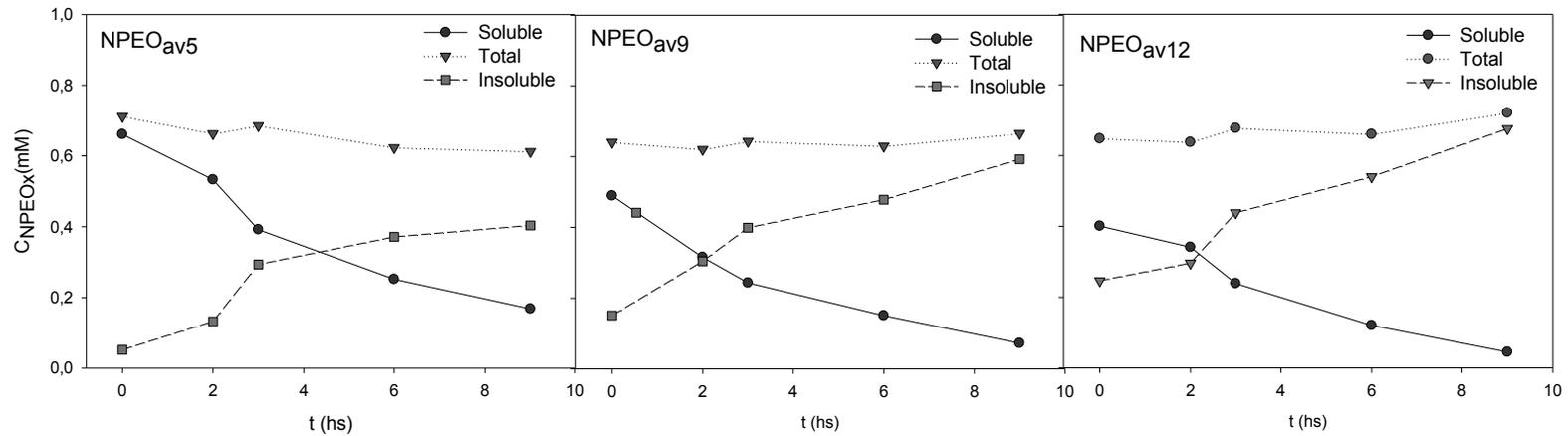


Figura 4.28. Variación de la concentración de NPEO_x total, soluble y adherida a la biomasa usando como fuente de carbono NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}

Tabla 4.5. Variación de la concentración de SST usando como fuente de carbono NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}

	C _{x0} (mM)	EO _D (mM)	X (mg SST/L)			Y _{X/EO} (mgSST/mmolEO)
			Inicial	Final	ΔX	
NPEO_{av5}	0.68	2.0	2075	2183	108	54.0
NPEO_{av9}	0.48	3.4	2093	2281	188	55.3
NPEO_{av12}	0.40	4.0	2123	2343	220	55.0

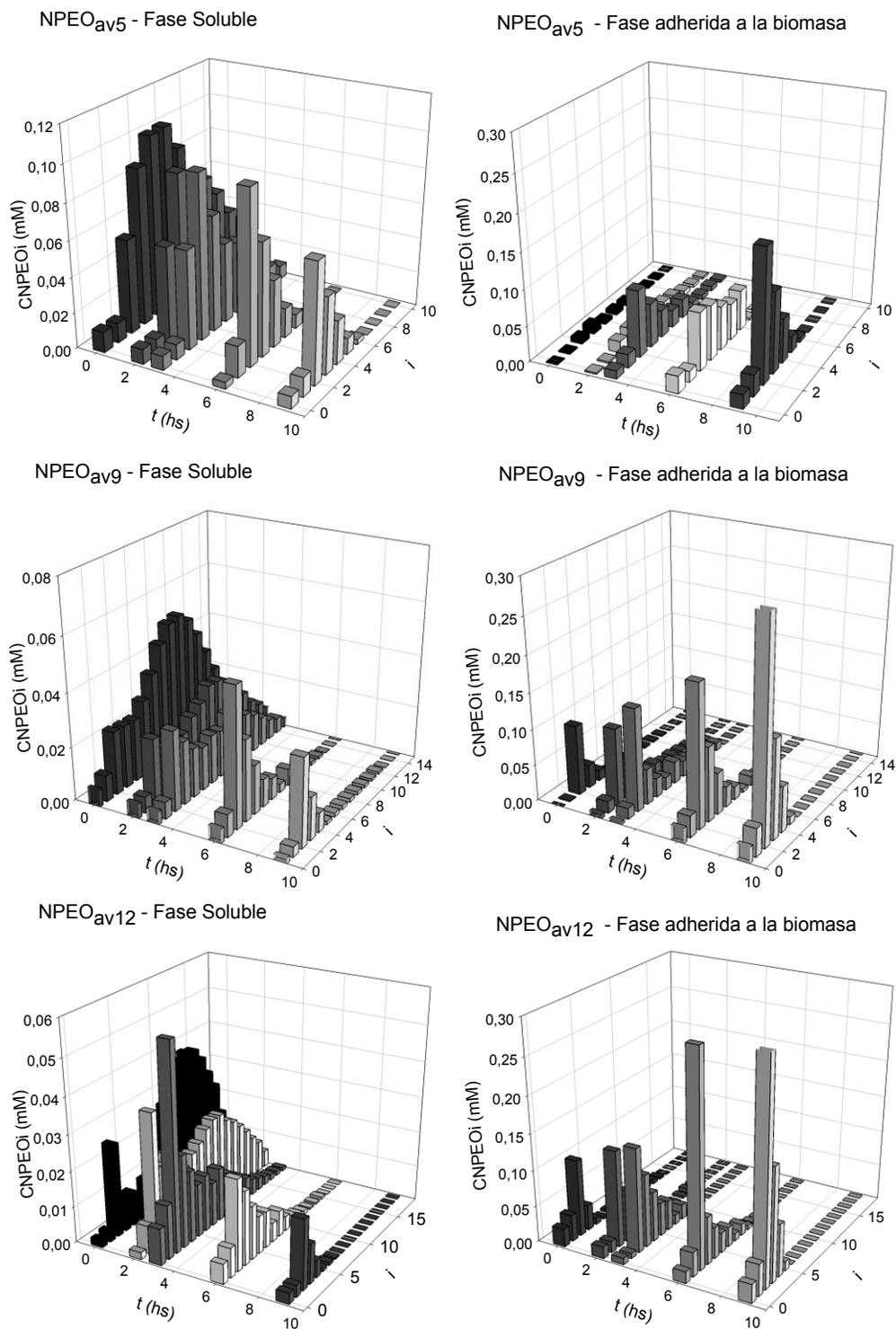


Figura 4.29. Variación de la concentración de oligómeros utilizando como fuente de carbóno NPEOx con distinta cantidad de unidades etoxiladas

4.7. Análisis de las comunidades bacterianas implicadas en la biodegradación de NPEO_x

El rendimiento y la estabilidad de los procesos biológicos de tratamiento de efluentes están determinados por la capacidad de degradativa de las comunidades microbianas presentes. La composición de la comunidad microbiana depende a su vez del tipo de efluente y de otras presiones selectivas, tales como el tiempo de retención celular, la temperatura, las condiciones redox y demás factores extrínsecos (Lozada y col,2004). En la presente sección se comparan tres comunidades microbianas provenientes de reactores de barros activados alimentados con diferentes sistemas modelo de aguas residuales.

4.7.1. Ensayo Experimental

Se analizaron tres muestras (A, B y C) de barros activados. La muestra A fue obtenida de un reactor alimentado con suero de queso como única fuente de carbón. Estos barros fueron empleados como inóculo para un reactor alimentado con fenol como fuente de carbón (muestra B). A su vez, los barros aclimatados a fenol fueron empleados como inóculo de partida para aclimatar la biomasa a NPEO_{av9} (muestra C).

Para cada reactor se calculó el Índice Volumétrico de Lodos (IVL) y se realizó observación microscópica de los barros usando un microscopio Leica con cámara fotográfica. El índice volumétrico de lodos (IVL) es un parámetro utilizado para caracterizar la sedimentabilidad de los barros activados y se define como el volumen ocupado por los barros activados luego de un período de sedimentación de 30 minutos (ml/L) dividido por la concentración de barros (X, gTSS/L) (Wanner, 1994). Valores de IVL entre 50 y 150 ml/g indican un buen funcionamiento de la planta de tratamiento de efluentes por barros activados.

Asimismo, se analizó la estructura de la comunidad microbiana en términos de diversidad genómica empleando una técnica de biología molecular. Para ello, se aisló el ADN genómico bacteriano de las tres muestras de barros. Los fragmentos del gen para la subunidad pequeña del ARN ribosomal fueron amplificados por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) como se explicó en el Capítulo 2. El producto de esta reacción consistió en una mezcla de amplicones de PCR correspondientes a cada una de las bacterias presentes en las muestras, los cuales fueron separados en forma subsiguiente por DGGE

(Capítulo 2). El resultado fue un perfil de bandas, donde cada una corresponde a una secuencia de ADN de uno de los miembros predominantes de la comunidad bacteriana.

4.7.2. Análisis macroscópico y microscópico del barro

En la Figura 4.30 se encuentra una micrografía de los barros activados del reactor A (alimentados con suero de queso). Se pueden observar ciliados sésiles y ciliados móviles de fondo. En la Figura 4.31 se muestran flóculos compactos, densos con aspecto resistente, estos flóculos evidencian un equilibrio entre los microorganismos formadores de flóculos y los filamentosos (Perez, 2016). Estos barros activados presentaron un IVL entre 80 y 120 mL/g, con un sobrenadante poco turbio, indicando un buen funcionamiento de la planta de tratamiento

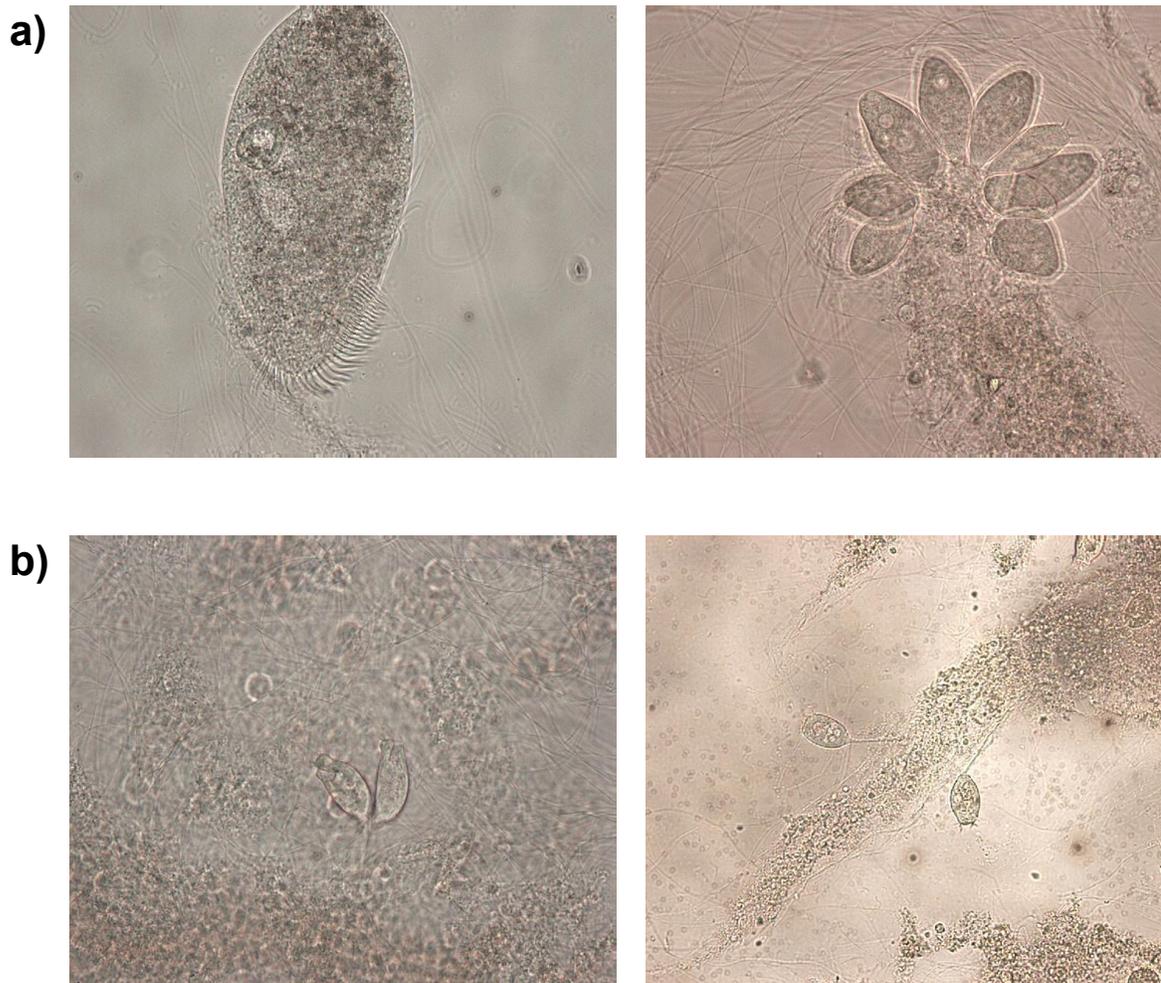


Figura 4.30. Microfauna del reactor A. 200X y 400X

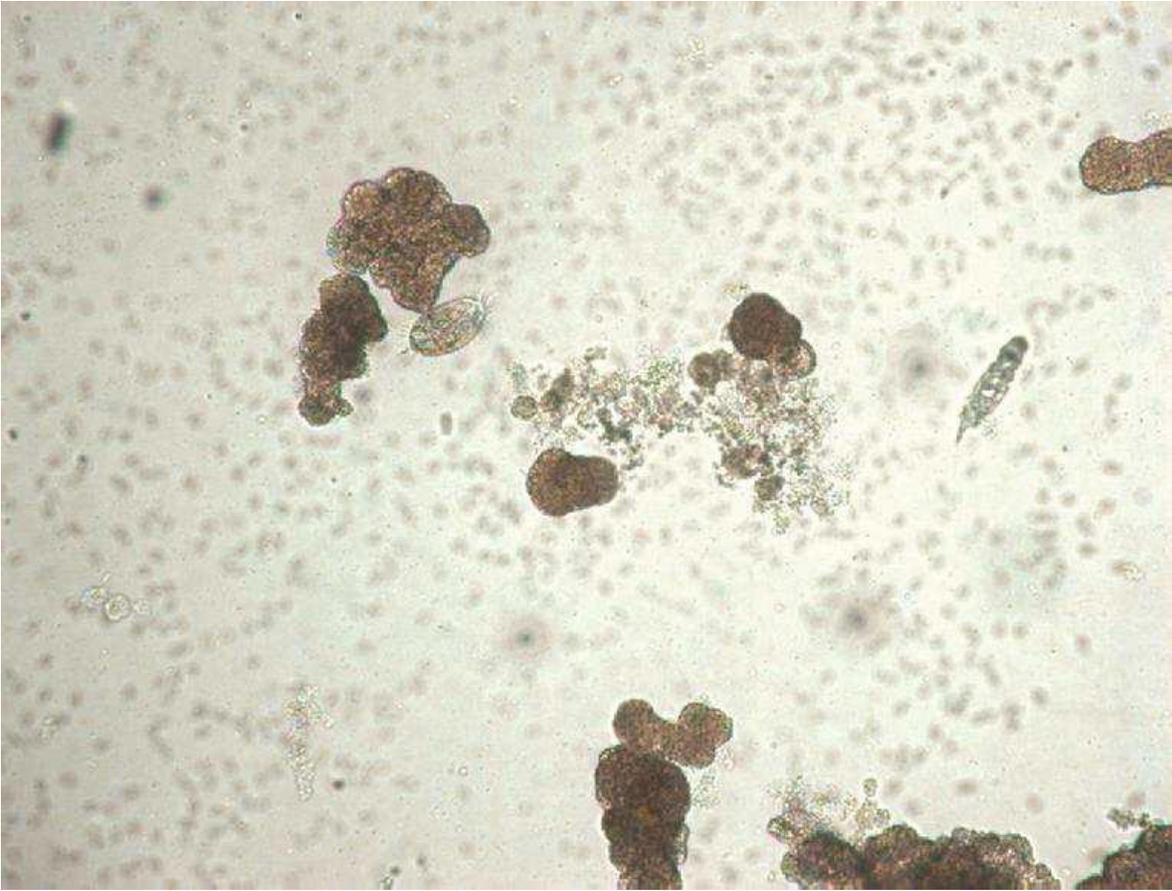


Figura 4.31. Flóculos formados por los barros del reactor A. 10X

En la Figura 4.32 se encuentra una micrografía de los barros activados aclimatados a fenol. Como puede observarse, la diversidad de la población microbiana disminuyó significativamente. Sin embargo, se observan rotíferos, ciliados, nematodos que indica un buen funcionamiento de la planta de tratamiento. En este caso, el IVL resultó 95 mL/g, también con un sobrenadante poco turbio, indicando un barro con apropiadas características de sedimentación.

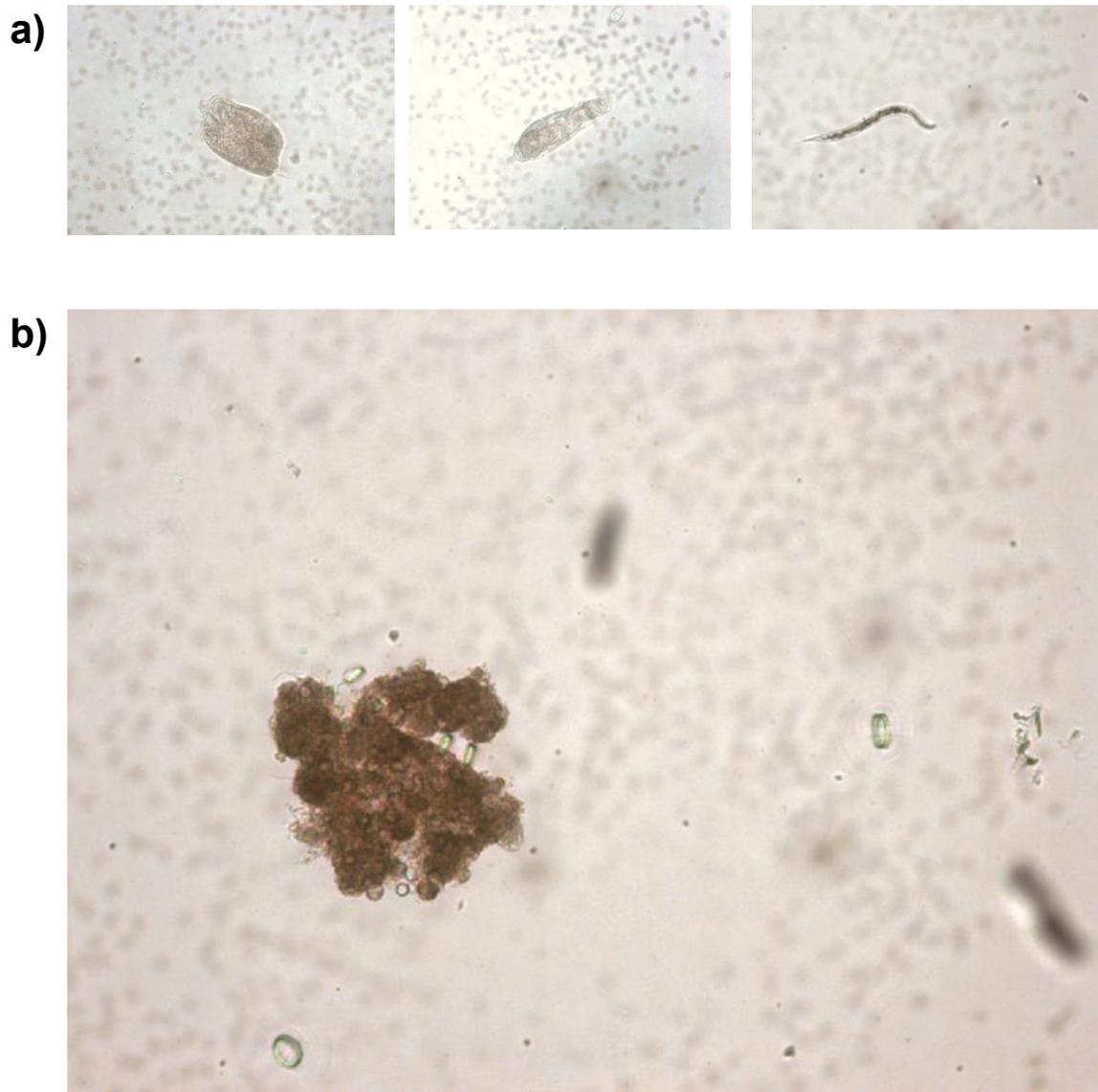


Figura 4.32. Microfauna y flóculos de los barros del reactor C. a) 200X y b) 10X

En la Figura 4.33 se encuentra una micrografía de los barros activados aclimatados a NPEO_{av9} . Como puede observarse, la diversidad de la población microbiana pareciera disminuir con respecto a los barros aclimatados a fenol. Se obtuvo un IVL de 153.2 mL/g, más elevado que en el Reactor B, por lo que la sedimentabilidad del barro se vio afectada, además el sobrenadante resultó ligeramente turbio. La turbidez aumento de ciclo a ciclo de aclimatación.

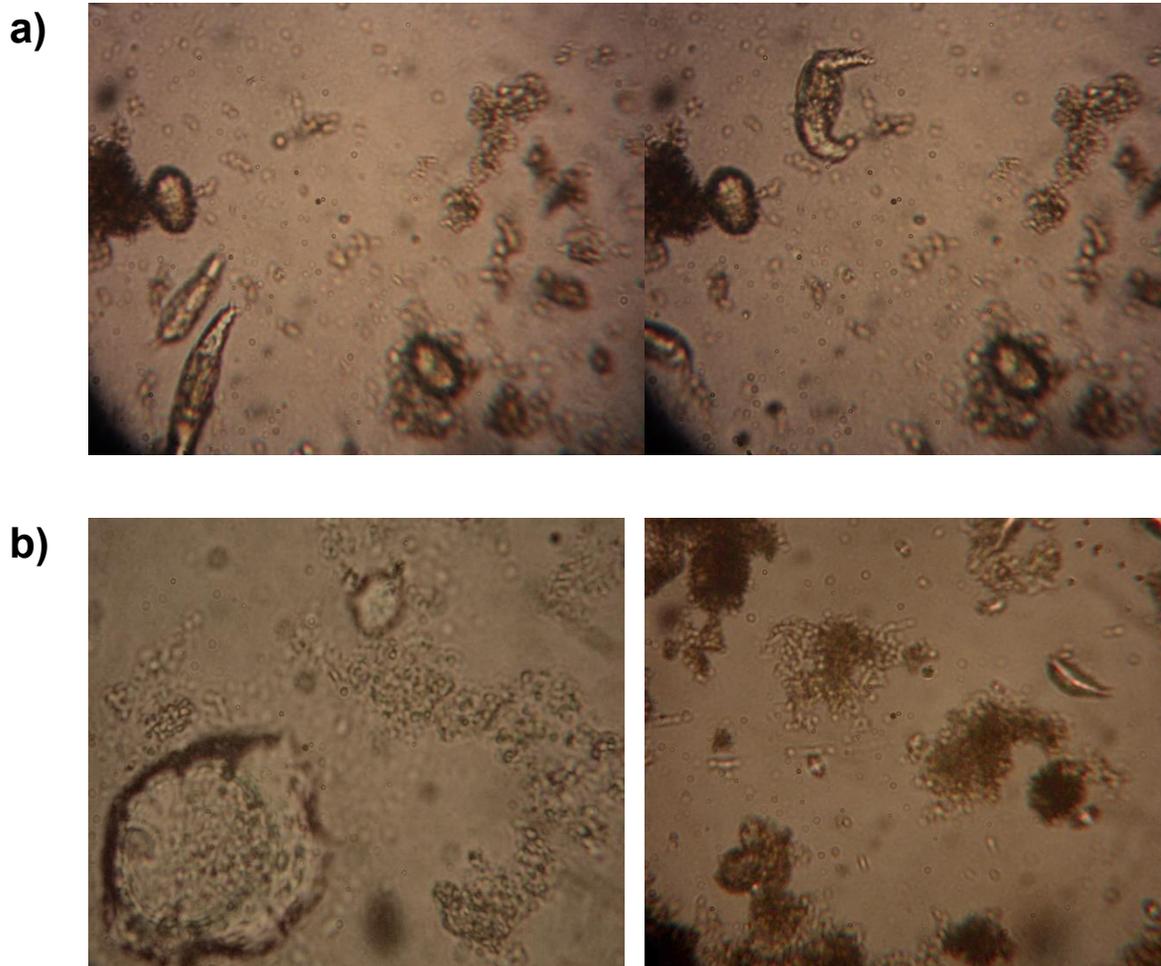


Figura 4.33. Microfauna y flóculos de los barros del reactor C. a) 200X y b) 10X

4.7.3. Análisis de las comunidades microbianas por electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (DGGE)

La observación microscópica de las muestras de barros provenientes de los reactores A, B y C reveló que el agregado continuo de fenol (y luego de NPEO_{av9}) reduciría la diversidad microbiana, obteniéndose flóculos más compactos y de rápida sedimentación en el caso del reactor B (Figura 4.31) y un lodo con un valor mayor de IVL y de sedimentación más lenta en el caso del reactor C (Figura 4.32).

En electroforesis en geles con gradiente desnaturalizante (DGGE), los fragmentos de ADN de igual longitud pero distinta secuencia son separados en base a la diferente movilidad electroforética de cada fragmento (Muyzer y col, 1993). Cada banda

representa un taxón independiente (especies de microorganismos presentes, cuando se trata del análisis de comunidades microbianas), y la intensidad se corresponde aproximadamente con su abundancia relativa en la comunidad. Al comparar entre muestras, las bandas que se ubican en la misma posición del gel se consideran taxones equivalentes.

La Figura 4.34 muestra que el número de bandas DGGE fue de 15 para el reactor A, 9 para el reactor B y 9 para el reactor C. Como era de esperar, el reactor A (alimentado con Suero de Queso) presentó una mayor diversidad bacteriana. Además, puede observarse que todas las bandas correspondientes a las comunidades B y C también aparecen en la A. Esto sugiere que las comunidades que se obtienen cuando se aclimatan a fenol y a NPEO_{av9} son un subconjunto de la comunidad inicial, la cual se obtuvo con suero de queso como fuente de carbón. Aunque en el reactor C (alimentado con NPEO_{av9}) se observaron las mismas bandas que en reactor B (alimentado con fenol), la diferencia de intensidades relativas indica una diferente distribución de la población bacteriana. Debido a que el consorcio aclimatado a fenol era similar al consorcio aclimatado a NPEO_{av9}, esto explicaría la razón por la cual el inóculo proveniente de barros que aclimatados a fenol logro degradar NPEO_{av9} en tiempos mas cortos que los barros provenientes de suero de queso (Sección 4.1).

Debe destacarse que los microorganismos aclimatados a fenol (muestra B) pueden crecer activamente en fenol como única fuente de carbón. Además, diversos estudios indican que éstos microorganismos poseen las enzimas necesarias (en especial, oxigenasas) para clivar el anillo aromático (Lobo y col., 2014). Como la comunidad C estaba compuesta por las mismas especies que la B pero con diferente distribución relativa, es esperable que en la comunidad C también esten presentes las enzimas (o al menos los genes que codifican a estas) necesarias para clivar el anillo aromático. Sin embargo, en los experimentos de degradación de NPEO_x se demostró que los barros aclimatados a NPEO_x pueden despolimerizar la cadena de etoxilos, pero no pueden clivar el anillo aromático del nonilfenol (Sección 4.4.2.). Por lo tanto, esto implica que, o bien no se expresan las enzimas necesarias, o bien estan expresadas pero el nonilfenol no es un sustrato adecuado para ellas.

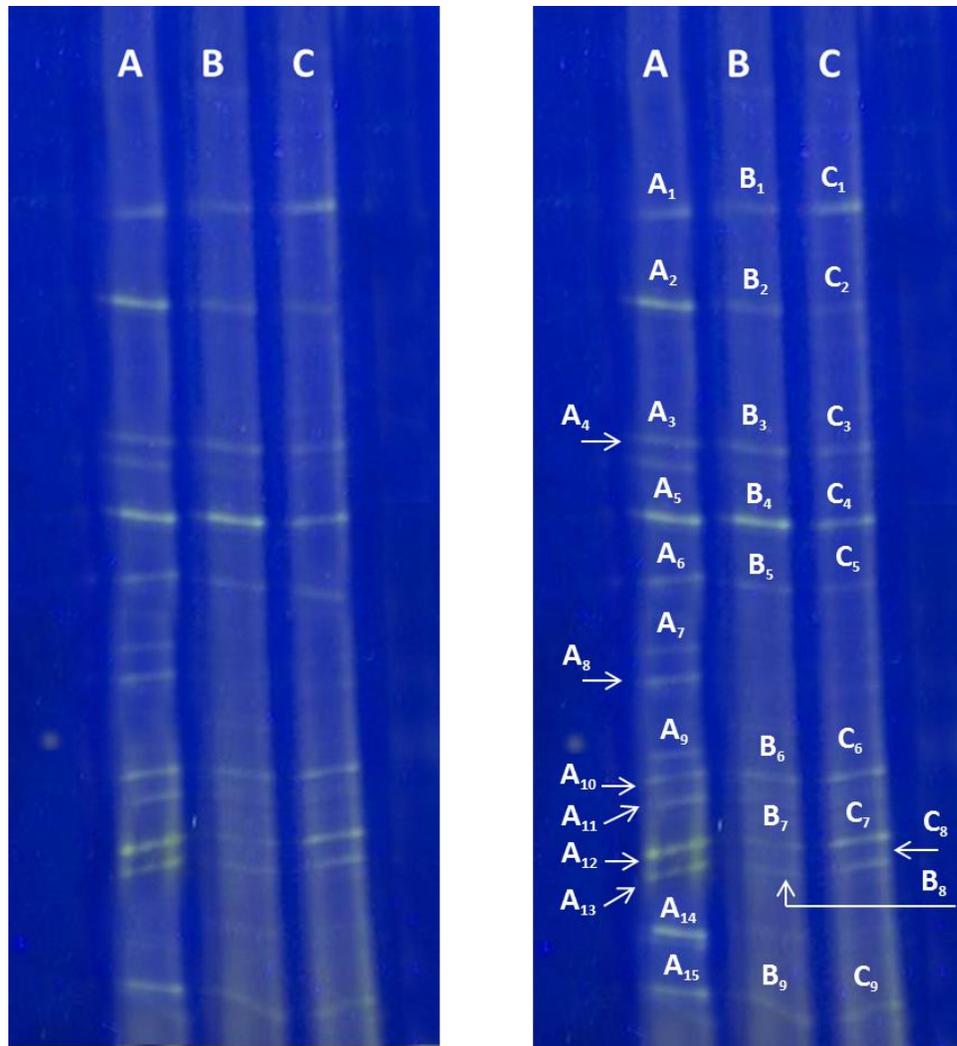


Figura 4.34. Numeración de Bandas de los reactores A, B y C por DGGE

4.8. Producción de polihidroxicanoatos (PHA) por lodos activados aclimatados a degradar fenol y NPEO_x

En la sección 4.4 se observó un aumento de los SST no asociada al crecimiento de la biomasa, este incremento se puede deber a la generación de compuestos intracelulares como los polihidroxicanoatos (PHA). Los PHA son poliésteres lineales sintetizados intracelularmente por algunos microorganismos sometidos a condiciones de estrés como reserva de carbón y energía que, una vez extraídos de la célula, presentan propiedades físicas similares a plásticos derivados del petróleo. Las bacterias sintetizan el PHA en varias formas, entre los cuales el polihidroxiбутирато (PHB) es el poliéster de cadena más corta en esa familia (González García y col, 2013).

El tratamiento de efluentes genera barros cuya disposición final representa actualmente un creciente desafío debido a factores económicos, ambientales y de regulación, por lo cual es fundamental el estudio de estrategias para disminuir la cantidad de barros generados durante el tratamiento de estos efluentes. Estos barros se podrían revalorizar mediante la producción de PHA, siendo éstos una alternativa prometedora en la producción de plásticos biodegradables.

4.8.1. Ensayo Experimental

Los barros de los reactores B y C aclimatados a fenol y NPEO_{av9} se los sometió a un estrés producido por la escasez de nutrientes, en este caso nitrógeno. Los gránulos intracelulares de PHA de los reactores fueron detectados por tinción con Negro Sudan y espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). La acumulación de PHA se determinó por medio de la extracción del polímero como se explicó en el Capítulo 2.

4.8.2. Detección de PHA por tinción con Sudan Black y FT-IR. Cuantificación por análisis de imágenes.

Los PHAs son acumulados intracelularmente como polímeros amorfos en gránulos de diferentes tamaños, ellos están rodeados por una monocapa fosfolipídica (Lopez-Cortez y col., 2008). Se emplean usualmente colorantes lipofílicos para la detección gránulos del polímero intracelular (Jendrossek, 2009). La coloración con Negro Sudan en solución alcohólica es la técnica más utilizada, dado que el procedimiento demuestra el contenido graso intracelular de las bacterias, por medio de la preparación de suspensiones de los organismos, formándose una película bacteriana y generando el contraste de observación con safranina, la cual permite visualizar la presencia o ausencia de polímero de naturaleza lipídica neutra en forma de gránulos intracelulares (Burdón, 1946; Jendrossek, 2009). En la Figura 4.35 se muestra la micrografía de los barros del reactor B y C. En ambos casos se observó tanto por tinción con Negro de Sudan como por observación microscópica la presencia de gránulos negros que indicarían la presencia de PHA (Ruth y col., 2007).

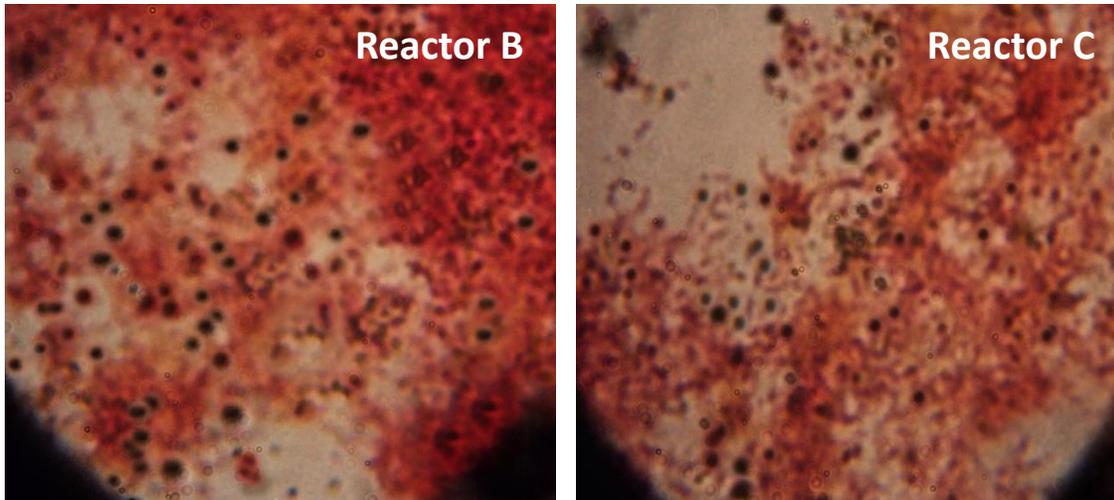


Figura 4.35. Micrografía de los barros del reactor B y C con tinción Sudan Black

La metodología utilizada para la obtención del polímero fue la extracción de PHA de la biomasa microbiana mediante el uso de hidrocarburos clorados, utilizando la técnica de reflujo con cloroformo (Fuchtenbusch, 1996).

En la Figura 4.36 se muestra el procedimiento la extracción y obtención del polímero. La biomasa obtenida de los reactores B y C, fue separada por centrifugación y se en estufa de vacío hasta peso constante X (gST/L) (Figura 4.34a). Luego, se realizó la extracción con Cloroformo a 60°C durante 3 hs. Posteriormente, se procedió a precipitar el polímero con etanol al 96% a 4°C, separando la solución por centrifugación. La purificación del polímero se realizó mediante varios lavados con solución hidro-alcohólica al 50%. Finalmente, el polímero purificado se secó en estufa de vacío hasta peso constante P.

El polímero fue identificado como PHA cuando se observó un pico máximo de absorbancia a 235 nm. Con las concentraciones de la biomasa celular (X) y PHA (P) se calculó el Y (p/x): coeficiente de rendimiento del producto con relación a la biomasa (Dorán, 1995) o cantidad de PHA obtenido por cantidad de biomasa formada (g.g⁻¹):

$$Y_{P/X} = \frac{P}{X} \quad (4.29)$$

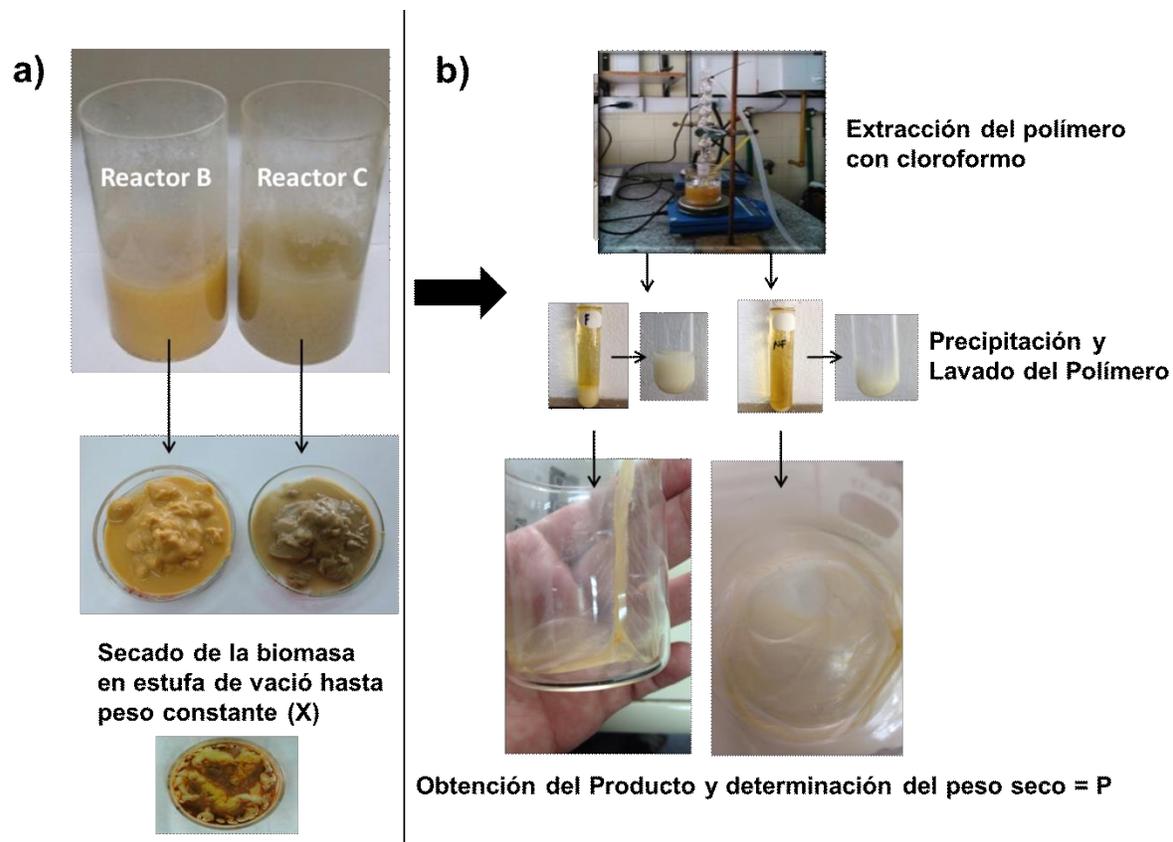


Figura 4.36. a) Separación de la Biomasa que contiene PHA y b) Extracción y obtención del polímero

El rendimiento del polímero extraído resultó 0.1594 (gPHA/gST) y 0.153 (gPHA/gST) para los reactores B y C, respectivamente. Los rendimientos de polímeros extraídos de biomasa de cultivos mixtos informados por diversos autores varían entre 0.380 y 0.087 (Gurieff y Lant, 2007; .Morgan-Sagastume y col., 2010; Valentino y col., 2015) y se encuentran dentro de los valores obtenidos en este trabajo de tesis

En la Figura 4.37 se presentan los espectros de absorción FT-IR correspondientes a ambos barros. En ambos casos, las curvas presentan un pico a una longitud de onda de 1736 cm^{-1} correspondiente a la vibración del grupo funcional éster C=O del PHA (Arcos-Hernandez y col., 2010; Werker y col., 2015). La técnica espectroscópica permitió confirmar la presencia de PHA.

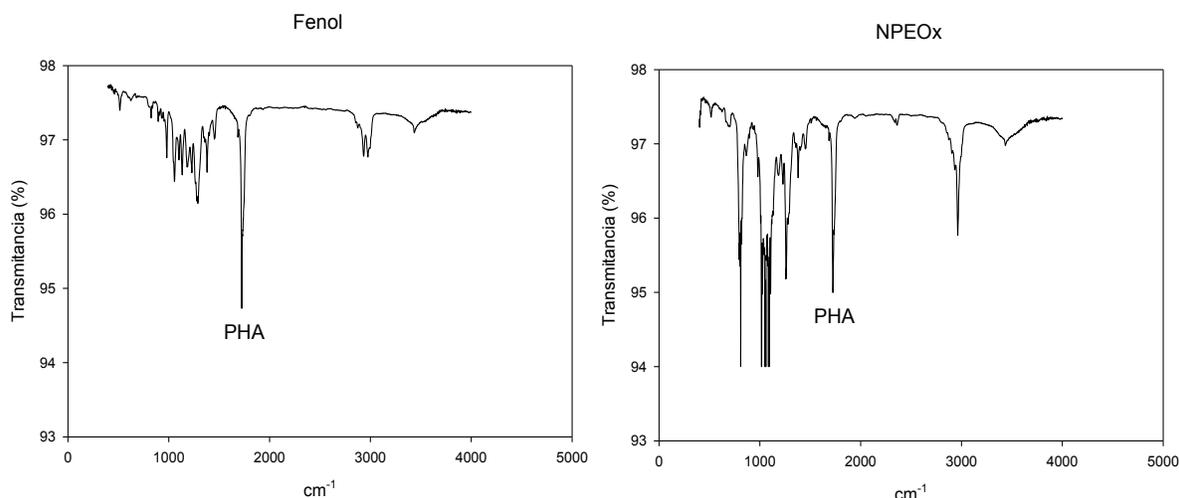


Figura 4.37. Espectros de absorción FT-IR para ambos barros.

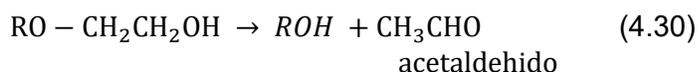
4.9. Mecanismo propuesto para la biodegradación de NPEO_x

El patrón observado para la biodegradación de los NPEO_x por el cultivo microbiano aclimatado mostró la disminución de la concentración de oligómeros que contienen una cadena etoxilada larga y la acumulación de oligómeros que contienen una cadena corta, siendo el principal producto de degradación final el oligómero NPEO₂. En la sección 4.6 se observó que el aumento de la biomasa se incrementó en el siguiente orden NPEO_{av5} < NPEO_{av9} < NPEO_{av12}. Estos resultados implicaron que el carbono para el crecimiento derivaba exclusivamente de la cadena de etoxilada, una conclusión confirmada por análisis de HPLC de compuestos intermedios formados durante la biodegradación, que mostraron que a medida que los NPEO_x se degradaban a oligómeros más cortos, el área total del pico de la fase total (soluble más adherida a la biomasa) permanecía constante en todo momento.

Según algunos autores (John y White, 1998; Staples y col, 2001; Zgoła-Grzeškowiak y col, 2014) la acumulación NPEO₂ podría ocurrir por la escisión de todos los oligómeros en el enlace éter entre el segundo y tercer enlace desde el anillo aromático por la eliminación secuencial de las unidades etoxiladas (exoscisión). Sin embargo, si el mecanismo fuese la escisión de todos los oligómeros en el enlace éter entre el segundo y tercer enlace desde el anillo aromático, todos los oligómeros disminuirían de forma simultánea, aunque posiblemente a un ritmo diferente. Además, en ese caso no habría aumentos transitorios de las concentraciones de algunos oligómeros, sino solo un

incremento del NPEO₂. Por el contrario, en el mecanismo de eliminación secuencial de las unidades etoxiladas, sólo los oligómeros más largos podrían disminuir. En cambio, la concentración de oligómeros de longitud intermedia sería el resultado neto entre su propia velocidad de degradación y su velocidad de producción debido a la degradación de oligómeros más largos. Por lo tanto, se podría observar un aumento transitorio de ciertos oligómeros de cadena intermedia. A partir de las Figuras 4.24-4.26 se puede advertir que los oligómeros intermedios con frecuencia mostraron aumentos transitorios de concentración, en concordancia con el mecanismo de eliminación secuencial de biodegradación.

Según John y White (1998) la despolimerización secuencial de NPEO_x podría ocurrir según la ecuación 4.30:



Si el acetaldehído liberado quedara en solución, no se observaría una disminución de la DQO soluble, tal como se discutió en la Sección 4.4.2. Por lo tanto, el producto liberado debe estar siendo rápidamente utilizado como fuente de carbono. Además, esta sería la razón por la cual el agregado de un pulso de NPEO_x provoca el incremento de la velocidad de respiración de los microorganismos que se observa en los ensayos respirométricos (Sección 4.3).

En sistemas biológicos existen varias enzimas que oxidan el acetaldehído a acetato, tales como la aldehído deshidrogenasa (EC 1.2.99.3) y la carboxilato reductasa (EC 1.2.99.6). Mientras que la primera usa NAD⁺ como aceptor de electrones, no se conocen los aceptores para la segunda. Existen numerosos estudios que demuestran que en condiciones dinámicas los barros activados pueden utilizar acetato para sintetizar polihidroxialcanoatos (PHA) y emplear el PHA como fuente de carbono y energía para crecimiento (Gross y Kalra, 2002; Zeng y col; 2003). Así, es posible que el acetaldehído generado por la despolimerización de NPEO_x sea convertido en acetato, la verdadera fuente de carbono y energía para los microorganismos. Este acetato sería rápidamente consumido tanto en el proceso de síntesis de PHA, como para el crecimiento directo de los microorganismos. Como se vió en la sección anterior, se ha aislado PHA en barros activados que crecen en NPEO_x como única fuente de carbono, lo que es consistente con el mecanismo propuesto.

Si se parte de una mezcla de NPEO_x con un promedio de 9 unidades etoxiladas, se liberan 7 moles de acetaldehído por mol de NPEO₉ que se despolimeriza a NPEO₂. Luego, la oxidación del aldehído a acetato consumiría 3.5 moles de oxígeno por mol de NPEO_{av9}, este valor es aproximadamente la mitad del valor experimental obtenido por respirometría: $7.1 \pm 0.8 \text{ molO}_2/\text{mol NPEO}_{av9}$.

De acuerdo a los datos de literatura (Fan y col, 2012) el consumo de oxígeno asociado al consumo de acetato varía entre 0.2 y 0.4 grO₂/grDQO. Teniendo en cuenta que un mol de ácido acético (AcH) representan 64 grDQO, resulta que se consumen 0.4 a 0.8 molO₂ por molAcH. Durante la despolimerización de un mol de NPEO₉ a NPEO₂ se liberan 7 moles de acetaldehído, los cuales se oxidarían para formar acetato, consumiendo 3.5 molO₂/molNPEO₉. Luego, esos 7 moles de acetato se metabolizarían para dar PHA y biomasa, consumiendo de 2.8 a 5.6 molO₂/molNPEO_{av9}. La combinación de estas tres etapas (despolimerización, oxidación del acetaldehído a acetato y metabolización del acetato) daría un consumo total de oxígeno entre 6.3 y 9.1 molO₂/molNPEO_{av9}. Es importante destacar que el valor obtenido de $Y_{o/s} = 7.1 \pm 0.8 \text{ molO}_2/\text{mol NPEO}_{av9}$ por métodos respirométricos se encuentra dentro de este rango.

El acortamiento progresivo de las cadenas de etoxilo durante la biodegradación haría que las moléculas más lipofílicas prevalezcan, lo que aumentaría la adsorción de estos NPEO_x de cadena corta a los barros activados. La adsorción puede a su vez influir en la biodisponibilidad de los compuestos intermedios de biodegradación para promover la biodegradación por bacterias. Por lo tanto, el mecanismo de eliminación secuencial propuesto, tendrá repercusiones significativas en la evaluación del destino medioambiental de este grupo de tensioactivos, debiéndose tomar medidas de remoción eficiente de los mismos.

4.10. Conclusiones del Capítulo

- ✓ Los barros aclimatados a fenol resultaron adecuados para la remoción de NPEO_x. Los barros activados aclimatados a fenol presentaron un período de adaptación de 30 a 50 horas, luego de este período remoción de NPEO_x fue de alrededor de 10 hs. No se observó inhibición del consorcio microbiano por NPEO_x en el rango de concentración estudiado.

- ✓ La aclimatación de los barros se logró luego de 3 ciclos de operación del reactor conservándose en los ciclos posteriores. También se advirtió, a partir de ese ciclo, un consumo de amonio que se correspondió al consumo de NPEO_x observado, por lo que se puede asociar este consumo al requerido para la biooxidación de NPEO_x. A partir de ciclo 7, los rendimientos Y_{x/s} se estabilizaron en 0.30 ± 0.07 mgSST/mgDQO_s y 34.4 ± 6.60 mgSST/mmolEO_x.
- ✓ El análisis de los respirogramas indica que partir del 3º ciclo el consumo de NPEO_x pareciera ocurrir en una sola etapa o no se distingue entre las etapas sucesivas y el tiempo necesario para remover del NPEO_x se mantiene aproximadamente constante.
- ✓ La comparación entre la demanda teorica de oxígeno DTeO y la DQO_s sugirió que el proceso de biodegradación aeróbica de NPEO_x mediante barros activados podría ocurrir vía un acortamiento secuencial de la cadena de etoxilos hasta un valor de n entre 1 y 2, seguido por una remoción de los oligómeros de cadena corta.
- ✓ Del análisis detallado del 3º ciclo resulta que hay una fracción de SST no asociada al crecimiento microbiano, que podrían ser productos de degradación adheridos a la biomasa o compuestos intracelularmente sintetizados como reserva de carbóno y energía, como los polihidroxicanoatos (PHA).
- ✓ La evolución de la concentración total, soluble y adherida a la biomasa de NPEO_{av9} por HPLC mostró que en fase soluble el porcentaje fue de 77% a las 7.5 hs. La concentración de NPEO_{av9} adherida a la biomasa aumentó en el transcurso del ensayo, lo que podría originar el aumento de SST no asociado al incremento a de la biomasa mencionado anteriormente adherida a la biomasa aumenta en el transcurso del ensayo, lo que podría originar el aumento de SST no asociado al incremento a de la biomasa, mientras que la suma de la concentración de NPEO_x en ambas fases se mantiene constante. frase demasiado larga y confusa reescribir
- ✓ Como el método de medición de NPEO_x por HPLC detecta los anillos aromáticos de la molécula y la concentración total de NPEO_x fue constante en función del tiempo, se dedujo que los barros activados no pudieron clivar el anillo aromático del NPEO_x en las condiciones ensayadas. Este resultado sugiere que los

microorganismos no pudieron haber empleado esta parte de la molécula de NPEO_x como fuente de carbóno.

- ✓ Los resultados presentados sugieren que la remoción biológica de NPEO_x comenzaría con el acortamiento secuencial de la cadena de etoxilos, los cuales serían la verdadera fuente de carbóno para el crecimiento bacteriano, seguido de la adsorción de los NPEO_x de cadena corta a la biomasa.
- ✓ Se obtuvo un valor de velocidad específica de crecimiento $\mu = 0.034 \text{ h}^{-1}$. Se puede observar como con la aplicación del modelo cinético Monod se consigue un buen ajuste entre los valores teóricos obtenidos a partir de la expresión del modelo, y por medio de círculos los valores experimentales para los diferentes ensayos.
- ✓ El análisis de la concentración de cada uno de los oligómeros por HPLC permitió comprobar que en la biodegradación de NPEO_x por el cultivo microbiano, los oligómeros más largos desaparecieron progresivamente desde el principio, mientras que los oligómeros intermedios eran más persistente y NPEO₂ se acumulaba como el principal producto final, principalmente adherido a la biomasa.
- ✓ Se puede advertir que la cantidad de oligómeros de cadena corta adheridos a la biomasa era creciente ciclo tras ciclo de aclimatación. Esto podría causar un efecto negativo sobre el crecimiento microbiano y el mantenimiento celular.
- ✓ Para todas las mezclas comerciales utilizadas, la biodegradación se produjo por el acortamiento de la cadena etoxilada, lo que condujo a la acumulación de NPEO₂ indistintamente de la cantidad de grupos etoxiladas promedio del NPEO_x utilizado como fuente de carbóno.
- ✓ Los resultados del aumento de la biomasa en orden creciente según NPEO_{av5} < NPEO_{av9} < NPEO_{av12} confirmaron que el carbóno para el crecimiento se derivaba exclusivamente de la cadena de etoxilada
- ✓ El consorcio capaz de remover fenol estaba compuesto por las mismas poblaciones que el consorcio aclimatado a NPEO_x y ambos eran capaces de acumular PHA, con un rendimiento del polímero extraído de 0.1594 (gPHA/gST) para barros aclimatados a fenol y 0.153 (gPHA/gST) para barros aclimatados a NPEO_x.

- ✓ El mecanismo propuesto es que la biodegradación de NPEO_x procede a través de la eliminación secuencial cadena de etoxilada. La oxidación del aldehído a acetato esta asociada tanto al consumo de oxígeno observado, a la síntesis de PHA como al crecimiento de los microorganismos.

CAPITULO 5

Remoción de Nonilfenol Polietoxilado de aguas residuales empleando tratamiento fisicoquímico

Los procesos fisicoquímicos se postulan como una buena opción para el tratamiento de contaminantes emergentes. Se analizará la capacidad de distintos adsorbentes para remover mezclas comerciales de NPEO_x del agua para utilizarlo como tratamiento terciario o complementario del tratamiento biológico de aguas residuales.

Objetivos

- ✓ Analizar la posibilidad de utilizar tratamientos por adsorción para remover NPEO_x
- ✓ Analizar las características de los adsorbatos.
- ✓ Analizar las características de los adsorbentes y su composición.
- ✓ Estudiar el sistema adsorbente-adsorbato
- ✓ Estudiar el efecto de tipo de adsorción de NPEO_x con diferentes unidades etoxiladas.
- ✓ Estudiar el efecto de la concentración de adsorbente en el proceso de adsorción.
- ✓ Analizar la adsorción selectiva de los diferentes oligómeros de NPEO_x sobre carbón activado y lignito
- ✓ Analizar la aplicabilidad de diferentes modelos de isothermas de adsorción
- ✓ Determinar las cinéticas de adsorción,
- ✓ Determinar los parámetros termodinámicos que caracterizan al sistema de adsorción.
- ✓ Proponer un mecanismo de adsorción que caracterice el sistema

5.1. Caracterización adsorbato

En este capítulo se analiza la remoción del contaminante (NPEO_x) en la fase líquida por adsorción en la fase sólida, denominada adsorbente. En este proceso la especie que se va a adsorber es el adsorbato, que en el estado adsorbido recibe el nombre de adsorbato. Los adsorbentes estudiados son carbón activado comercial y lignito, como alternativa de adsorbente de bajo costo.

En primer lugar, se determina la cantidad de tensioactivo adsorbida por unidad de área de superficie y el área ocupada por molécula, para cada una de las diferentes mezclas (NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}) mediante la aplicación de la ecuación de Gibbs.

Esto permite conocer la cantidad de área de adsorción requerida para producir la remoción del contaminante (NPEO_x) de la fase líquida.

Por otra parte, cuando los tensioactivos se encuentran en una concentración superior a concentración micelar crítica (CMC), las moléculas de éstos forman agregados moleculares denominados micelas y el fenómeno de adsorción puede sufrir alteraciones ya que las características del adsorbato se modifican. En esta sección se determina también la concentración micelar crítica (CMC) de las mezclas de NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}.

5.1.1 Ensayos experimentales

Para caracterizar las diferentes mezclas comerciales de NPEO_x se realizaron mediciones de la tensión superficial de mezclas de NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12} con concentración de $1 \cdot 10^{-8}$ a $1 \cdot 10^{-2}$ M. La metodología ha sido descrita en el Capítulo 2 “Materiales y Métodos”.

5.1.2. Concentración superficial de exceso y área por molécula de surfactante en la interfase

La Figura 5.1 muestra la variación de la tensión superficial en función del logaritmo de la concentración de los NPEO_x estudiados. Se pueden observar cualitativamente tres zonas bien diferenciadas. En la zona I, la tensión superficial no se modifica respecto del valor que corresponde al agua pura (72 dyn/cm). En esta primera zona (I), la gran mayoría de las moléculas de surfactante se adsorben en la superficie agua-aire y su concentración superficial crece rápidamente.

A partir de una cierta concentración de tensioactivo la tensión interfacial decrece linealmente con el logaritmo de la concentración. En esta segunda zona (II) la superficie está por lo tanto saturada y las moléculas de surfactante que se añaden deben solubilizarse en la fase acuosa, lo que es poco favorable desde el punto de vista energético, por la presencia del grupo no-polar C₉H₁₉.

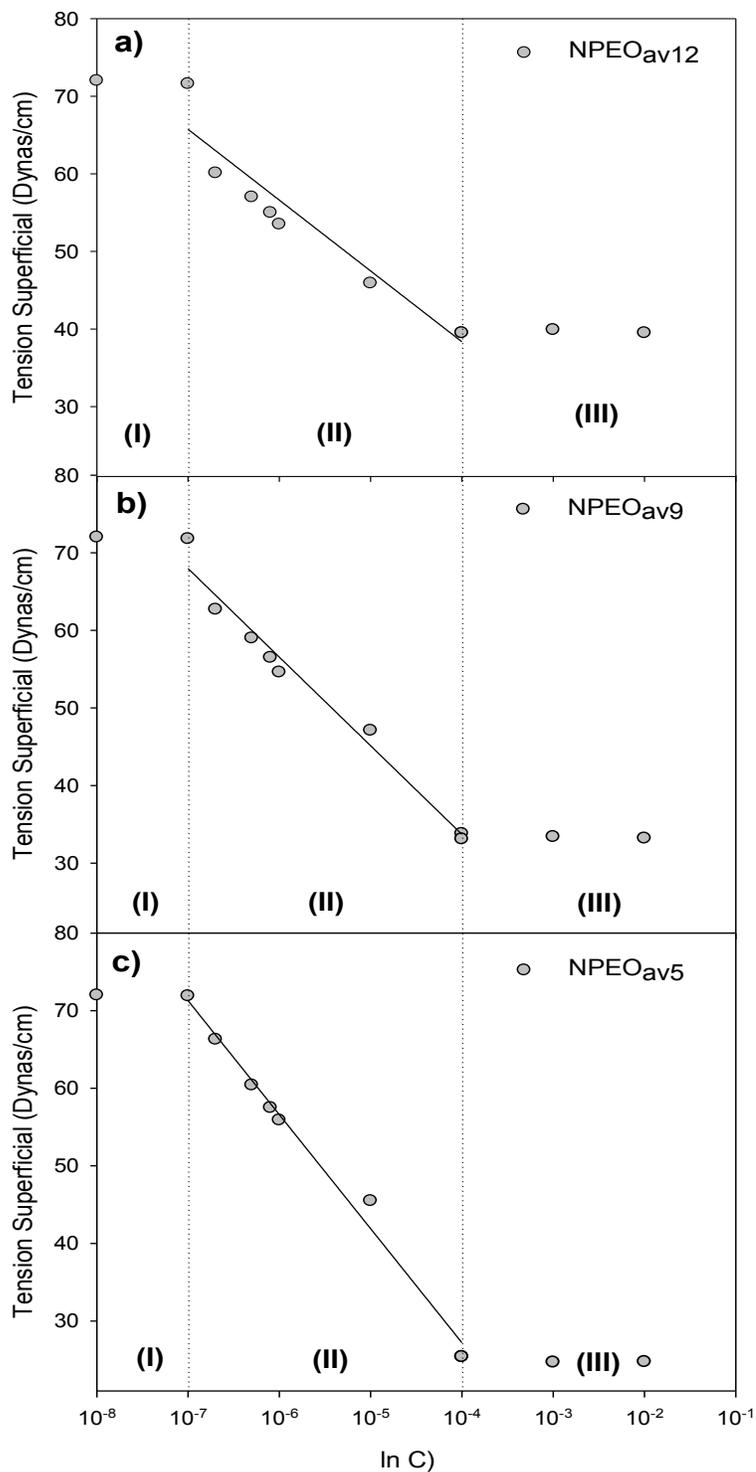


Figura 5.1. Tensión superficial en función de la concentración de los surfactantes donde se observan las zonas I, II y III de a) NPEO_{av12}, b) NPEO_{av9} y c) NPEO_{av5}

A partir de los datos de la Figura 5.1 se calculó la concentración superficial de exceso (Γ), que viene dada por la Isoterma de adsorción de Gibbs (Arias y col, 2009):

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \left(\frac{d\gamma}{d \ln C} \right)_{T,P} \quad (5.1)$$

donde Γ es concentración superficial de exceso (moles/m²), R es la constante de gases (J/mol·K), T es la Temperatura (K), C es la concentración (moles/L), γ en la en J/m² (1 dyn/cm = 10⁻³ J/m²)

En la Figura 5.1 se muestra la Tensión superficial en función del logaritmo de concentración de NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}, y la línea recta en la en la zona II indica la regresión lineal.

El área ocupada por mol es la inversa de la concentración superficial. Si se quiere calcular el área por molécula simplemente se debe dividir por el número de Avogadro

$$A = \frac{1}{\Gamma N} \quad (5.2)$$

Donde Γ es el valor de concentración superficial de exceso (moles / m²) calculada a partir de la ecuación de Gibbs usando el valor de $d\gamma/d(\ln C)$ justo debajo de la CMC siendo N el número de Avogadro. En la Tabla 5.1 se muestran los valores obtenidos de concentración superficial de exceso y el área ocupada por molécula.

Tabla 5.1: Concentración superficial de exceso y área por molécula de NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}

Tensioactivo	$\Gamma(\text{mol/m}^2)\times 10^6$	A(°A ²)
NPEO _{av5}	1.9 ± 0.2	87 ± 3
NPEO _{av9}	1.7 ± 0.1	105 ± 7
NPEO _{av12}	1.5 ± 0.1	118 ± 5

En la bibliografía consultada se pueden observar variaciones en los valores obtenidos de área por molécula. Calvo y col. (2009) determinaron el área por molécula de los tensioactivos comerciales de NPEO_x ramificados denominados (Tergitol) y obtuvieron un valor de área por molécula igual a 51 °A² para el NPEO_{av9} y 67 °A² NPEO_{av12}. Por otra parte, Atta y col. (2013) determinaron el área por molécula de tensioactivos comerciales de NPEO_{av10} reportando un valor de 97 °A². Estas variaciones se pueden deber a las variaciones que existen entre las diferentes mezclas comerciales utilizadas y a las diferentes condiciones de ensayo tales como la temperatura, por ejemplo (Atta y col., 2013).

Las dimensiones de las moléculas de los oligómeros mayoritarios de las mezclas comerciales estudiadas (NPEO_i), considerando una conformación molecular completamente estirada de la cadena alifática fue calculada con el software JSmol, el cual devuelve una representación tridimensional de una molécula y permite determinar la longitud de los enlace En la Figura 5.2 se muestra, a modo de ejemplo, una impresión de pantalla del programa utilizado para calcular las dimensiones moleculares, y en la Tabla 5.2. se muestran los resultados obtenidos.

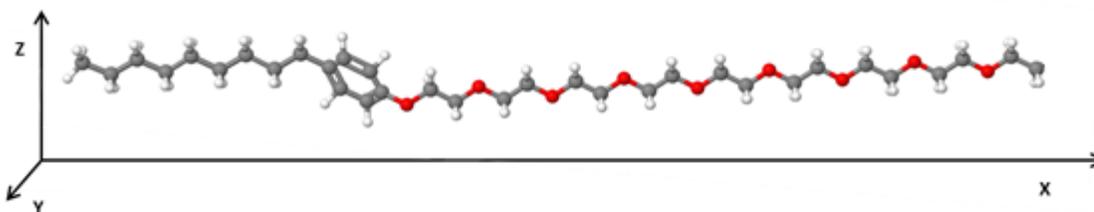


Figura 5.2: Esquema para el cálculo de dimensiones moleculares de NPEO₉

Tensioactivo	X (°A)	Y(°A)	Z(°A)
NPEO ₅	41.1	1.69	3.51
NPEO ₉	50.4	1.69	3.51
NPEO ₁₂	54.6	1.69	3.51

Tabla 5.3: Dimensiones de la molécula de NPEO_i

Según los valores de la tabla 5.3, el área de la molécula de NPEO₅, NPEO₉ y NPEO₁₂ en el plano XY, considerando una sección rectangular, resultan 69.4 °A², 85.2 °A², 92.3 °A², respectivamente. Estas áreas resultaron similares a las obtenidas mediante el ensayo experimental (Tabla 5.1).

La sección más pequeña corresponde a la proyectada por el plano YZ, que es igual a 5.9 °A² para NPEO₅, NPEO₉ y NPEO₁₂. La longitud máxima de dicha sección es 3.51 °A, por lo que en el caso de estructuras microporosas donde el diámetro nominal del poro sea del orden a 3.51 °A, las moléculas no podrán ser adsorbidas en la superficie del poro, incluso por su sección más pequeña.

5.1.3. Concentración Micelar Crítica

En la zona denominada III de la Figura 5.1, el tensioactivo alcanza la concentración micelar crítica (CMC), las interacciones entre moléculas del surfactante

comienzan a ser relevantes y la tensión superficial no se modifica con el aumento de la concentración del surfactante (Arias y col, 2009). Los valores obtenidos de la CMC son: 9×10^{-5} M, 1×10^{-4} M y 1.5×10^{-4} M para NPEO_{av12}, NPEO_{av9} y NPEO_{av5}, respectivamente. Atta y col. (2013) y Ricky y col. (2001) obtuvieron valores de 2.8×10^{-4} M y 5.7×10^{-5} M para la CMC de NPEO_{av10} y NPEO_{av12}, respectivamente. Las diferencias con los valores hallados en la presente Tesis se pueden deber a las diferentes condiciones de ensayo. Por otro lado, Anghel y Balcan (1999) han reportado valores de CMC para NPEO_{av8} y NPEO_{av12} de 1.26×10^{-4} M y 9.8×10^{-5} M. Estos autores han observado una leve disminución de CMC con el aumento de las unidades etoxiladas promedio y valores cercanos a los obtenidos en la presente Tesis.

Un factor que contribuye al cambio de la CMC (Porter, 1994) es la estructura hidrofóbica. Aunque los valores de CMC disminuyen a medida que aumenta la cadena hidrofílica, los mismos resultaron similares (valor promedio = 1.13×10^{-4} M \pm 0.32×10^{-4}), esto podría ser debido a que las mezclas comerciales estudiadas (NPEO_{av12}, NPEO_{av9} y NPEO_{av5}) tienen la misma cadena hidrofóbica.

5.2. Caracterización de los adsorbentes

La caracterización de un sólido mediante distintos métodos tiene como finalidad conocer la morfología y cómo está constituido cualitativamente. Esto permite predecir las propiedades de adsorción y determinar la cantidad de adsorbente requerido en los experimentos de adsorción. En la presente Tesis se determinó la distribución de tamaño de partícula, el Área Superficial, la Distribución del Tamaño de Poro, la composición y características superficiales del Carbón Activado y del Lignito utilizados como adsorbentes.

5.2.1 Ensayos experimentales

Para caracterizar los diferentes adsorbentes se realizaron isotermas de adsorción-desorción empleando el método de Brunauer-Emmett-Teller (BET) usando N₂ como adsorbato a 77 K.

Por otra parte, se determinó la distribución de tamaño de partículas por dispersión de luz dinámica (DLS) y por microscopía electrónica de barrido (SEM).

Para determinar las características químicas de los materiales adsorbentes se utilizó Espectroscopía Infrarroja (FT-IR) y medidas del potencial Z. La metodología ha sido descrita en el capítulo 2 “Materiales y Métodos”.

5.2.2. Tamaño de Partícula, Área Superficial, Distribución del Tamaño de Poro

En la Figura 5.3 se muestran las isotermas de adsorción y desorción de N₂ sobre la muestra de lignito y carbón activado. La separación observada entre la isoterma de adsorción y la de desorción se presenta en determinadas estructuras porosas donde la condensación capilar se produce a una presión diferente a la que se produce la evaporación en el poro, ocasionándose lo que se denomina como ciclo o lazo de histéresis en la isoterma de adsorción-desorción.

La isoterma de adsorción de N₂ sobre la muestra de lignito (Figura 5.3a) se superpone aproximadamente sobre la isoterma de desorción, mientras que la isoterma de adsorción-desorción de N₂ sobre la muestra de carbón activado (Figura 5.3b) muestra un lazo de histéresis a altas presiones.

En la literatura podemos encontrar un gran número de isotermas de adsorción de nitrógeno medidas sobre una amplia variedad de sólidos porosos. A pesar de tal diversidad, la mayoría de estas isotermas pueden ser agrupadas convenientemente en seis clases según la clasificación de la IUPAC como se mencionó en Capítulo 1.

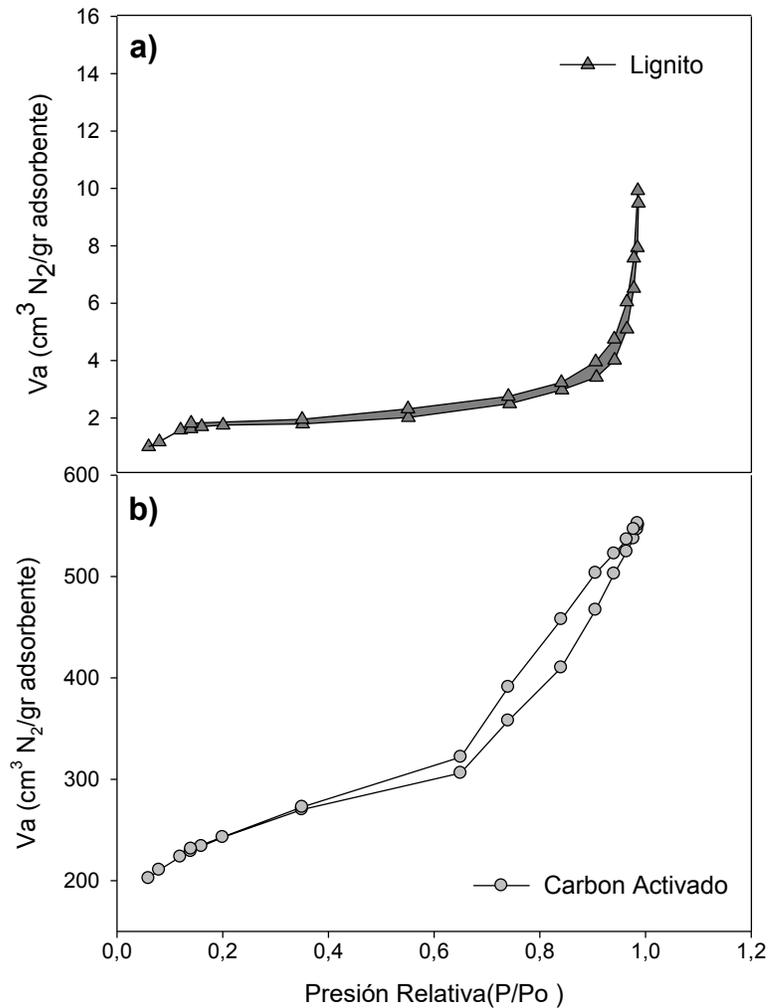


Figura 5.3. Isothermas de adsorción de nitrógeno de: a) Lignito y b) Carbón Activado

Según la clasificación de la IUPAC, la isoterma de adsorción obtenida para el lignito (Fig. 5.3a) es una isoterma tipo II, que corresponde a adsorción en mono y multicapa en sólidos no porosos o macroporosos con alta heterogeneidad superficial. Son isothermas cóncavas respecto al eje de las abscisas a presiones relativamente bajas, y convexas para valores elevados. En este caso, la separación máxima entre las curvas de adsorción y desorción es de $1.175 \text{ cm}^3 \text{ N}_2/\text{gr adsorbente}$ que ocurre a presión relativa 0.980 ± 0.005 , por lo que se considera poco significativa comparada con la observada en la Figura 5.3b. Esto indica que los fenómenos de histéresis resultan poco pronunciados en las isothermas de adsorción-desorción de N_2 sobre la muestra de lignito (Sánchez Soto, 2009). Por otro lado, según la clasificación de la IUPAC la isoterma de adsorción obtenida para el carbón activado (Fig. 5.3b) corresponde a una isoterma tipo IV. A bajas presiones

es similar a la isoterma de Langmuir. En esta zona, las moléculas son adsorbidas llenando los microporos (poros menores a 20 Å) del material. Este comportamiento es típico de los carbones activados (Martín-Martínez, 1990). Sin embargo, una vez que se llenan los microporos, se observa un ciclo de histéresis que es típica de los sólidos mesoporosos (20 Å y 500 Å). Por lo tanto, la isoterma de adsorción de N₂ sugiere que la muestra de carbón activado comercial tendría una estructura microporosa y que además posee poros de tamaño intermedio o mesoporos.

La cantidad de gas adsorbido por la muestra es proporcional a la masa de la muestra y la condensación capilar es la fase final del proceso de adsorción de un vapor en un sólido poroso y permite determinar la distribución de tamaños de poros en los sólidos. Esto es posible gracias al efecto que produce la curvatura de la interfase sobre la presión de condensación del vapor. En la Tabla 5.3 se presentan el área superficial, el volumen de los poros y el tamaño de los poros para cada adsorbente.

Tabla 5.3. Área Superficial, Volumen de Poro y Tamaño de Poro de los adsorbentes

Adsorbente	BET Área Superficial (m ² /g)	Volumen de Poro (cm ³ /g)	Diámetro promedio de Poro (Å)
Carbón Activado	854.30	0.845	39.50
Lignito	5.93	0.012	82.80

Se utilizó el método propuesto por Barret, Joyner y Halenda (BJH) (Barrett, Joyner y col., 1951), descrito en la Sección 2.4.3.3 del Capítulo 2 para determinar la distribución de tamaños de poros de sólidos la muestra de carbón activado, que presenta meso y microporos . Esto no se hizo para lignito porque no tiene una estructura macro o mesoporosa (según la isoterma de N₂).

Se asume que los poros de carbón activado tienen una geometría cilíndrica, y en la Figura 5.4 se muestra el porcentaje de la superficie total del carbón activado que se corresponde a un diámetro promedio de poro determinado.

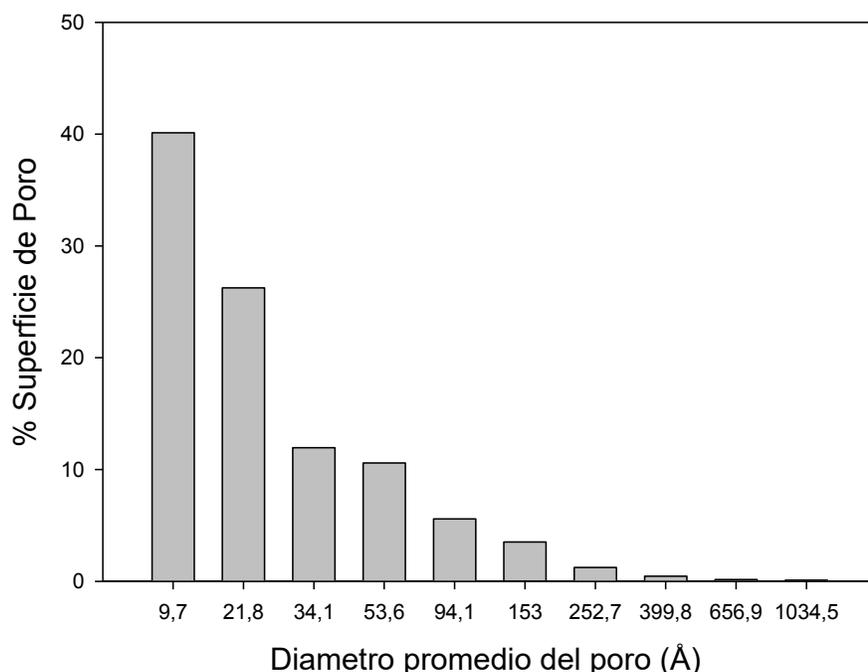


Figura 5.4. Distribución del área de poro de muestras de carbón activado

El área de la superficie total de carbón activado resultó 854.3 m²/g. Sin embargo, la distribución del área de poros (Figura 5.4) muestra que el 40.1% del área de los poros tienen un diámetro medio de 9.7 Å°. En la Sección 5.1.3 se observó que la sección más pequeña de la una molécula de NPEO_i (YZ) es aproximadamente 5.9 Å² que, si la sección fuese un círculo, tendría un diámetro equivalente cercano a de 3 Å°. Es decir, el diámetro medio de los poros más pequeños del Carbón activado es del orden de la sección más pequeña de la molécula de NPEO_i. Por lo tanto, en principio, no se considera adecuado para que ingresen dichas moléculas y para calcular el área disponible para la adsorción solo se considerara el 59.9% (100%-40.1%) de la superficie total.

5.2.3. Distribución de tamaño de partículas

La técnica de Dispersión Dinámica de Luz (DLS) mide las fluctuaciones en la intensidad de dispersión con el tiempo para determinar el diámetro de hidrodinámico de las partículas. Cuando un medio líquido mueve una partícula dispersa, la mayoría de veces se adhiere una capa eléctrica dipolar a su superficie. Debido a que esta capa influye en el movimiento de la partícula, en la dispersión de luz dinámica (DLS) el

diámetro medido de la partícula, que se conoce como hidrodinámico, es decir el diámetro de la partícula seca (determinado por microscopia) más la capa eléctrica (Goldbur, 1999.)

La Figura 5.5 ilustra la distribución del tamaño de partículas adsorbentes determinado mediante DLS, descrita en la Sección 2.4.3.1 del Capítulo 2.

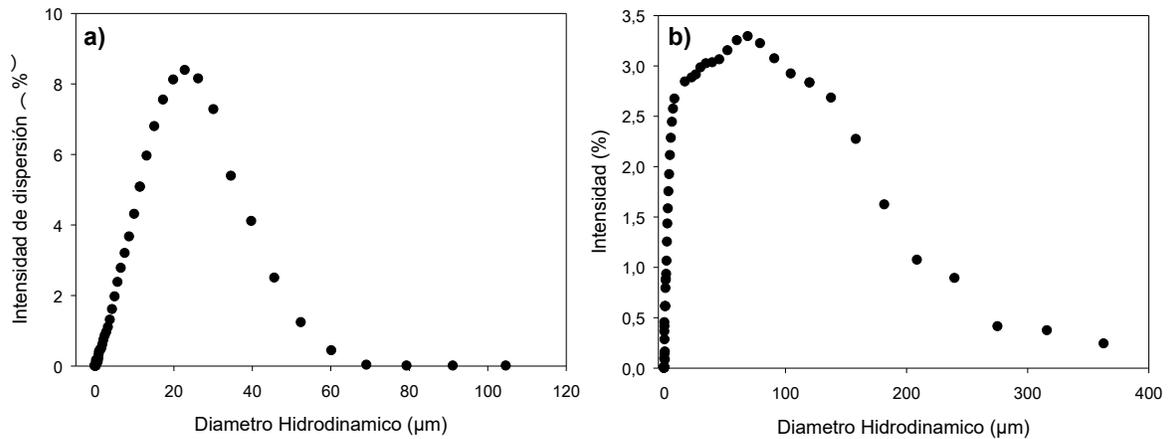


Figura 5.5. Distribución de tamaño de partícula de: a) Carbón Activado y b) Lignito

El diámetro de partícula medio de carbón activado determinado por DLS fue de 22.9 μm, mientras que el tamaño de partícula nominal de lignito fue de 69.1 μm. La microscopia electrónica de barrido (SEM) se utilizó para comprobar el tamaño de las partículas (Figura 5.6). Las observaciones de SEM mostraron que las partículas de lignito tenían una morfología heterogénea, con un tamaño de las partículas menor de 40 μm, menor que la determinada por DLS; mientras que las partículas del carbón activado tenían un tamaño semejante al valor obtenido por DLS. Esto se debe a que el tamaño hidrodinámico, calculado por DLS, resulta mayor que el tamaño de partícula seca (como se explicó en el 2.4.3.1.), y es más pronunciado en el caso del lignito ya que dispersión de las muestras de lignito no era buena debido a la aglomeración de las partículas.

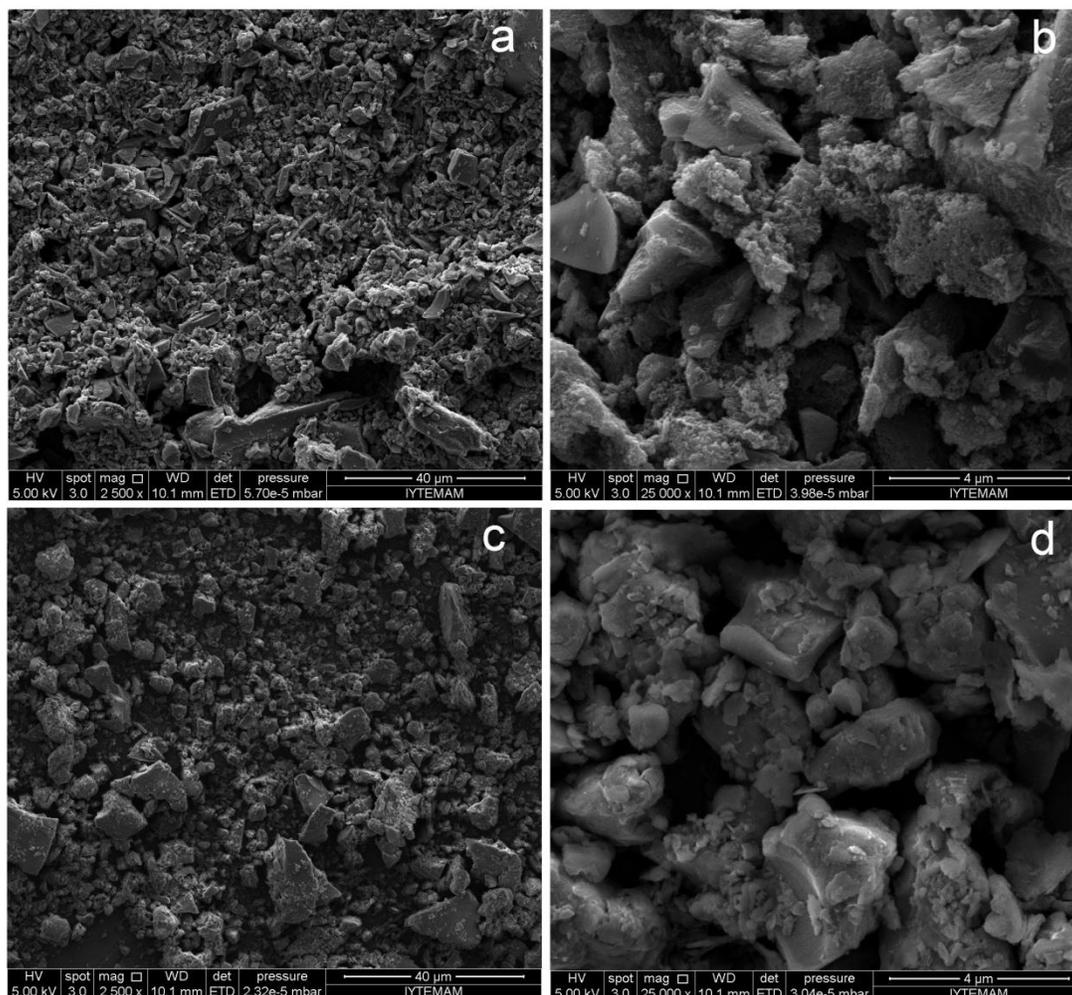


Figura 5.6. Imágenes SEM de a) y b) Carbón Activado c) y d) Lignito

5.2.4. Caracterización superficial

Con el fin de detectar los grupos funcionales presentes en los adsorbentes, se analizaron muestras de carbón activado (Figura 5.7) y del lignito (Figura 5.8) por FTIR. En el espectro del carbón activado se destacan por su intensidad relativamente mayor las señales a 3345, 1580 y 1160 y 1080 cm^{-1} , asignadas a los grupos O-H, C=O, C-OH y C-O respectivamente. Todas estas bandas son características en materiales lignocelulósicos, coherentes con un carbón activado de origen vegetal (Ahmad y col., 2007; Elizalde y col., 2007; Gómez-Serrano y col., 2005).

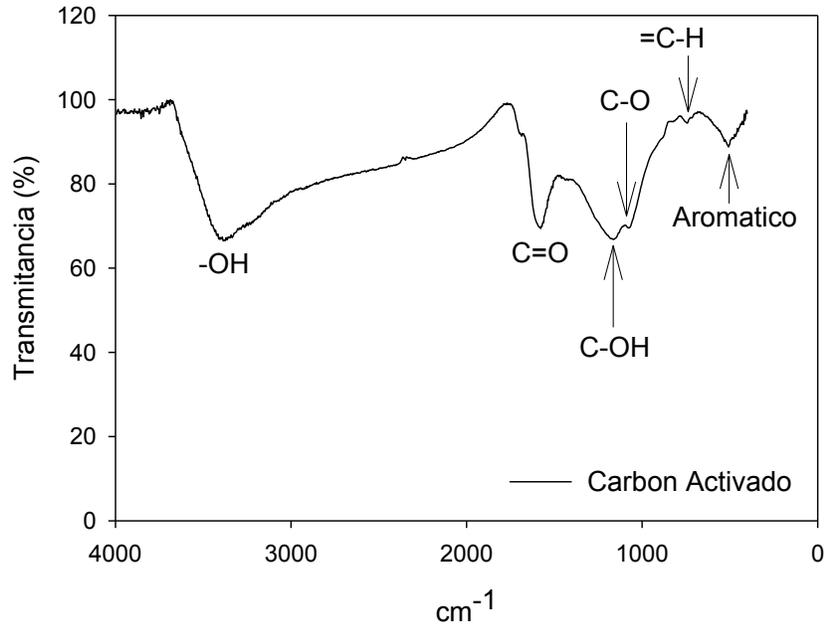


Figura 5.7. Espectro FT- IR para el carbón activado

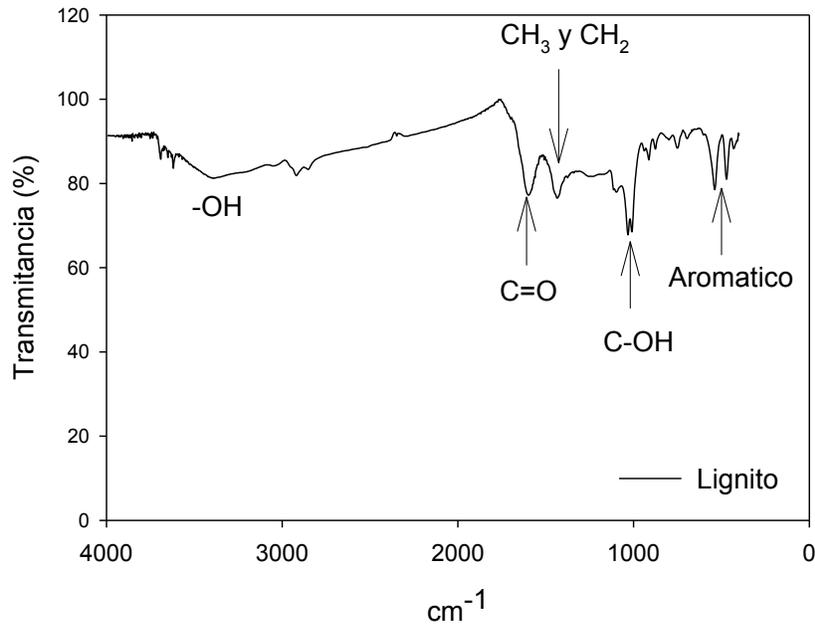


Figura 5.8. Espectro FT- IR para el lignito

La muestra de lignito muestra un espectro más complejo acorde con un material crudo. Se observa un pico de adsorción en 3360 cm^{-1} , que corresponde al estiramiento del grupo funcional O-H. Un fuerte pico de C=O se pudo observar en 1577 cm^{-1} . Este ejemplo

también muestra dos picos de absorción importantes en $1006-1004\text{ cm}^{-1}$ que representan el estiramiento del grupo funcional C-O. Los resultados indican que se tienen carbones esencialmente de carácter poli-aromático donde los grupos funcionales que prevalecen son: O-H unido a un anillo aromático, de mayor concentración en el caso del carbón activado que del lignito, lo cual se deduce por la disminución de la intensidad de las bandas C=C, C-C y C-H de anillos aromáticos y C=O de diversa naturaleza. En el caso del lignito están presentes también los grupos CH_3 ligados a grupos C=O. Estos grupos funcionales son responsables de la reactividad química de la superficie del carbón. Esta reactividad afecta las propiedades adsorbentes del carbón y éste puede considerarse hidrófobo, lo que facilita su aplicación en adsorción de especies en solución acuosa, de preferencia moléculas apolares (Martín, 1990). Sin embargo, la presencia de grupos hidroxilo, carbonilo y carboxilo los convierte parcialmente en hidrófilo (Menéndez y Martín Guillón, 2006). La forma y el comportamiento que adopten estos grupos, que pueden interactuar entre ellos, estará afectado además por el pH de la solución en el proceso de adsorción (Rodríguez Reinoso y Molina Sabio, 2004).

El pH del punto cero de carga de los carbones activados se determinó utilizando el método de medición de Potencial Zeta (Z) con variación de pH. Las disoluciones de se ajustaron a valores de pH comprendidos entre 3 y 8 por adición de disoluciones de HCl y NaOH. En la Figura 5.9 se muestra como varía el potencial zeta en función del pH para los adsorbentes.

El pH al cual la curva corta la línea de $Z=0$ se tomó como el punto cero de carga o punto isoeléctrico (pH_{PZC}). Para la muestra de carbón activado se observa a $\text{pH}=3$, un valor alto de + 24 mV de potencial, el cual decrece hasta un valor cero a medida que aumenta el pH hasta 6,9; que corresponde al pH_{PZC} . Una tendencia similar se observa para la muestra de lignito, la cual presenta un punto isoeléctrico a un pH de 5,75. Si se observan los valores de pH_{PZC} del carbón activado y del lignito se puede ver que ambos son de naturaleza neutra o ligeramente ácida. Estos valores de pH_{PZC} hacen que al pH de los experimentos de adsorción (pH neutro cercano a 7.0), la superficie del carbón activado presente densidad de carga nula mientras que el lignito presenta una densidad de carga ligeramente negativa. De acuerdo con las características no iónicas del surfactante, predominan las fuerzas de dispersión de London en la adsorción de NPEO_x sobre carbones (Kosmulski, 2009). Los valores de pH_{PZC} de los carbones están íntimamente

relacionados con las concentraciones de los diferentes grupos superficiales, descritos en la sección 5.2.4.

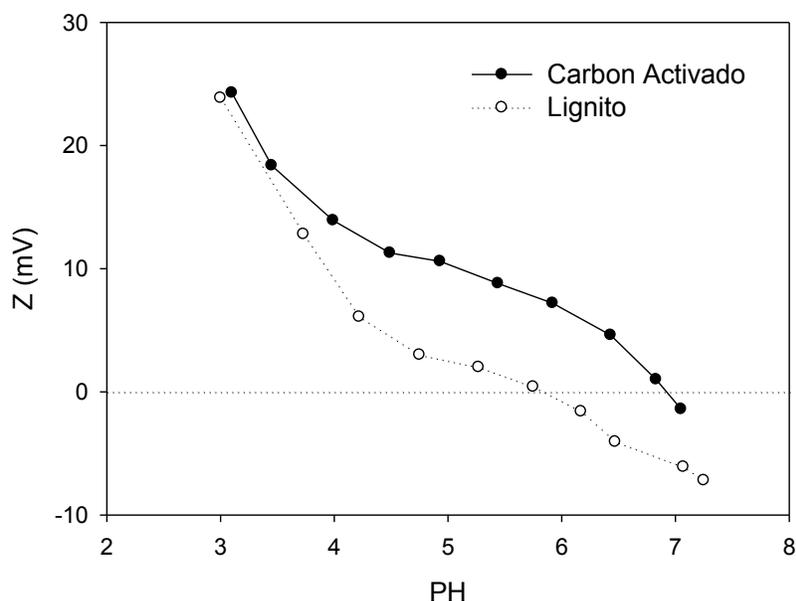


Figura 5.9. Efecto del pH sobre el Potencial Zeta de los mejores carbones activados

5.3. Caracterización del proceso de adsorción

En la presente sección se analizó el porcentaje de remoción de las diferentes mezclas comerciales de NPEO_x por adsorción con carbón activado y lignito. Se observó cómo afecta la longitud de la cadena etoxilada en el proceso de adsorción, se determinó cómo varía el porcentaje de eliminación de NPEO_x con diferentes concentraciones de los adsorbentes y cómo varía la distribución de oligómeros. Asimismo, se analizaron las interacciones entre superficies sólidas y moléculas de NPEO_x.

5.3.1. Ensayo experimental

Se realizaron estudios de los porcentaje de remoción a diferentes intervalos de tiempo en batch a temperatura controlada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) y a pH 7.0 cómo se describió en el Capítulo 2 (sección 2.2). En un Erlenmeyer de 250 ml se colocó una masa conocida de adsorbente (carbón activado o lignito) y 100 ml de solución NPEO_x y se agitó continuamente. Las alícuotas de las muestras se tomaron a intervalos de tiempo preestablecidos de 10, 30 minutos, 1, 3, 6, 24, 30 y 48 horas. Estas suspensiones se

filtraron y se analizaron las concentraciones residuales de NPEO_x total (C_{NPEO_x}) y los oligómeros individuales por HPLC de las soluciones de sobrenadante (C_{NPEO_i}). Asimismo, se realizaron también pruebas con diferentes concentraciones de materiales adsorbentes de carbón activado y lignito y 100 ml de solución 300 mg NPEO_x/L. Luego de 48 hs, estas suspensiones se filtraron y se analizaron las soluciones de sobrenadante.

Para determinar las interacciones entre superficies sólidas y moléculas orgánicas, se compararon las medidas de Potencial Z en función del pH en presencia y ausencia del tensioactivo y las medidas espectroscópicas IR obtenidas en la sección 5.2.4 con las obtenidas al concluir el proceso de adsorción de 300 mg/L de NPEO_{av5} y NPEO_{av9} en carbón activado y lignito.

5.3.2. Efecto de tipo de adsorbato

La determinación precisa de la superficie de los adsorbentes (Sección 5.2.2) permitió estimar la cantidad necesaria de adsorbentes para los experimentos batch como según la ecuación 5.3.

$$\left(\frac{\text{gr adsorbente}}{\text{mol}}\right) = \frac{1}{\text{BET Área Superficial} \left(\frac{\text{m}^2}{\text{gadsorbente}}\right) \cdot \Gamma \left(\frac{\text{mol}}{\text{m}^2}\right)} \quad (5.3)$$

La cantidad de adsorbentes necesarios, calculados según la ecuación 5.3, para los distintos adsorbatos se presentan en la Tabla 5.4, considerando para el caso del carbón activado un 59.9% de la superficie total, según lo discutido en la sección 5.2.2.

Tabla 5.4. Cantidad de adsorbentes necesarios, calculados según la ecuación 5.3

Cantidad (g adsorbente/mmol NPEO _x)		
Adsorbato	Carbón Activado	Lignito
NPEO _{av5}	1.1	94.7
NPEO _{av9}	1.2	100.9
NPEO _{av12}	1.3	110.0

En base al cálculo promedio de la cantidad de carbón requerido, mostrado en la Tabla 5.4, los ensayos de adsorción se realizaron utilizando 0.06 g de carbón activo y 5 g de lignito para adsorber 100 mL de soluciones 300 mg/L de NPEO_{av5} (0.68 Mm), NPEO_{av9} (0.48 mM) y NPEO_{av12} (0.40 mM). Se midió la concentración total del adsorbato remanente en diferentes intervalos de tiempo por HPLC y se calculó el porcentaje de remoción, que es función de la concentración inicial y final de NPEO_x total en solución (C_{NPEOx}^i y C_{NPEOx}^f), según la ecuación 5.4. Estos experimentos se presentan en la Figura 5.10 a y b.

$$\% \text{Remoción} = \frac{C_{NPEOx}^i - C_{NPEOx}^f}{C_{NPEOx}^i} \cdot 100 \quad (5.4)$$

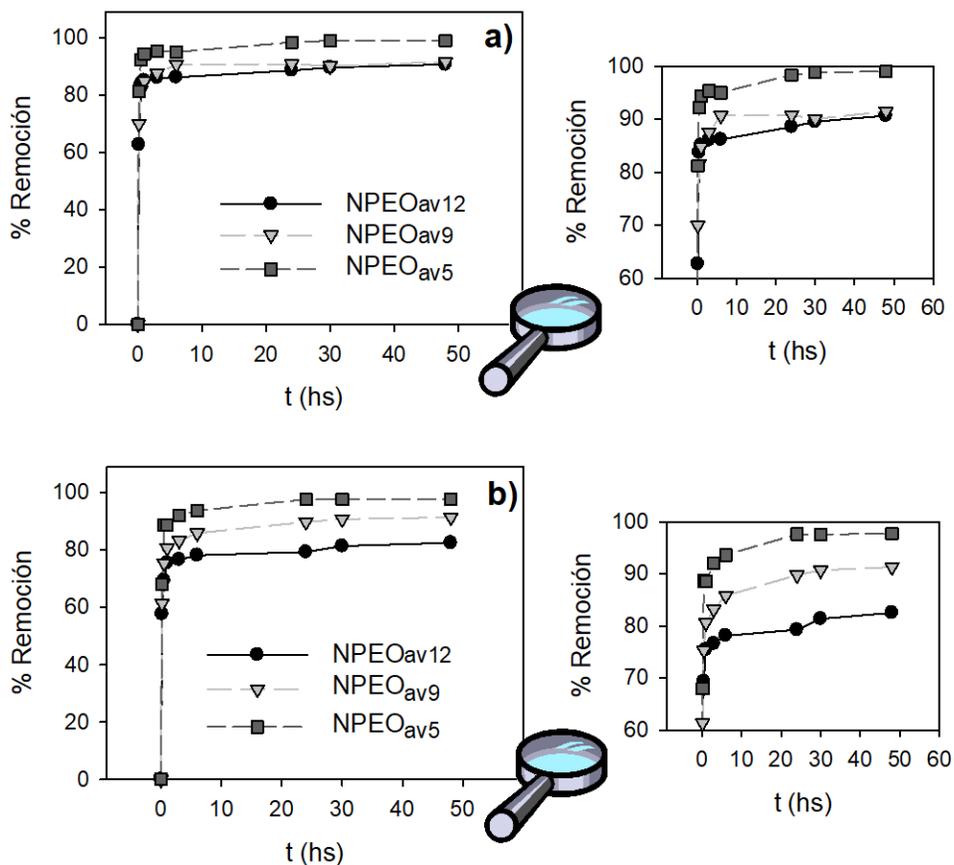


Figura 5.10. Adsorción NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12} en a) Carbón activo b) Lignito en función del tiempo de contacto

La adsorción de 300 mg/L de NPEO_{av5} sobre carbón activado resultó en un porcentaje de remoción de 99.0%, en aproximadamente 50 horas (Figura 5.10a). Las

adsorciones de 300 mg/L de NPEO_{av9} y NPEO_{av12} con mayores proporciones de grupos etoxilados, permanecieron alrededor del 91.4% y 90.6%, respectivamente. En el caso del lignito (Figura 5.10b), los porcentajes de adsorción fueron inferiores, alrededor de 91.3 % para NPEO_{av9} y el 82.5% para NPEO_{av12}.

Se advirtieron diferencias en las afinidades de adsorción de los diferentes adsorbatos. Se obtuvieron porcentajes de remoción de acuerdo al siguiente orden: NPEO_{av5} > NPEO_{av9} > NPEO_{av12}. Considerando los valores de coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}) de los compuestos estudiados, como una medida de su hidrofobicidad, y que estos disminuyen progresivamente con el aumento de la longitud de la cadena etoxilada (Tabla 1.3 Capítulo 1), es coherente que NPEO_{av5} presente una mayor adsorción, como consecuencia de su mayor afinidad hacia el adsorbente (también de naturaleza hidrófoba). Narkis y Ben-David (1985) analizaron la adsorción sobre carbón activado y una arcilla mineral de tensioactivos no iónicos de NPEO_x de cadena ramificada, con cadenas etoxiladas que variaban de 4 a 30 unidades de grupos de óxido de etileno (EO_x) por molécula. Los autores concluyeron que las eficiencias de la adsorción de estos compuestos orgánicos crecieron con su solubilidad reducida en solución acuosa y dependían de la naturaleza del adsorbente. A medida que crece la longitud de la cadena etoxilada la solubilidad del agente tensioactivo en el agua aumenta, su afinidad hacia el adsorbente hidrófobo disminuye y muestra una menor disposición a abandonar el medio acuoso.

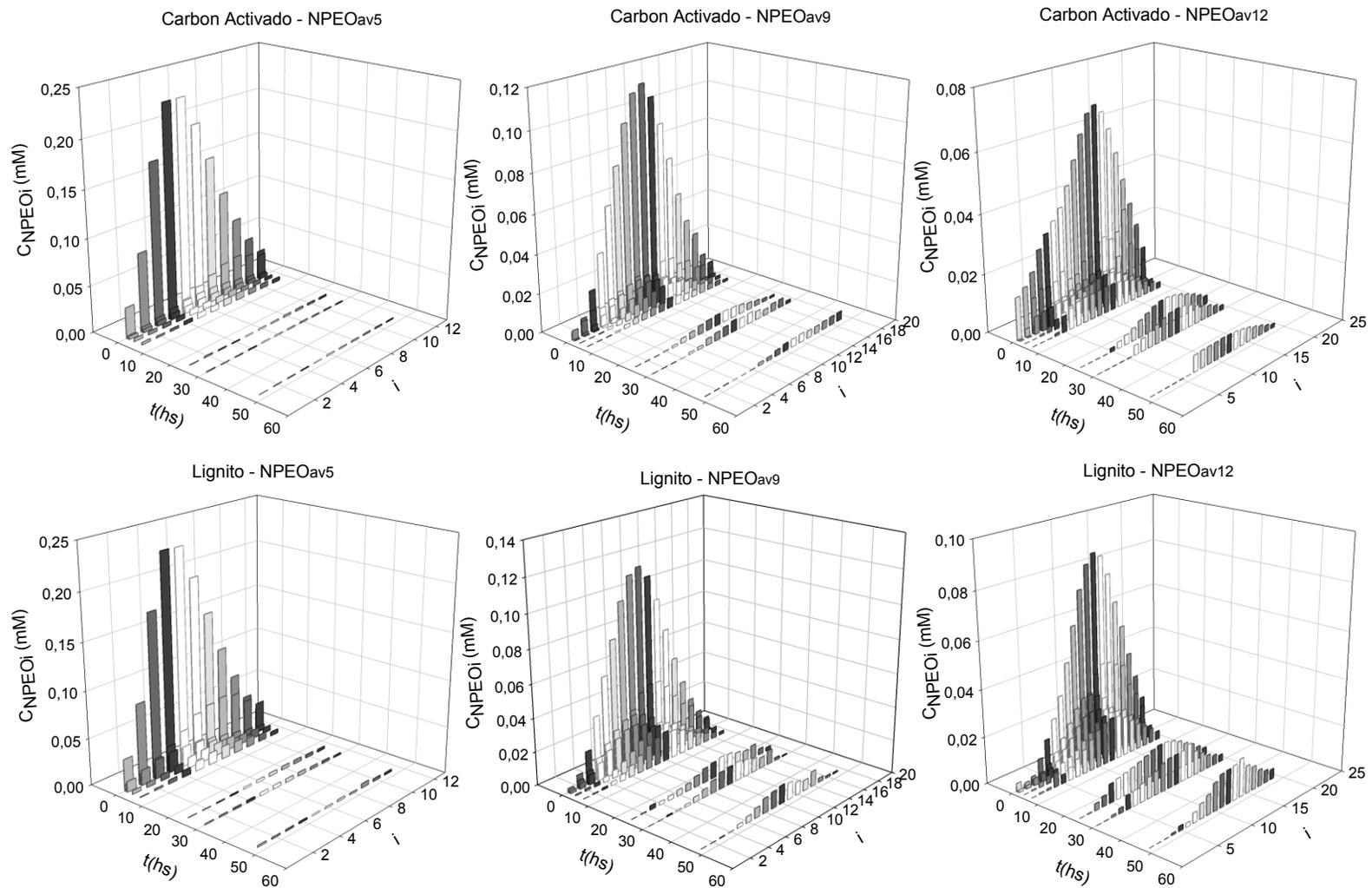
El carbón activado resultó más eficiente que el lignito en la remoción de los NPEO_x ensayados. El mayor porcentaje de remoción para un NPEO_x dado utilizando carbón activado respecto a lignito observado podría deberse a la composición que presenta el carbón activado, el cual presenta menos impurezas que el lignito y a la presencia de grupos funcionales debido a la procedencia del carbón y al proceso de activación que permiten asociarse más eficientemente al carbón activado que al lignito (Yang y col., 2009). Asimismo, la superficie de carbón activado presenta abundantes poros (Sección 5.2.3), cuya área superficial no fue considerada para el cálculo de la adsorción. Por lo tanto, el alto rendimiento de remoción de NPEO_x en carbón activado comparado con lignito podría atribuirse a la ocupación de NPEO_x en estos intersticios (Jagtoyen y Derbyshire, 1998).

Si bien se observó una tendencia de mayor porcentajes de remoción de las mezclas comerciales con menor x , es necesario señalar que el máximo porcentaje de remoción de NPEO_{av9} y NPEO_{av12} en carbón activado resultaron similares (91.4% y 90.6%, respectivamente), mientras que la eficiencia de remoción de NPEO_{av5} en ese adsorbente fue mayor (99.0%). En la sección 5.1 se mostró que el área de las moléculas de los tensioactivos estudiados aumentan en orden NPEO_{av5}<NPEO_{av9}<NPEO_{av12} y por ende el área ocupada por moléculas de NPEO_x en la superficie de carbón activado debería aumentar con el aumento de x (Liu y col., 2006), sin embargo moléculas más pequeñas podrían ser adsorbidas en los pequeños poros de los adsorbentes (Yuan y col., 2008) generando una mayor eficiencia de remoción de NPEO_{av5} comparado con NPEO_{av9} y NPEO_{av12}. Esto indicaría que la mayoría de las moléculas que componen la mezcla comercial NPEO_{av5} son capaces de penetrar los poros del carbón, mientras que las que componen a NPEO_{av9} y NPEO_{av12} no podrían.

El ensayo de adsorción se repitió modificando el pH de la solución y se observó que a pH= 4 el porcentaje de adsorción de 300 mg/L de NPEO_x en carbón activado y lignito se mantuvo constante (89.3% y 87.6% respectivamente). Cuando el pH de la solución se elevó a 12 los porcentajes de remoción de 300 mg/L de NPEO_{av9} se redujeron drásticamente a 45.9% en carbón activado y %41.1 en lignito. Es decir, que la adsorción de estos tensioactivos no iónicos es independiente del pH en las regiones de pH ácido y neutro, mientras que disminuye al aumentar el pH en soluciones alcalinas. Resultados similares fueron reportados por varios autores (Narkis y Ben-David, 1985; Celik y Yoon, 1991, Yang y col., 2009). Esto podría indicar que el OH terminal de los NPEO_x se disocia a pH 12, con lo cual las moléculas tendrían carga negativa. Como el pH_{PZC} de ambos adsorbentes es menor a 12, los adsorbentes también estarían cargados negativamente, lo que dificultaría la adsorción de las moléculas (Celik y Yoon, 1991).

5.3.3. Adsorción selectiva de oligómeros individuales

En la Figura 5.10 se mostró el porcentaje de remoción de NPEO_x durante el proceso de adsorción sobre carbón activado y lignito. Al tratarse de muestras polidispersas la capacidad de los adsorbentes de retener a cada uno de los oligómeros individuales no es la misma. En la Figura 5.11 se muestra cómo varía la concentración de cada uno de los oligómeros de surfactantes con promedio 5, 9 y 12 grupos etoxilados cuando son adsorbidos por carbón activado y lignito.



5.11. Distribución de oligómeros individuales y efecto del tiempo durante el proceso de adsorción de NPEO_x en los adsorbentes estudiados

Se puede ver en la Figura 5.11 que existe una clara adsorción selectiva hacia NPEO_i de cadena corta y este fenómeno es más pronunciado en las muestras con un promedio mayor de unidades etoxiladas. Esto implicaría, que si solo se utiliza el tratamiento fisicoquímico para remover NPEO_x del agua, al finalizar el proceso de adsorción en una sola etapa, queda un pequeño remanente de NPEO_x , pero constituido principalmente por oligómeros de cadena larga. Esto generaría un inconveniente, ya que estos oligómeros se podrían transformar en el ambiente a NPEO_x de cadena corta (Ivanković y Hrenović, 2010; Mao y col., 2012; Lara-Martín y col., 2012), cuyos efectos de alteración endócrina ya han sido descritos en la presente tesis.

Por otra parte, como el tratamiento biológico estudiado en el Capítulo 4 produce NPEO_x de cadena corta, y el proceso de adsorción en carbones favorece la adsorción de dichos oligómeros, por lo que el tratamiento por adsorción con carbones resultaría un sistema complementario o tratamiento terciario adecuado para el remoción de NPEO_x de aguas residuales.

5.3.4. Efecto de la concentración de adsorbente

Se realizaron experimentos de adsorción utilizando diferentes concentraciones de materiales adsorbentes de carbón activado y lignito, para determinar la cantidad de adsorbente requerido para el proceso de adsorción, y los resultados se presentan en la Figura 5.12.

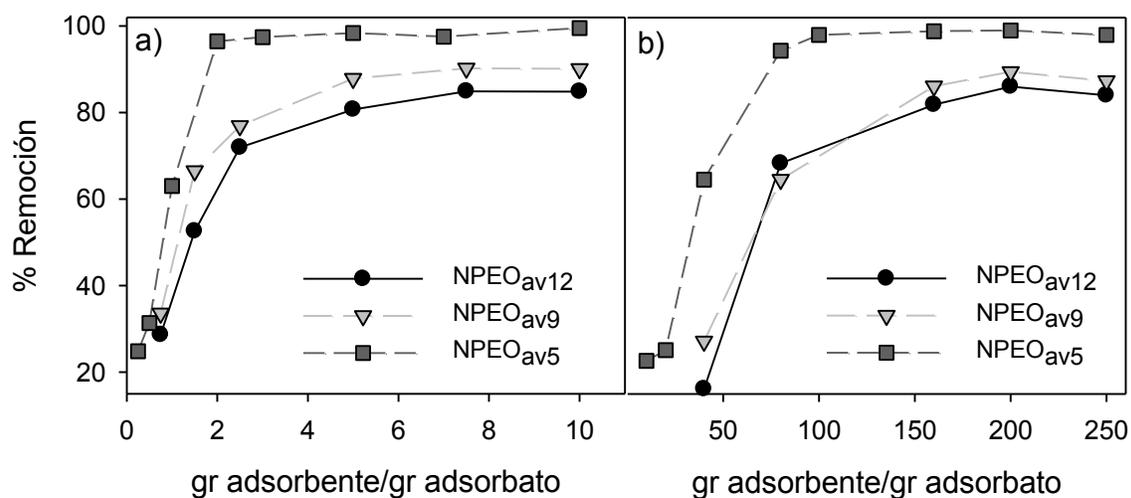


Figura 5.12. Porcentaje de remoción de NPEO_x con diferentes concentraciones de a) Carbón activo b) Lignito

La figura 5.12 revela un aumento en la remoción de NPEO_x cuando la cantidad de adsorbente se incrementa, lo cual está vinculado como el resultado de la mayor cantidad de sitios disponibles para la adsorción (Yuan y col., 2008). La remoción máxima en una etapa de $\text{NPEO}_{\text{av}5}$ se obtuvo con 2 g de carbón activado por gramo de adsorbente. Mientras, la remoción máxima de $\text{NPEO}_{\text{av}9}$ y $\text{NPEO}_{\text{av}12}$ se logró con 7.5 g de carbón activado por gramo de adsorbato.

Es decir, se requieren 3.75 veces más carbón activado para remover $\text{NPEO}_{\text{av}9}$ y $\text{NPEO}_{\text{av}12}$ que la que se necesita para remover la misma concentración de $\text{NPEO}_{\text{av}5}$ en una etapa.

Con relación al lignito, en términos generales se requirieron mayores cantidades de adsorbente respecto del carbón activado. Para obtener un 97% de remoción de $\text{NPEO}_{\text{av}5}$ en una etapa, se requirieron 100 g de lignito por gramo de adsorbato, mientras que para la remoción de 85% de $\text{NPEO}_{\text{av}9}$ y $\text{NPEO}_{\text{av}12}$ fueron necesarios entre 160 y 200 gramos de lignito por gramo de adsorbato. Es decir, que la cantidad de lignito necesaria disminuye a valores cercanos a la mitad cuando se quiere remover, en una única etapa, de una solución acuosa un NPEO_x con menos unidades etoxiladas.

Comparando entre el Carbón activado y el Lignito, es necesario cuadruplicar la cantidad de carbón activado para lograr la adsorción de $\text{NPEO}_{\text{av}12}$ respecto de la que se requiere para adsorber $\text{NPEO}_{\text{av}5}$, mientras que para el caso del lignito solo se requiere el doble para lograr la máxima adsorción de $\text{NPEO}_{\text{av}12}$ en relación a $\text{NPEO}_{\text{av}5}$. Esto indicaría que las estructuras micro y mesoporosas como el carbón activado, presentan una menor eficiencia en la remoción por adsorción de moléculas voluminosas, como los NPEO_x con largas cadenas etoxiladas, en comparación con sólidos con poros de mayor tamaño como el lignito. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Liu y col. (2006) y Yuan y col. (2008).

5.3.5. Interacciones entre superficies sólidas y moléculas de NPEO_x

Los resultados de las mediciones de Potencial Z en función del pH del carbón activado y lignito obtenidas en agua y en presencia de 300 mg/L de $\text{NPEO}_{\text{av}9}$ y $\text{NPEO}_{\text{av}5}$ se muestran en la Figura 5.13.

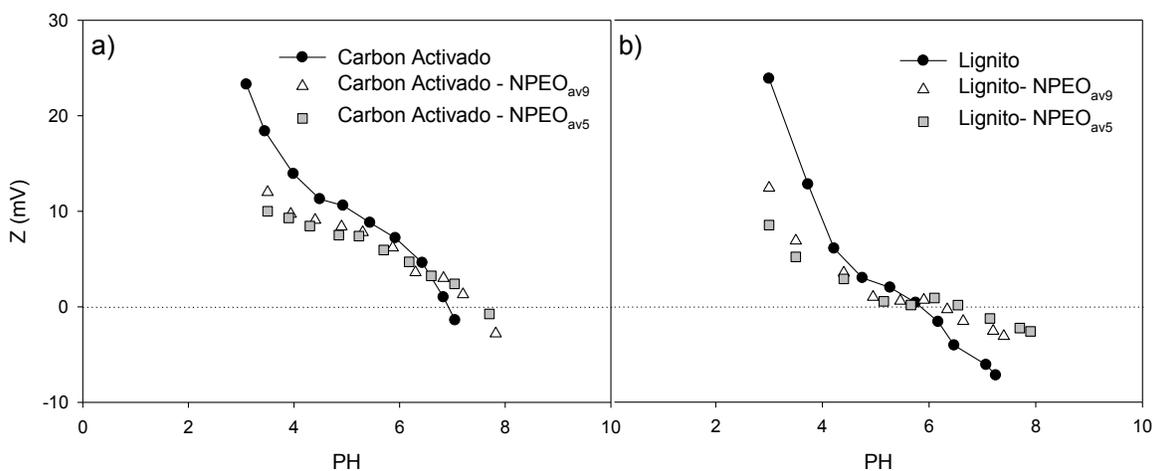


Figura 5.13. Variación del potencial Z del a) carbón activado y b) Lignito en presencia de NPEO_x y en agua

En ausencia de tensioactivos no iónicos, la muestra de carbón activado exhibió un pH_{PZC} a pH 6.9, como se explicó en la sección 5.2.4. En presencia de 10^{-4} M NPEO_{av9}, sin embargo, el PZC se desplazó a pH 7.6. Para el caso del lignito se observó una tendencia similar. Soria-Sánchez y col (2010) hicieron una observación similar con carbón vegetal y concluyeron que la mayor adsorción a pH ácido se debe a la unión hidrógeno entre los grupos ácidos de la superficie del carbón y los oxígenos del éter de la cadena de EO_x. La disminución de la adsorción a pH alcalino se puede atribuir a la hidrofobicidad decreciente del carbón.

La figura 5.13 muestra también que las diferencias en un grupo EO_x no influyeron significativamente en el comportamiento de la carga, ya que la variación del potencial Z del adsorbente en soluciones de NPEO_{av9} y NPEO_{av5} fueron similares, lo que indicaría que la principal fuerza impulsora para la adsorción es probablemente la energía de interacción hidrofóbica, entre el carbón y los tensioactivos, ya que para los 2 tensioactivos la cola hidrófoba es la misma.

Varios autores han reportado resultados similares a los obtenidos en esta tesis y sugieren que la interacción entre los carbonos y los compuestos de NPEO_x se producen a través de la cadena carbónada (Narkis y Ben-David, 1985; Liu y col, 2006; Yuan y col., 2008; Soares y col., 2008; Priac y col., 2017). Por otra parte, estos autores mencionan

que la adsorción ocurre con mayor eficiencia con NPEO_x con longitud de EO_x corta, productos de una mayor hidrofobicidad y menor tamaño de molécula.

La Figura 5.14 muestra los espectros FTIR del Carbón activado y Lignito antes y después de la adsorción de 300 mg/L de NPEO_{av9} .

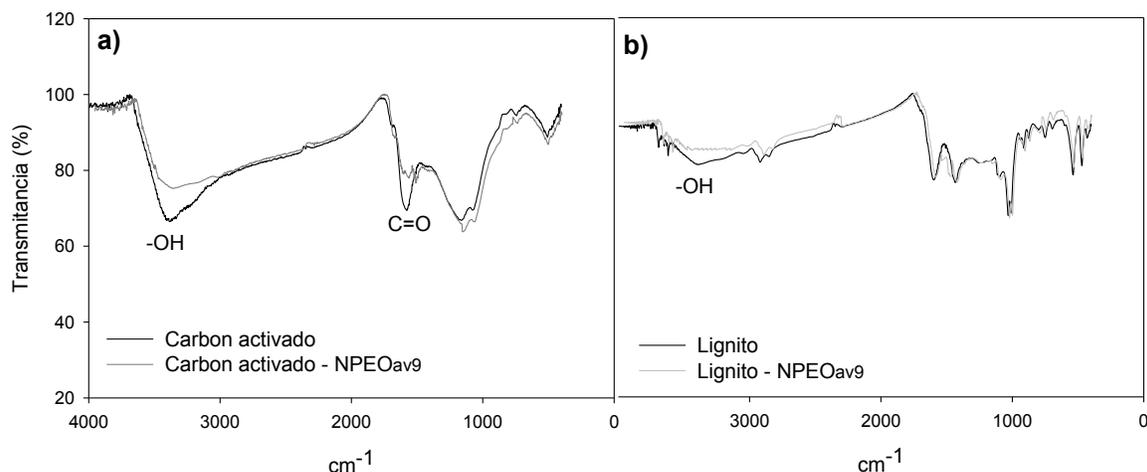


Figura 5.14. Espectro FT- IR para el Carbón activado y Lignito antes y después de la adsorción de NPEO_{av9} .

Después de la adsorción de NPEO_x en carbón activado, existe una diferencia en las bandas correspondientes a la vibración por estiramiento de C=O, y la del O-H, mientras que en el caso de lignito sólo se ve alterada ligeramente la banda correspondiente a O-H luego de la adsorción de NPEO_x . Esto podría deberse a que en el caso del Lignito, los grupos C=O se encuentran ligados a grupos CH_3 . Se puede ver que existe una mayor interacción entre el NPEO_x y el Carbón activado que entre el NPEO_x y el Lignito, lo que resulta en una mayor capacidad de adsorción del primero (Moreno, 2001).

El aumento en la intensidad de los picos característicos de los grupos funcionales oxigenados asociada a las vibraciones de estiramiento O-H, en el carbón activado y el lignito, y de enlaces C=O, en el carbón activado, indican que además de la interacción hidrofóbica existen interacciones entre el NPEO_x y los grupos funcionales de los adsorbentes, principalmente entre el NPEO_x y el carbón activado.

5.4. Estudio de la cinética adsorción

En la adsorción, como proceso dependiente del tiempo, es necesario conocer su velocidad para el diseño y evaluación de adsorbentes. La velocidad efectiva de la adsorción depende de las condiciones de operación, como son la temperatura, la presión, el flujo. En esta sección, se emplearon diversos modelos para representar las cinéticas de adsorción de NPEO_x sobre carbón activado y lignito.

5.4.1 Ensayos experimentales

Se realizaron estudios de las cinéticas de adsorción en batch a pH = 7.0 a distintas temperaturas como se describió en el capítulo 2 (sección 2.2). En un Erlenmeyer de 250 ml se colocó una cantidad conocida de muestra de carbón activado o lignito y 100 ml de solución 300 mg/L de NPEO_x y se agitó continuamente a 600 rpm. Las alícuotas de las muestras se tomaron a intervalos de tiempo preestablecidos de 10, 30 minutos, 1, 3, 6, 24, 30 y 48 horas. Estas suspensiones se filtraron y se analizaron las concentraciones residuales de NPEO_x total (C_{NPEOx}).

5.4.2. Determinación de la cinética de adsorción

La capacidad de adsorción (θ) de los adsorbentes se determinó mediante la ecuación:

$$\theta = \frac{V}{m} (C_i - C_e) \quad (5.5)$$

donde C_i es la concentración inicial de NPEO_x (mM), C_e es la concentración de NPEO_x en el equilibrio (mM), V es el volumen de solución expresado en litros, m es la masa de adsorbente expresada en gramos y q es la capacidad de adsorción (mmol/g).

La cinética describe la velocidad de adsorción del adsorbato en el adsorbente y determina el tiempo en que se alcanza el equilibrio. En la Figura 5.15 se observan los perfiles de adsorción de NPEO_x en función del tiempo, en Carbón activado y Lignito a diferentes temperaturas.

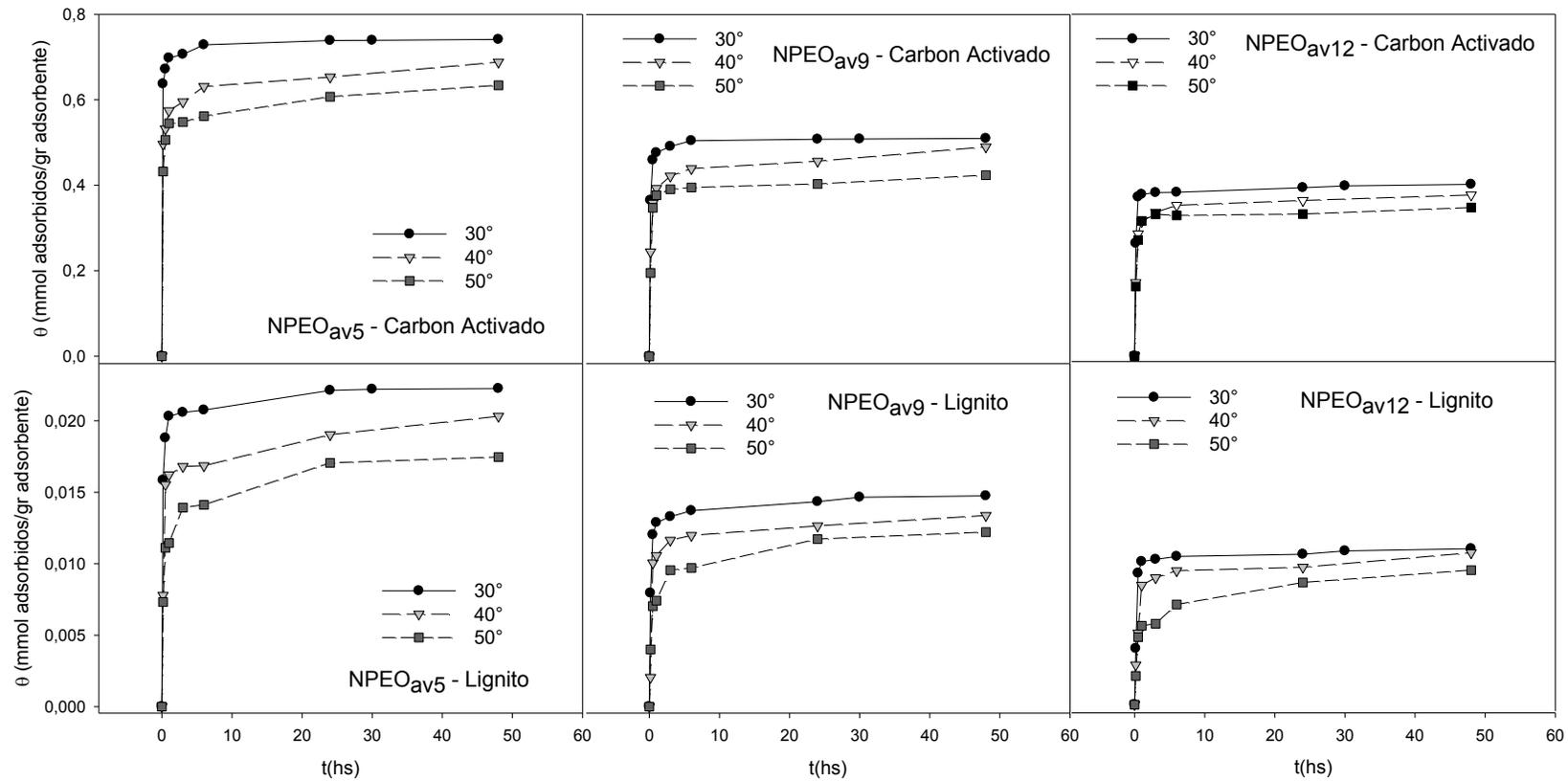


Figura 5.15. Perfiles de adsorción de NPEOx en Carbón activo y Lignito a diferentes temperaturas

El proceso de adsorción puede ser descrito entre otras por cinéticas de pseudo primer orden o pseudo-segundo orden. Para la cinética de pseudo primer orden, la ecuación de velocidad de Lagergren es utilizada generalmente (Ho y McKay, 1999):

$$\frac{d\theta}{dt} = k_1 \cdot (\theta_e - \theta) \quad (5.6)$$

Integrando la ecuación 5.6 con respecto a las condiciones límites $\theta = 0$ a $t=0$ y $\theta = \theta$ a $t= t$, se obtiene

$$\theta = \theta_e(1 - e^{-k_1 t}) \quad (5.7)$$

donde k_1 es la constante de velocidad de adsorción de Lagergren (min^{-1}); θ y θ_e son las cantidades de adsorbato adsorbido a un tiempo t y en el equilibrio ($t \rightarrow \infty$), respectivamente, con t expresado en minutos.

La ecuación de pseudo segundo orden, basado en la adsorción de equilibrio se expresa como (Ho y McKay, 1999):

$$\frac{d\theta}{dt} = k_2 \cdot (\theta_e - \theta)^2 \quad (5.8)$$

Separando las variables de la ecuación 5.8 se llega a la ecuación 5.9

$$\frac{d\theta}{(\theta_e - \theta)^2} = k_2 \cdot dt \quad (5.9)$$

Integrando la ecuación 5.9 con respecto a las condiciones límites $\theta = 0$ a $t=0$ y $\theta = \theta$ a $t= t$, se obtiene:

$$\theta = \frac{\theta_e^2 k_2 t}{1 + \theta_e k_2 t} \quad (5.10)$$

donde k_2 es la constante de velocidad de pseudo segundo orden ($\text{g mmol}^{-1} \text{min}^{-1}$); θ y θ_e son las cantidades de adsorbato adsorbido a un tiempo t y en el equilibrio ($t \rightarrow \infty$), respectivamente.

En la Figura 5.16 se muestran las regresiones no lineales de las ecuaciones 5.7 y 5.10 para la adsorción de NPEO_{av9} en carbón activado y lignito a 30°C

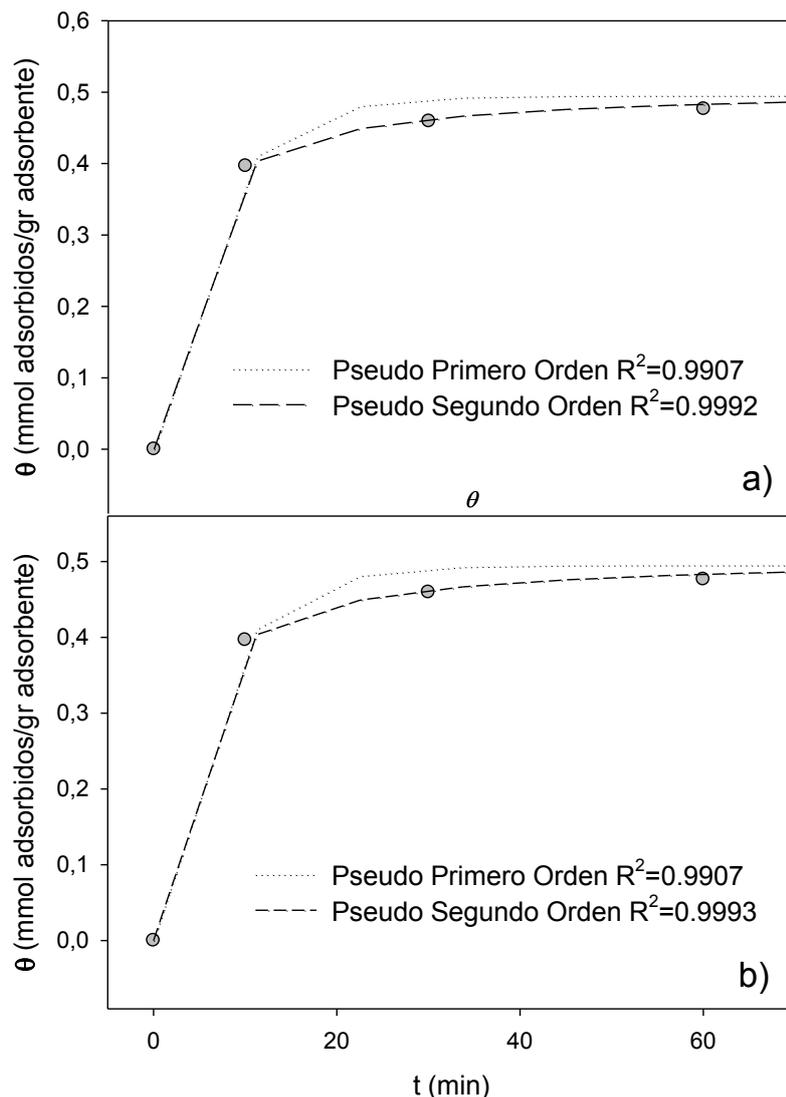


Figura 5.16. Regresión no lineal de cinética de pseudo-primero orden y pseudo-segundo orden del proceso de adsorción de NPEOav9 sobre a) carbón activado y b) lignito a 30°C

Como se muestra en la Figura 5.16 a y b se logró un ajuste de la ecuación 5.10 con coeficiente de determinación, r^2 , superior a 0.999. Esto muestra que la adsorción de NPEO_{av9} en Carbón Activado y Lignito, predominantemente sigue el modelo de cinética de pseudo-segundo orden y lo mismo sucede con las otras mezclas comerciales ensayadas (NPEO_{av9} y NPEO_{av5}). Resultados similares fueron obtenidos por Yuan y col (2008) y Liu y col (2006) quienes estudiaron la adsorción de Nonilfenol polietoxilado en carbones. Usualmente se atribuye este modelo al proceso que involucra un mecanismo de adsorción química (Yuan y col, 2008).

En la tabla 5.5 se pueden observar parámetros de la cinética de pseudo segundo orden de adsorción de NPEO_x en carbón activado y lignito obtenidos de las regresiones no lineales de la ecuación 5.10 para la adsorción de las mezclas comerciales de NPEO_x en carbón activado y lignito a diferentes temperaturas. En la Figura 5.17 se observa que los datos calculados por el modelo se ajustan de forma aceptable a los datos experimentales obtenidos, por lo que se verifica, junto al valor del coeficiente de correlación, que la cinética de adsorción de NPEO_x es puede ser descrita por el modelo de pseudo segundo orden.

Tabla 5.5. Parámetros de la cinética de pseudo segundo orden de adsorción de NPEO_x en carbón activado y lignito

Adsorbente	Adsorbato	T (°C)	θ_e (mmol/g)	k_2 (g mmol ⁻¹ h ⁻¹)	r^2
Carbón Activado	NPEO _{av5}	30	0.73± 0.23	49.9± 2.4	0.9970
		40	0.64± 0.35	25.9± 4.1	0.9891
		50	0.59± 0.25	24.8± 3.3	0.9878
	NPEO _{av9}	30	0.51± 0.04	30.7± 0.6	0.9992
		40	0.46± 0.11	14.2± 1.8	0.9920
		50	0.42± 0.13	15.8± 2.3	0.9875
	NPEO _{av12}	30	0.40± 0.11	34.2± 2.1	0.9926
		40	0.37± 0.06	15.5± 1.3	0.9824
		50	0.35± 0.08	18.1± 1.8	0.9921
Lignito	NPEO _{av5}	30	0.022± 0.005	693.9± 9.1	0.9949
		40	0.019± 0.009	279.4± 17.2	0.9931
		50	0.016± 0.008	244.7± 18.3	0.9818
	NPEO _{av9}	30	0.014± 0.003	547.4± 7.3	0.9934
		40	0.013± 0.008	233.9± 23.9	0.9920
		50	0.011± 0.005	232.8± 15.8	0.9838
	NPEO _{av12}	30	0.010± 0.004	493.0± 16.8	0.9980
		40	0.010± 0.003	236.4± 13.0	0.9817
		50	0.010± 0.003	244.7± 12.4	0.9879

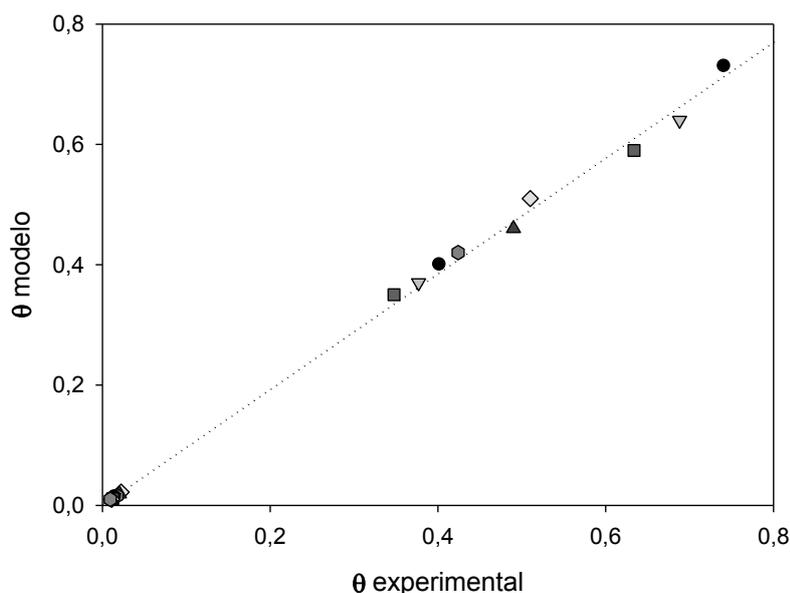


Figura 5.17. Comparación de datos experimentales y teóricos de la cinética de pseudo segundo orden

Liu y col. (2006) estudió la adsorción de $\text{NPEO}_{\text{av}10}$ con distintos carbones mesoporosos y obtuvo constantes k_2 entre 210 y $324 \text{ g mmol}^{-1} \text{ h}^{-1}$, valores cercanos obtenidos en esta Tesis para el caso de adsorción en lignito.

Comparando la constante de velocidad de adsorción, k_2 , en la Tabla 5.5, se puede ver que las velocidades de adsorción de NPEO_x en Carbón Activado y Lignito disminuyen al aumentar la temperatura, esto revelan que la baja temperatura es favorable para la adsorción de NPEO_x sobre carbones; similares resultados fueron obtenidos por Liu y col. (2006) y Yuan y col (2008).

La constante k_2 aumenta al disminuir la longitud promedio de la cadena etoxilada, esto podría atribuirse al menor tamaño de molécula, que favorece la rápida difusión de las moléculas de NPEO_x en la superficie. Vale la pena señalar que las constantes de velocidad de adsorción de NPEO_x sobre Lignito a diferentes temperaturas son más altas que las de Carbón Activado, lo cual se puede atribuir al tamaño de poro más grande de Lignito que favorece la rápida difusión de las moléculas de NPEO_x en su superficie interna de poro (Yuan y col., 2008).

5.5. Isotermas de adsorción

Una de las formas más habituales de representación del equilibrio de adsorción es mediante la relación entre la cantidad adsorbida y la concentración en la fase líquida, en el caso de adsorción de líquidos, para una temperatura determinada. Esta relación se conoce como isoterma de adsorción para un determinado sistema adsorbato-adsorbente. Las formas de la isoterma de adsorción permiten hacer inferencias sobre los mecanismos asociados a los fenómenos de adsorción, obtener datos relevantes para el diseño del proceso, así como calcular los valores que representa la cantidad de soluto adsorbido en el equilibrio.

5.5.1 Ensayos experimentales

Para la construcción de las isotermas de adsorción se realizaron ensayos a temperatura constante ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) a pH 7.0 y variando las concentraciones iniciales (C_i) de cada NPEO_x, desde 100 mg/L hasta 600 mg/L, manteniendo constantes el volumen y la masa de adsorbente. En la sección anterior se observó que las concentraciones en equilibrio (C_e) se alcanzaron a las 48 hs de ensayo, por lo que transcurrido ese tiempo, el sobrenadante fue filtrado y se determinaron las C_e de la solución filtrada por HPLC. La diferencia de concentraciones es la cantidad de sustancia disuelta que ha sido adsorbida por el adsorbente. Esta diferencia se divide entre la cantidad de adsorbente utilizado y la relación obtenida representa la capacidad de adsorción (θ), la cual se grafica contra la concentración de equilibrio C_e . Se repitió el ensayo de las isotermas de NPEO_{av9} sobre carbón activado y lignito a tres temperaturas distintas (30,40 y 50°C).

Partiendo de estos datos, y con la finalidad de estudiar la naturaleza de la adsorción, se realizaron los ajustes de los diversos parámetros de los modelos de Langmuir y Freundlich. Estos son los modelos más ampliamente utilizados para estudiar el equilibrio de adsorción entre un adsorbente orgánico y una fase sólida. La metodología para llevar a cabo las mediciones, así como también los métodos analíticos utilizados para la medición de NPEO_x, han sido descritos en el capítulo 2 “Materiales y Métodos”.

5.5.2. Isotermas de adsorción para el sistema adsorbato-adsorbente

En la figura 5.18 se muestran las isotermas de adsorción de NPEO_x obtenidas para cada una de los adsorbentes.

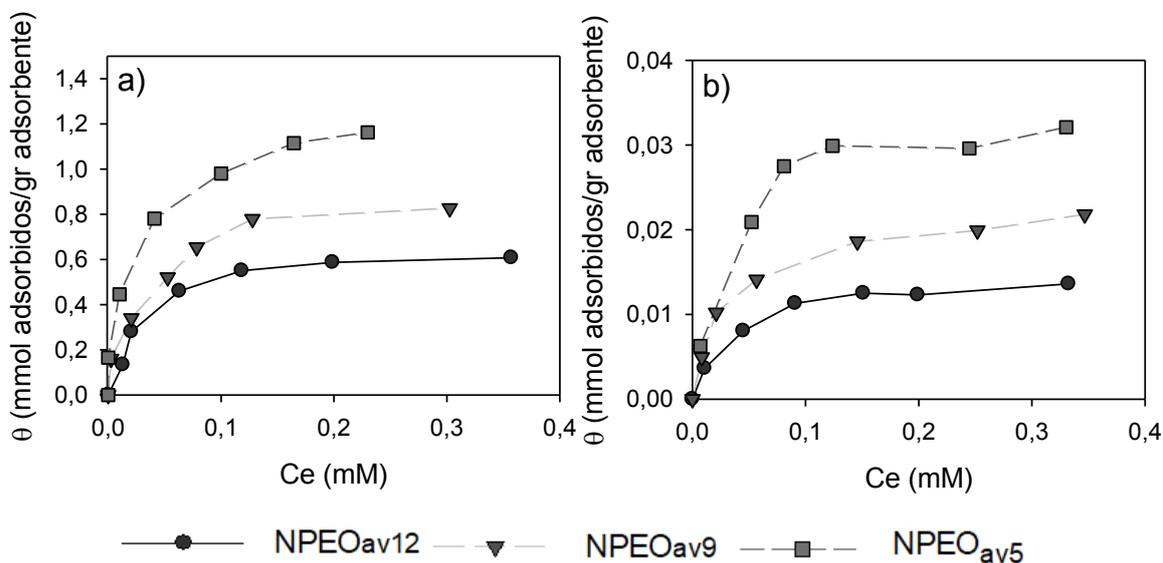


Figura 5.18. Isotermas de adsorción de NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12} en a) carbón activo b) lignito

En todos los casos las capacidades de adsorción (θ) adquieren un valor máximo aproximadamente constante, esto indicaría que se alcanza la saturación de adsorción. Las isotermas de adsorción de NPEO_x sobre Carbón activado y Lignito, muestran una notable diferencia entre los valores de adsorción máxima para los distintos adsorbentes. Se encontró que la cantidad máxima adsorbida de NPEO_{av12} sobre el carbón activado fue de aproximadamente 0.6 mmol g⁻¹, 60 veces mayor que en Lignito (0.1 mmol g⁻¹). Esta diferencia puede deberse a que el área de superficie específica del carbón activado es 80 veces mayor que la del Lignito. La relación no es directa ya que la capacidad de adsorción de un carbón activado depende de la textura porosa y del volumen de poros y, como se explicó en la sección 5.2.2., un porcentaje de los poros del Carbón activado son demasiado pequeños para permitir la difusión de las moléculas de NPEO_x. Asimismo, existen otros factores que condicionan el proceso de adsorción, como la composición de la superficie, ya que proceso de adsorción no se puede interpretar solo en función del área superficial y de la distribución de tamaño de poros (Vargas y col., 2010).

Como se muestra en la Figura 5.18, la capacidad de adsorción disminuyó con el aumento de longitud de cadena etoxilada (EO_x) lo que indicaría que la necesidad de espacio para cada molécula aumentó con el aumento de longitud de cadena. Si la adsorción de la molécula de $NPEO_x$ es a través de su parte hidrofóbica, que es la misma para todas las mezclas de $NPEO_x$, el área del adsorbente ocupada por las moléculas de todas las mezclas debería ser similar, sin embargo, los resultados experimentales muestran lo contrario, ya que la capacidad de adsorción se reduce con el aumento de la cadena EO_x . Esto podría explicarse de la siguiente manera, si la adsorción de la molécula de $NPEO_x$ se produce a través de su cola hidrofóbica, las cadenas etoxiladas se orientarán hacia la solución causando un impedimento estérico en sus sitios vecinos, y este impedimento será mayor cuanto más larga sea la cadena etoxilada, por lo que es entendible que la capacidad de adsorción de $NPEO_{av5}$ sea mayor que la de $NPEO_{av12}$.

Varios autores han estudiado la adsorción de $NPEO_x$ sobre adsorbentes polares y han concluido que la adsorción se produce a través de la cadena carbónada, sin embargo que existe una mayor capacidad de adsorción para moléculas de $NPEO_x$ con cadenas de EO_x cortas, coincidiendo con los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis. Celik y Yoon (1991), John y col. (2000), Liu y col. (2006) y Xuan y col. (2008) argumentan que las cadenas de EO_x dirigidas hacia la solución interferirán con el acercamiento de moléculas adicionales a la superficie del adsorbente produciendo que la capacidad de adsorción se reduzca con el aumento de la cadena EO_x .

La Figura 5.19 muestra las isotermas de adsorción obtenidas a 30, 40 y 50°C para la adsorción de las $NPEO_{av9}$ sobre carbón activado y lignito. Como se dijo en el párrafo anterior la adsorción de $NPEO_x$ sobre adsorbentes no polares como el carbón activado y el lignito ocurre a través de la cadena carbónada de la molécula, por lo tanto, la formación de micelas impediría este tipo de interacción, ya que la formación de micelas ocurren interacciones entre las partes hidrofóbicas de las moléculas de tensioactivo quedando la cadena etoxilada de la molécula en contacto con el agua (Atta y col., 2013).

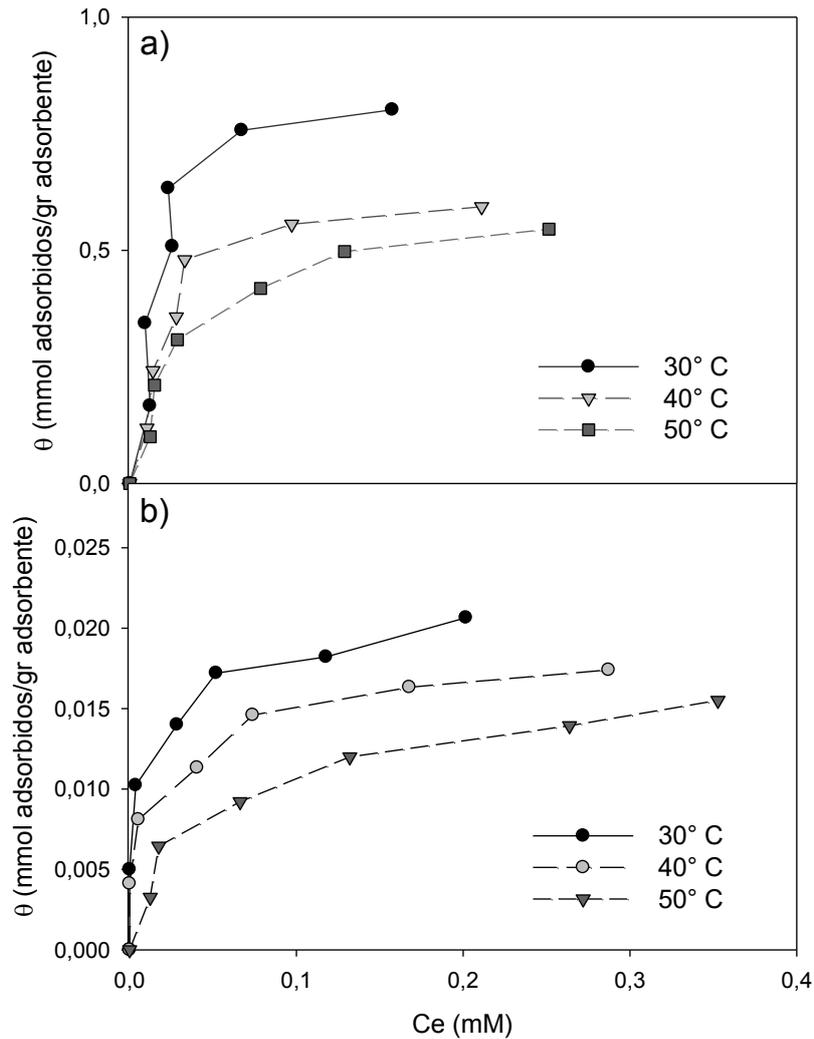


Figura 5.19. Isothermas de adsorción de NPEO_{avg} a 30, 40 Y 50°C en Carbón activo y Lignito

La capacidad de adsorción decrece con el aumento de la temperatura (Figura 5.19), lo cual concuerda con la dependencia de la adsorción y la CMC. Varios autores (Dai y Tam, 2003; Rodríguez y col., 2009; Rosen y Kunjappu, 2012; Juhász y col, 2017) han reportado que la CMC de este tipo de surfactantes no iónicos decrece con la temperatura, por lo que esto también disminuye la capacidades de adsorción de NPEO_x.

5.5.3. Aplicación de la Isotherma de Freundlich y Langmuir

Las isothermas de Freundlich y Langmuir se utilizan comúnmente para describir las características de adsorción. La isoterma de Freundlich se define como sigue.

$$\theta = k_f \cdot [C_e]^{\frac{1}{n}} \quad (5.11)$$

donde θ es la capacidad de adsorción, C_e es la concentración de equilibrio del adsorbato en solución después de la adsorción, k_f es la constante empírica o la capacidad de Freundlich., n es el exponente Freundlich. (Ho, 2004).

La isoterma de adsorción de Langmuir se define como

$$\theta = \frac{a \cdot k_L \cdot C_e}{1 + k_L \cdot C_e} \quad (5.12)$$

donde; θ es la cantidad de adsorbato adsorbido por unidad de peso de adsorbente, C_e es la concentración de equilibrio del adsorbato en solución después de la adsorción, a es la constante de Langmuir empírica que representa la capacidad de adsorción máxima y k_L es la constante empírica Langmuir (Finqueneisel y col, 1998).

Las regresiones no lineales de la ecuación 5.11 (Línea punteada - - -) y 5.12 (Línea continua —) se presentan en las Figuras 5.20, 5.21 y 5.22 para determinar la aplicabilidad de la isoterma de Freundlich y Langmuir para la adsorción de cada una de las mezclas comerciales de NPEO_x estudiadas sobre carbón activo y lignito.

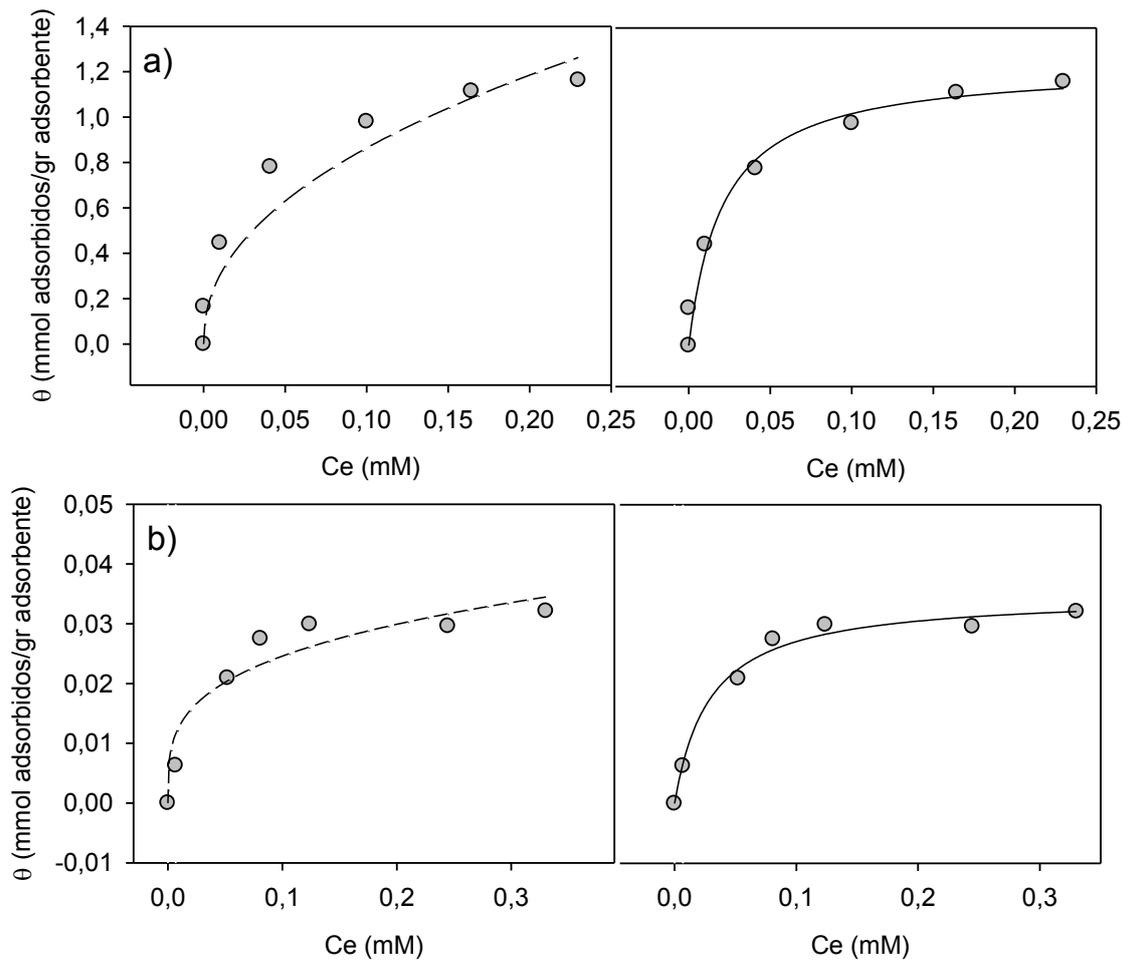


Figura 5.20. Aplicación de las isothermas de adsorción de Freundlich (Línea punteada - - - -) y Langmuir (Línea continua —) de $NPEO_{av5}$ en a) carbón activo b) lignito

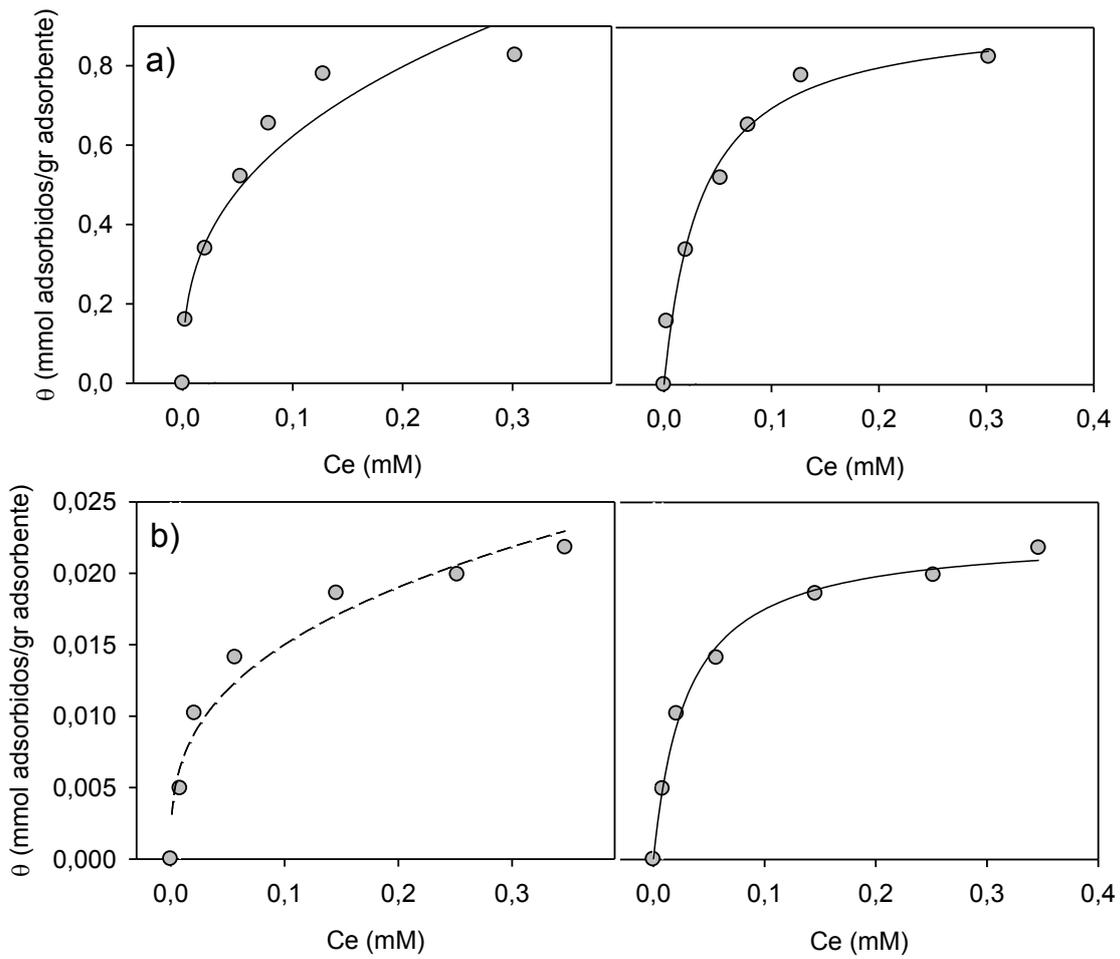


Figura 5.21. Aplicación de las isothermas de adsorción de Freundlich (Línea punteada - - - -) y Langmuir (Línea continua —) de NPEO_{avg} en a) carbón activo b) lignito

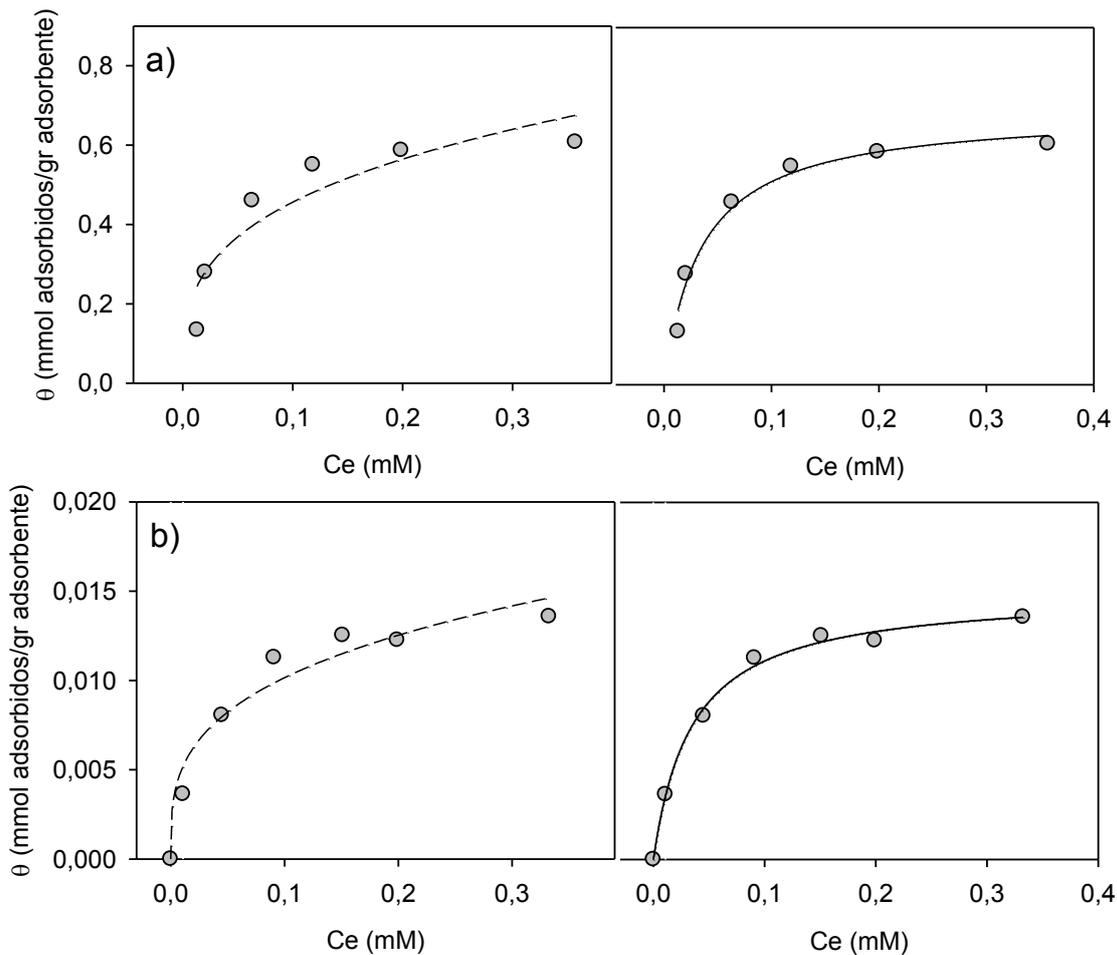


Figura 5.22. Aplicación de las isothermas de adsorción de Freundlich (Línea punteada - - - -) y Langmuir (Línea continua —) de $NPEO_{av12}$ en a) carbón activo b) lignito

En las Figuras 5.20-5.22 se puede ver que se obtuvo un mejor ajuste con la ecuación 5.12 comparada con la 5.11. El coeficiente de correlación promedio, R^2 , del ajuste no lineal de la ecuación de Langmuir 0.098 ± 0.0075 (véase la Tabla 5.5), es superior al obtenido con la isoterma de Freundlich ($r^2 = 0.9127 \pm 0.042$), lo que sugiere que la adsorción de $NPEO_x$ con los adsorbentes estudiados se aproximan al modelo de Langmuir. Numerosos autores han simulado la adsorción de los $NPEO_x$ sobre adsorbentes polares con la isoterma de Langmuir (Celik, 1989; Aktas y Woodburn, 1994; Aktaş, 2000; Yuan y col., 2008; Hassas y col., 2014), coincidiendo con los resultados obtenidos en la presente tesis.

Los parámetros de modelo de Langmuir, tales como a y k_L , se presentan en la Tabla 5.4. Para diferentes adsorbente, el parámetro “a” representa la capacidad de

adsorción máxima. La adsorción sobre los adsorbentes está influenciada por el número de grupos EO_x en la cadena de etoxilada. Cuando el grupo hidrófobo se mantiene constante, la capacidad de adsorción “a” disminuye con el aumento de x.

Tabla 5.4. Parámetros de la isoterma de Langmuir

Adsorbente	Adsorbato	k_L (mmol/g)	a (L/mmol)	r^2
Carbón Activado	NPEO_{av5}	47.7± 11.9	1.23± 0.57	0.9762
	NPEO_{av9}	34.7± 7.7	0.03± 0.01	0.9769
	NPEO_{av12}	28.9± 7.2	0.93± 0.41	0.9772
Lignito	NPEO_{av5}	33.6± 7.8	0.02± 0.01	0.9791
	NPEO_{av9}	28.9± 5.4	0.68± 0.23	0.9755
	NPEO_{av12}	28.0 ± 7.7	0.01± 0.01	0.9950

La constante k_L , es proporcional a la energía de interacción entre el adsorbato y la superficie adsorbente. Para los tensioactivos estudiados, adsorbidos sobre carbón activado en polvo y sobre lignito de acuerdo con el modelo de Langmuir, son de un orden de magnitud similar, excepto para el caso de la adsorción **NPEO_{av5}** en carbón activado, que es superior. Esto sugiere que la interacción entre el adsorbato y el adsorbente es a través de la parte hidrofóbica de la molécula, que es la misma para todos los tensioactivos (Celik, 1989; Aktas y Woodburn, 1994).

5.6. Determinación de los parámetros termodinámicos

La interpretación de la adsorción como un proceso de transición de un componente, desde una fase en tres dimensiones a una en dos dimensiones, permite analizar cualitativamente los cambios en los potenciales termodinámicos, energía de Gibbs, entropía y entalpía. Debido a esta transición se reduce el desequilibrio de fuerzas atractivas que existen en una superficie y por lo tanto, la energía libre superficial de un sistema heterogéneo disminuye, soportando la espontaneidad del proceso. Igualmente esta transición, por pérdida del número de grados de libertad de los componentes adsorbidos, va acompañada de la disminución en la entropía.

Los parámetros termodinámicos tales como el cambio de energía libre ΔG_o , cambio de entalpía ΔH_o , y el cambio de entropía ΔS_o pueden estimarse utilizando

constantes de equilibrio a diferentes temperaturas, aplicando la siguiente ecuación fundamental, $\Delta G_o = \Delta H_o - T\Delta S_o$.

El cambio en la energía libre de Gibbs para la adsorción se expresa como

$$\Delta G = \Delta G_o + RT \ln Q \quad (5.13)$$

En la ecuación 5.13 ΔG_o y Q son el cambio de energía libre de Gibbs estándar y el cociente adsorción, respectivamente. El cociente de adsorción será la relación entre la cantidad de adsorbato adsorbida en un momento dado (5.15).

$$Q = \frac{C_o - C}{C} \quad (5.14)$$

donde C_o es la concentración inicial y C es la concentración de NPEO_x en la solución en un momento dado en los experimentos de adsorción. Alcanzado el equilibrio el cociente de adsorción Q será igual a a constante de equilibrio K , que se puede definir como sigue:

$$K = \frac{C_o - C_e}{C_e} \quad (5.15)$$

donde C_e es la cantidad adsorbida de adsorbato en el equilibrio.

Entonces, cuando la adsorción alcanza el estado de equilibrio $\Delta G = 0$ de modo que ΔG_o es igual a $-RT \ln K$, donde K indica la constante de equilibrio. Por lo tanto, ΔG_o será estimado para una adsorción si K es conocido. Este valor de K se puede calcular a partir de los resultados experimentales usando ecuación 5.15. Además, utilizando la relación $\Delta G_o = \Delta H_o - T\Delta S_o$ e igualando con 5.13 en el equilibrio, el $\ln(K)$ puede ser expresado como:

$$\ln K = -\frac{1}{RT} \Delta H_o + \frac{1}{R} \Delta S_o \quad (5.16)$$

Luego, si se conocen las constantes de equilibrio para una adsorción a diferentes temperaturas, los cambios entálpicos y entrópicos estándar de adsorción también se pueden estimar a partir de la regresión lineal de $\ln(K)$ frente a $1/T$. Las constantes K fueron calculadas a partir de la ecuación 5.15 con los datos de la

Sección 5.4. En la Figura 5.21 se puede observar el gráfico $\ln(K)$ frente a $1/T$ para el carbón activado y el lignito. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 5.7.

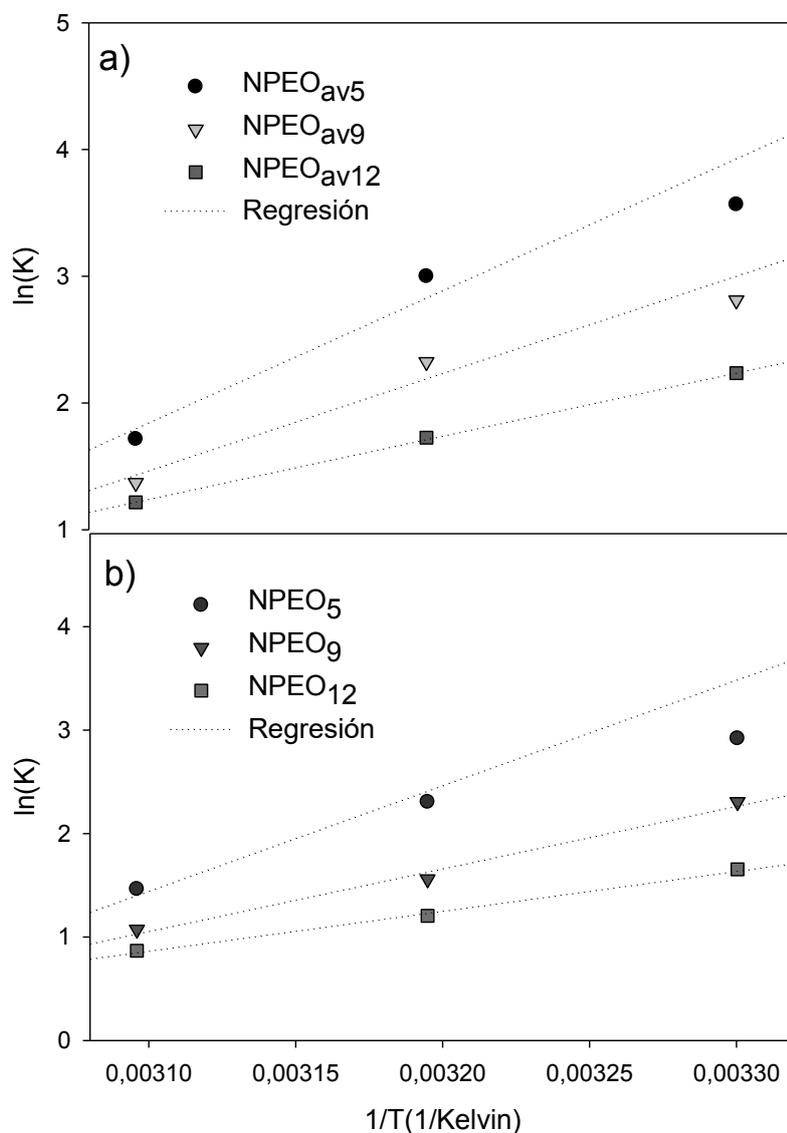


Figura 5.21. Grafico $\ln(K)$ frente a $1/T$ para el carbón activado y el lignito.

Los parámetros termodinámicos para la adsorción de NPEO_x en carbón activado y lignito basados en los cálculos (Ecuación 5.13-5.16) se presentan en la Tabla 5.5.

Tabla 5.5. Cambios de energía libre, entalpía y entropía para la adsorción de NPEOx en carbón activado y lignito

Adsorbente	Adsorbato	T (Kelvin)	K	$\Delta H(\text{Kcal/mol})$	$T\Delta S(\text{Kcal/mol})$	$\Delta G(\text{Kcal/mol})$	r2
Carbón Activado	NPEO _{av5}	303	47,07	-19,9	-17,6	-2,3	0,9911
		313	20,08	-19,9	-18,2	-1,7	
		323	5,56	-19,9	-18,8	-1,1	
	NPEO _{av9}	303	2,94	-14,7	-12,9	-1,7	0,9995
		313	2,32	-14,7	-13,4	-1,3	
		323	1,37	-14,7	-13,8	-0,9	
	NPEO _{av12}	303	9,35	-9,5	-8,2	-1,3	0,9998
		313	5,62	-9,5	-8,5	-1,0	
		323	3,37	-9,5	-8,8	-0,8	
Lignito	NPEO _{av5}	303	34,67	-14,7	-12,7	-2,0	0,9911
		313	10,03	-14,7	-13,3	-1,5	
		323	4,32	-14,7	-13,8	-0,9	
	NPEO _{av9}	303	10,04	-11,6	-10,2	-1,3	0,9999
		313	4,75	-11,6	-10,6	-1,0	
		323	2,92	-11,6	-10,9	-0,6	
	NPEO _{av12}	303	5,23	-7,4	-6,4	-0,9	0,9987
		313	3,34	-7,4	-6,6	-0,7	
		<u>323</u>	<u>2,38</u>	<u>-7,4</u>	<u>-6,8</u>	<u>-0,5</u>	-

Como se muestra en la Tabla 5.5, los cambios de energía libre (ΔG) son negativos, lo que demuestra que la adsorción estudiada es un proceso espontáneo. La tendencia general, que se observa es que la energía libre estándar de adsorción se hace menos negativa a medida que aumenta la longitud de cadena de etoxilos. Por consiguiente, la afinidad de los tensioactivos a las superficies del carbón es fuertemente dependiente de la longitud de la cadena de óxido de etileno.

Sin embargo, si la cadena etoxilada de la molécula de NPEO_x estuviera en contacto con la superficie de los carbones, la energía de adsorción debería aumentar

en una cierta proporción para cada grupo EO_x adicional. La magnitud de la energía libre de adsorción está en promedio en el rango entre 1.7 y 1.0 kcal /mol para el carbón activado y entre 1.5 y 0.7 kcal/ mol para el lignito. Dado que para todas las mezclas de tensioactivos estudiadas, tanto para lignito como para carbón activado, se producen aproximadamente la misma magnitud de energía libre de adsorción, esto sugiere que la adsorción implica unión hidrófoba solamente, confirmando nuevamente la suposición realizada en la sección 5.3.5. Se encontró que la disminución estándar de la energía libre de adsorción por grupo EO_x es de aproximadamente 0.55 Kcal / mol y 0.57 Kcal/ mol para el carbón activado y el lignito respectivamente. El valor de 0.57 – 0.34 Kcal/mol obtenido por Klimenko y col (1990) para el sistema de carbón / surfactantes no iónicos está de acuerdo con los datos obtenidos en el presente trabajo de tesis.

Una molécula adsorbida sobre una superficie puede difundir (moverse) sobre la superficie, quedarse fija, sufrir una reacción química. En la adsorción física o fisisorción: las moléculas del adsorbato se mantienen unidas a la superficie del sólido por medio de fuerzas de Van der Waals (interacciones dipolares, dispersión y/o inducción). La fisisorción es un proceso exotérmico (las fuerzas de van der Waals son atractivas) en el que los calores liberados, ΔH (aprox. 5-10 kcal/mol) son similares a las entalpías de condensación de la sustancia adsorbida. Por otro lado, en la adsorción química o quimisorción, las moléculas se mantienen unidas a la superficie formando un enlace químico fuerte y las entalpías de quimisorción son mucho mayores que las de fisisorción y del orden de las que se liberan en la formación de enlaces químicos, $\Delta H = - (20-100)$ kcal/mol (Martín-Martínez, 1990). En la adsorción de $NPEO_x$ sobre carbonos, los cambios de entalpía (ΔH) son negativos y los valores absolutos son inferiores a 20 kcal/ mol, lo que indica que la adsorción es un proceso físico exotérmico. Sin embargo, los valores de adsorción de $NPEO_{av5}$ sobre carbón activado cercanos a -20 kcal/ mol, valores $-\Delta H_o > 10$ kcal/ mol y la cinética de adsorción, indican que podría producirse fenómenos quimisorción.

Es importante destacar que la adsorción de tensioactivos es un proceso complejo, que podría involucrar diversos mecanismos, y además el adsorbato involucra una mezcla de moléculas de distinta polaridad

5.7. Mecanismo propuesto para la adsorción de NPEO_x en carbones

En las secciones 5.3.2. y 5.3.3 se analizó la remoción de soluciones de muestras comerciales de NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12} en carbón activo y lignito y se pudo ver que la remoción de mezclas comerciales con menor promedio de unidades etoxiladas era mayor. Asimismo, al tratarse de muestras polidispersas se observó que existe una clara adsorción selectiva hacia NPEO_i de cadena corta; este fenómeno resultó más pronunciado en las muestras con un promedio mayor de unidades etoxiladas. Una consecuencia importante de este resultado es que cuando se usan muestras polidispersas no iónicas, la distribución relativa de la longitud de la cadena irá cambiando en la solución durante el proceso de adsorción.

Por lo tanto, la especie con la cadena de etoxilos más corta, se adsorberá en la superficie del adsorbente, mientras que las especies con la cadena más larga, quedarán en solución. A medida que crece la longitud de la cadena etoxilada, la solubilidad del agente tensioactivo en el agua aumenta y su afinidad hacia el adsorbente hidrófobo disminuye mostrando una menor disposición a abandonar el medio acuoso. Es decir, como la hidrofobicidad de los NPEO_x disminuye progresivamente con el aumento de la longitud de la cadena etoxilada (EO_x), es coherente que los NPEO_x que poseen promedio cadena EO_x corta presenten mayor eficiencia de remoción, como consecuencia de su mayor afinidad hacia la fase sólida del adsorbente

Las mediciones de potenciales zeta vs pH para NPEO_{av5} y NPEO_{av9}, el análisis de las isotermas de adsorción y de los parámetros termodinámicos mostraron que la adsorción de NPEO_x sobre los carbones se produce a través de la interacción entre la parte hidrocarbónada de la molécula sobre la superficie del adsorbente. Sin embargo, la capacidad de adsorción aumentó con la disminución de la cadena EO_x promedio. Esto se puede explicar con el hecho de que la cadena etoxilada queda orientada hacia la solución, causando impedimento estérico entre las moléculas adsorbidas en sus sitios vecinos.

Entonces, la cadena hidrocarbónada será la que interaccione con la superficie del adsorbente y el hecho que la cantidad de NPEO_x removida disminuya a medida que el número de unidades etoxilos en las moléculas aumenta se debe al área excluida creada por la cadena de EO_x dirigida a la fase de solución es el parámetro

principal que limita la cantidad adsorbida (Douillard y col, 1992; Levitz, 2002). Entonces, el área mínima ocupada por cada molécula dependerá de los requisitos estereoquímicos de las cadenas de EO_x que sobresalen en la fase acuosa.

Los rangos de las Entalpías (ΔH) indicaron una adsorción es exotérmica y física, aunque con valores elevados de ΔH para la adsorción de $\text{NPEO}_{\text{av}5}$ en el carbón activado y la cinética de adsorción indicaron que algunas interacciones químicas son posibles. Los valores elevados de ΔH solo en el caso de adsorción de $\text{NPEO}_{\text{av}5}$ en carbón activado sugieren que existen interacciones simultáneas de la molécula adsorbida con ambas paredes de los poros ya que las moléculas de $\text{NPEO}_{\text{av}5}$ son suficientemente pequeñas como para ingresar en su totalidad en los mencionados poros. Esto concuerda con el análisis realizado en la sección 5.3.5. donde se observaron interacciones entre los grupos $\text{C}=\text{O}$, y $\text{O}-\text{H}$ de la superficie del carbón y los oxígenos de éter de la cadena de EO_x , y los mecanismos propuestos por varios autores, que suponen interacciones laterales de las moléculas de tensioactivo con la superficie. Estas interacciones provocarán una unión más fuerte entre los NPEO_x de cadena etoxilada corta y los carbones.

Por lo tanto, el mecanismo propuesto consiste en la adsorción de la porción no polar de la molécula NPEO_x , que se adsorbe sobre el superficie a través de interacciones de van der Waals y desplaza moléculas de agua de la superficie. Las cadenas EO_x se orientan lejos de la superficie causando un impedimento estérico que disminuye al acortarse la longitud de la cadena EO_x , generando que la remoción de mezclas comerciales con menor promedio de unidades etoxiladas sea mayor

5.7. Conclusiones del capítulo

En este Capítulo se analizó la capacidad del carbón activado y un adsorbente alternativo como el lignito para remover varias mezclas comerciales de NPEO_x del agua y se obtuvieron las siguientes conclusiones

- ✓ Se realizó la caracterización de las mezclas comerciales de NPEO_x que consistió en la determinación del área por molécula de surfactante, donde se comprobó que la misma aumenta en orden $\text{NPEO}_{\text{av}5} < \text{NPEO}_{\text{av}9} < \text{NPEO}_{\text{av}12}$. Se determinó que la concentración micelar crítica (CMC) disminuye levemente a

medida que aumenta la longitud de la cadena etoxilada ya que principalmente depende de la estructura hidrofóbica.

- ✓ Se caracterizaron las muestras de carbón activado comercial y lignito. El área de la superficie total de carbón activado fue superior a la del lignito. Sin embargo, la distribución del área de poros muestra que el 40.1 % de los poros tienen un tamaño pequeño para la adsorción de NPEO_x. Los espectros IR mostraron que los grupos funcionales principales en la superficie de los carbónos son O-H fenólico, C=C, C-C y C-H de anillos aromáticos y C=O de diversa naturaleza, que producen un comportamiento anfótero de las superficies.
- ✓ Se observó un mayor porcentaje de remoción para un NPEO_x con menor x y el sistema mostró una adsorción selectiva hacia oligómeros de cadena corta.
- ✓ Se determinó la cantidad de adsorbente necesario para la remoción de las mezclas comerciales de tensioactivos. Se requirió más cantidad de adsorbente por gramo de adsorbato para mezclas comerciales con un promedio mayor de unidades etoxiladas. Se requirieron 3.75 veces más carbón activado y 2 veces más lignito para adsorber NPEO_{av9} y NPEO_{av12} que la que se necesita para adsorber la misma concentración de NPEO_{av5}. Esto indicó que las estructuras micro y mesoporosas como el carbón activado, presentan una menor eficiencia en la remoción por adsorción de moléculas voluminosas, como los NPEO_x con largas cadenas etoxiladas, en comparación con sólidos que contienen poros de mayor tamaño como el lignito.
- ✓ El análisis del potencial Z en diferentes mezclas comerciales mostró que las diferencias en un grupo EO_x no influyeron significativamente en el comportamiento de la carga, lo que indicaría que la principal fuerza impulsora para la adsorción es la energía de interacción hidrofoba, entre el carbón y los tensioactivos.
- ✓ Se analizaron los espectros IR después de la adsorción de NPEO_{av5} en Carbón activado y lignito, y se observaron cambios en las bandas C=O y O-H para el carbón activado, mientras que en el caso de lignito sólo se vió alterada la banda correspondiente a O-H.

- ✓ Las isothermas de adsorción de NPEO_x sobre Carbón activado y Lignito a temperatura constante mostraron que la capacidad de adsorción disminuyó con el aumento de longitud de cadena etoxilada (EO_x) lo que indica que la necesidad de espacio para cada molécula aumentó con el aumento de longitud de cadena. Esto se pudo fundamentar con el hecho que las cadenas etoxiladas se orientaran hacia la solución causando un impedimento estérico en sus sitios vecinos, y este impedimento es mayor cuanto más larga es la cadena etoxilada, por lo que es entendible que la capacidad de adsorción de NPEO_{av5} sea mayor que la de NPEO_{av12}.
- ✓ Los resultados revelaron que la isoterma de adsorción de Langmuir fue el mejor modelo para la adsorción de NPEO_x sobre carbón activo y lignito. El estudio de los parámetros de Langmuir mostró que la adsorción sobre los adsorbentes está influenciada por el número de grupos EO_x en la cadena de etoxilada.
- ✓ La cinética de pseudo segundo orden fue adecuada para modelar el proceso de adsorción de NPEO_x sobre carbón activado, que usualmente indica mecanismo de quimiadsorción.
- ✓ El análisis de los parámetros termodinámicos indicó que la adsorción es dominada principalmente por interacciones físicas, aunque algunas interacciones químicas también son posibles.
- ✓ El mecanismo propuesto consiste en la adsorción de la porción no polar de la molécula NPEO_x, que se adsorbe sobre la superficie a través de interacciones de van der Waals y desplaza moléculas de agua de la superficie. Las cadenas EO_x se orientan lejos de la superficie causando un impedimento estérico que disminuye al acortarse la longitud de la cadena EO_x, por lo que resulta más favorable la remoción de NPEO_x cuando la cadena de EO_x es más corta.
- ✓ La cadena hidrocarbónada es la que interacciona con la superficie del adsorbente y existen interacciones laterales de las cadenas etoxiladas de las moléculas de tensioactivo en los poros de los adsorbentes. Estas interacciones provocarían una unión más fuerte entre los NPEO_x de cadena etoxilada corta y los carbones.

- ✓ La adsorción favorable de los NPEO_x de cadena corta generaría un inconveniente si la adsorción se utiliza como única etapa de tratamiento, ya que el remanente del proceso de adsorción estaría formado por oligómeros de cadena larga que podría transformarse en el ambiente a NPEO_x de cadena corta, cuyos efectos de alteración endócrina ya han sido descritos.
- ✓ Como el tratamiento biológico estudiado en el Capítulo 4 produce NPEO_x de cadena corta, y el proceso de adsorción en carbones favorece la adsorción de dichos oligómeros, el tratamiento por adsorción con carbones resulta un sistema complementario o tratamiento terciario adecuado para el remoción de NPEO_x de aguas



CAPITULO 6

Remoción de Nonilfenol Polietoxilado de aguas residuales empleando tratamiento combinado

El uso del tratamiento por adsorción en combinación con el tratamiento biológico puede mejorar la biodegradabilidad de aguas residuales o lograr una completa remoción. En este capítulo se analiza la aplicación de tratamientos combinados (biológicos y fisicoquímicos) en aguas residuales conteniendo el contaminante emergente Nonilfenol Polietoxilado (NPEO_x)

Objetivos

- ✓ Analizar la aplicación de tratamientos combinados (biológicos y fisicoquímicos) en aguas residuales conteniendo el contaminante emergente Nonilfenol Polietoxilado (NPEO_x)
- ✓ Comparar los tratamientos individuales con el tratamiento combinado en unidades separadas y en una única unidad de tratamiento

6.1. Tratamiento en unidades separadas

Se demostró en el Capítulo 4 que las transformaciones de NPEO_x de cadena larga que ocurren en el sistema de barros activados resultan en la acumulación del disruptor endócrino Nonilfenoldietoxilado (NPEO₂). Este tipo de tratamiento por sí solo no es suficiente para eliminar estos compuestos de las aguas residuales. Por tal razón, en este Capítulo se analizó el proceso de adsorción con carbones como un tratamiento terciario, posterior al tratamiento biológico. Se comparó la remoción de NPEO_x por adsorción en aguas previamente tratadas biológicamente y sin tratamiento.

6.1.1. Ensayos experimentales

Los ensayos de biodegradación fueron llevados a cabo con un inóculo proveniente de 2 batch secuenciales obtenido tal como se explicó en el Capítulo 4. El reactor se alimentó con 300 mg/L de NPEO_{av9} como única fuente de carbono en un medio mineral como el que se describió en Sección 4.1.1. Al finalizar el proceso biológico, el licor de mezcla se dejó sedimentar durante 30 minutos y el sobrenadante fue sometido a una etapa de adsorción. A 200 mL de sobrenadante se le agregó 0.12 g de carbón activado o 10 g de lignito de acuerdo a las cantidades calculadas en la Sección 5.3.2. Se realizaron estudios comparativos de la cinética de adsorción en batch a temperatura ambiente de soluciones de 300 mg/L (0.48 mM) de NPEO_{av9} y del sobrenadante obtenido del tratamiento biológico. Para el ensayo se utilizaron erlenmeyers de 250 ml con una cantidad mencionadas de adsorbente y se agitó continuamente a 600 rpm. Las alícuotas de las muestras fueron tomadas a intervalos de tiempo preestablecidos de 10, 30 minutos, 1, 3, 6, 24, 30 y 48 horas. Estas suspensiones se filtraron y se evaluó la concentración total de NPEO_x en el filtrado por HPLC (C_{NPEO_x}). A partir de estos datos se calculó el porcentaje de remoción (ecuación 5.4) la distribución de oligómeros (NPEO_i) en el sobrenadante. Se calcularon los

porcentajes de remoción de NPEO_x , como la diferencia entre la concentración inicial y final total de NPEO_x , con respecto a la concentración inicial. Asimismo, se analizó la adsorción de 300 mg/L (0.48 mM) de NPEO_{av9} y del sobrenadante obtenido del tratamiento biológico con diferentes concentraciones de adsorbentes luego de 50 horas de ensayo.

6.1.2. Remoción de NPEO_x por adsorción en aguas residuales previamente tratadas biológicamente

En la Figura 6.1 se muestran los porcentajes de remoción por adsorción obtenidos en aguas residuales que contenían 300 mg/L de NPEO_{av9} sin ningún tratamiento previo y tratadas biológicamente

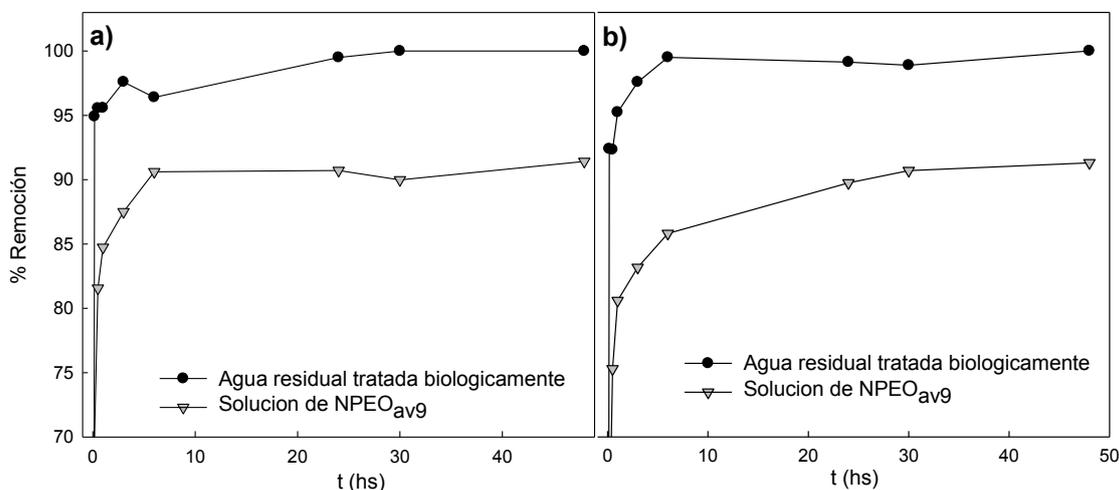


Figura 6.1. Porcentajes de remoción en aguas no tratadas y pretratadas con tratamiento biológico utilizando como adsorbente a) carbón activado y b) lignito

Las aguas sometidas previamente al tratamiento biológico presentaron porcentajes de remoción superiores. Transcurrido 10 minutos del experimento se alcanzaron porcentajes de remoción de 94.9% de NPEO_x totales utilizando carbón activado y 92.3% utilizando el adsorbente económico lignito. Para ese tiempo se había conseguido remover sólo el 69.9% y el 61.3% de la solución de NPEO_{av9} con carbón activado y lignito, respectivamente. Además, cuando el agua fue previamente tratada biológicamente se obtuvo una remoción del 100% en el proceso de adsorción, incluso con el adsorbente más económico (lignito) a las 6 horas de tratamiento.

Como se demostró en el Capítulo 4, el sobrenadante obtenido del tratamiento biológico de NPEO_x está compuesto principalmente por NPEO_2 . Diversos autores (Huang y col, 2007; Salagery col, 2000) informan que cuando el número de grupos EO disminuye, la hidrofobicidad de los oligómeros se incrementa. Por lo tanto, el NPEO_2 obtenido tiene un carácter más hidrofóbico que la mezcla comercial inicial NPEO_{av9} , en donde el oligomero NPEO_9 es el mayoritario. En la Tabla 1.3 Capítulo 1 se ve claramente que los valores de coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}) de los compuestos estudiados disminuye progresivamente con el aumento de la longitud de la cadena etoxilada. Por otra parte en el Capítulo 5 se concluyó que los NPEO_x de cadena corta presentaron mayor capacidad de adsorción en los carbones, por lo que la combinación de los procesos de oxidación biológica en reactores de barros activados y proceso fisicoquímico de adsorción lograron remover prácticamente la totalidad de los NPEO_x del agua residual.

Asimismo, el tratamiento por adsorción de aguas residuales que contenían 300mg/L de NPEO_{av9} logró porcentajes de remoción de 91.4% y 91.3% con carbón activado y lignito, respectivamente. En la Figura 6.2 se compararon los porcentajes de remoción de los diferentes oligómeros (NPEO_i) de la mezcla comercial de NPEO_{av9} luego del proceso de adsorción de 300 mg/L de NPEO_{av9} con carbones.

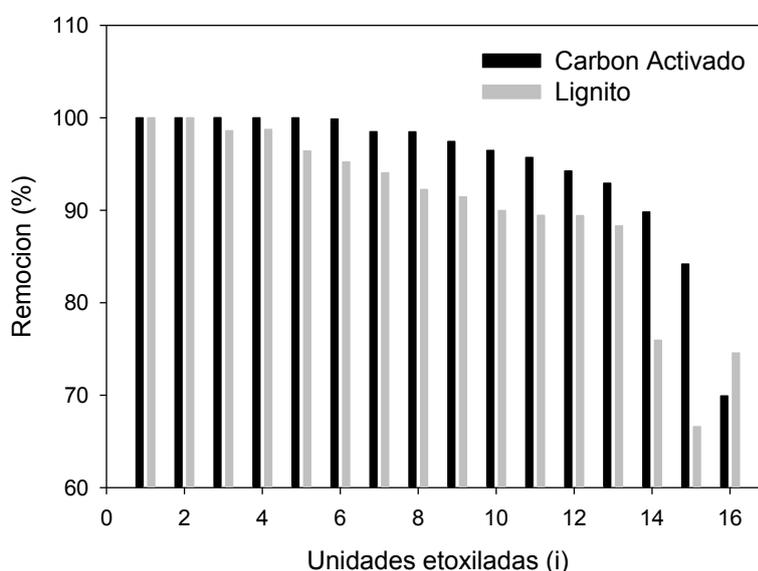


Figura 6.2. Porcentajes de remoción de los diferentes oligómeros (NPEO_i) de la mezcla comercial de NPEO_{av9} luego del tratamiento por adsorción con carbones

Se puede observar en la Figura 6.2 que la fracción no adsorbida está compuesta principalmente por NPEO_x de cadena etoxilada larga y a medida que aumenta la longitud de la cadena etoxilada los porcentajes de remoción obtenidos disminuyen. Es decir, el proceso de adsorción en una etapa no logra remover completamente NPEO_{av9} y la fracción no adsorbida está compuesta principalmente por NPEO_x de cadena etoxilada larga. Esto genera una complicación en la utilización del proceso de adsorción como una única etapa de tratamiento, ya que, varios autores han demostrado que las transformaciones de NPEO_x de cadena largas en el medio ambiente, al igual que sucede en los reactores de barros activados, resultan en la acumulación de NPEO_x de cadena corta, compuestos que han sido descritos como causantes de una serie de respuestas estrogénicas en los organismos acuáticos y han sido clasificados como disruptores endócrinos por varias organizaciones (Soares y col, 2008; Campbell y col, 2006; Gabriel y col, 2008). Por lo tanto, en el caso de utilizar únicamente el tratamiento por adsorción se deberá considerar la remoción de este residuo no adsorbido, ya que al descargarlo en el ambiente, genera NPEO_x con cadenas cortas de EO, más persistentes y tóxicos.

6.1.3. Concentración del adsorbente requerido para remover NPEO_x por adsorción en aguas previamente tratadas biológicamente

En la Sección 5.3.4 se determinó la cantidad de adsorbente necesario para obtener los máximos porcentajes de remoción de las mezclas comerciales de tensioactivos. Se requirió más cantidad de adsorbente por gramo de adsorbato para mezclas comerciales con un promedio mayor de unidades etoxiladas. Se requirieron 3.75 veces más carbón activado y 2 veces más lignito para lograr el máximo porcentaje de remoción de NPEO_{av9} y NPEO_{av12} , que la que se necesita para adsorber la misma concentración de NPEO_{av5} .

En la Figura 6.3 se comparan las cantidades de adsorbentes necesarios para adsorber solución de 300 mg/L NPEO_{av9} y de dichas aguas residuales previamente tratadas biológicamente con la misma concentración del contaminante.

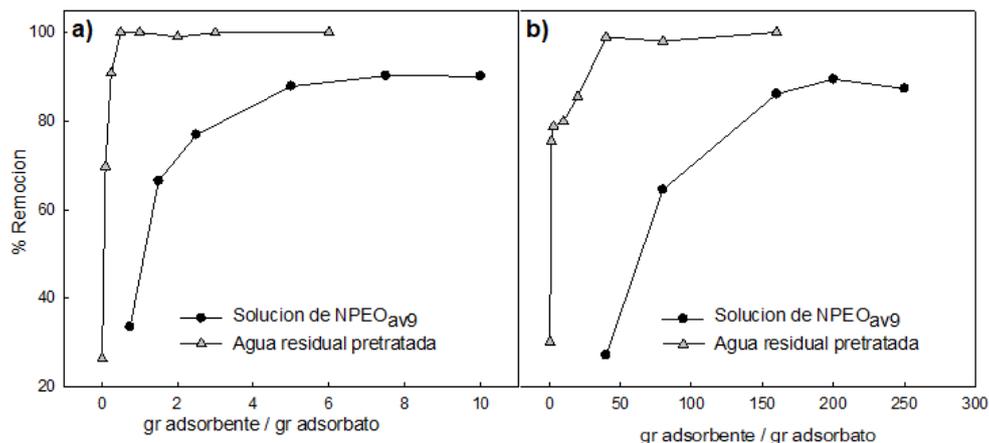


Figura 6.3. Cantidades de a) Carbón Activado y b) Lignito necesarios para adsorber aguas residuales que contienen NPEO_{av9} y dichas aguas previamente tratadas biológicamente.

Para lograr la máxima adsorción de NPEO_{av9} en aguas con pre-tratamiento biológico se requirieron 0.5 gr de carbón activado por gramo de NPEO_x se requirió 40 g de lignito por gramo de adsorbato. Se necesitaría una suma adicional de 120 gramos de lignito por gramo de NPEO_x para la eliminación lograr la máxima adsorción de la solución de NPEO_{av9}.

Es decir, la cantidad de material utilizado como adsorbente se reduce de 3 a 15 veces, si el tratamiento biológico de aguas residuales que contienen NPEO_{av9} se realiza antes de la adsorción. Por lo tanto, la utilización del proceso de adsorción como tratamiento terciario o de refinado ofrece una alternativa para la eliminación eficiente de NPEO_x que podría ser considerado como un sistema apropiado para la eliminación de estos contaminantes orgánicos que no son removidas mediante técnicas convencionales de tratamiento.

6.1.4. Análisis de remoción de los oligómeros

Para estudiar la eficacia del tratamiento terciario por adsorción en la remoción del disruptor endócrino NPEO₂, se analizó por HPLC la distribución de oligómeros de NPEO_x durante el proceso de adsorción, cuando previamente se había realizado el tratamiento biológico. En la Figura 6.4 y Figura 6.5 se muestran los picos obtenidos a diferentes tiempos de tratamiento utilizando carbón activado y lignito como medio adsorbente, respectivamente.

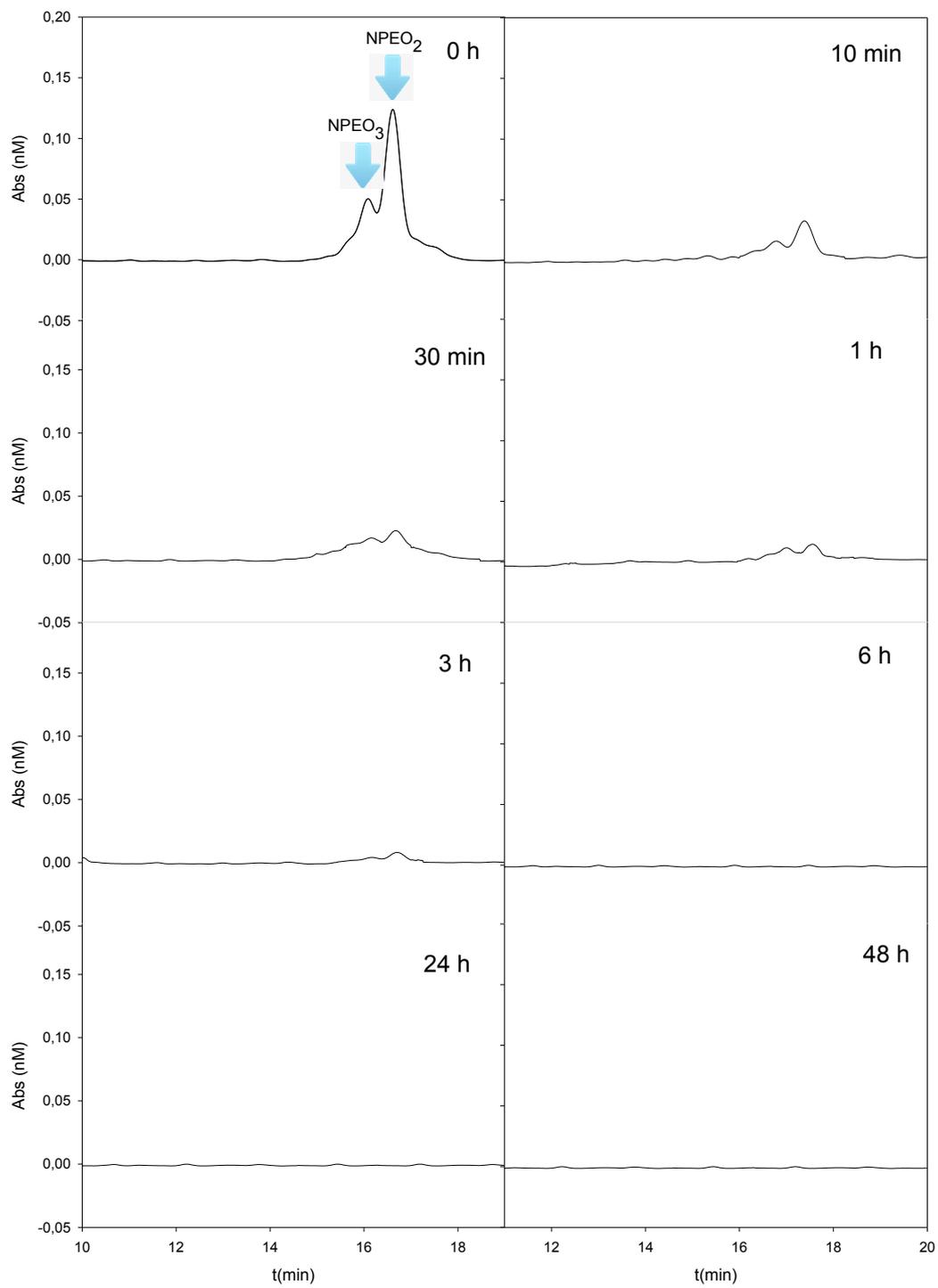


Figura 6.4. Remoción de NPEO₂ en tratamiento combinado utilizando carbón activado como adsorbente

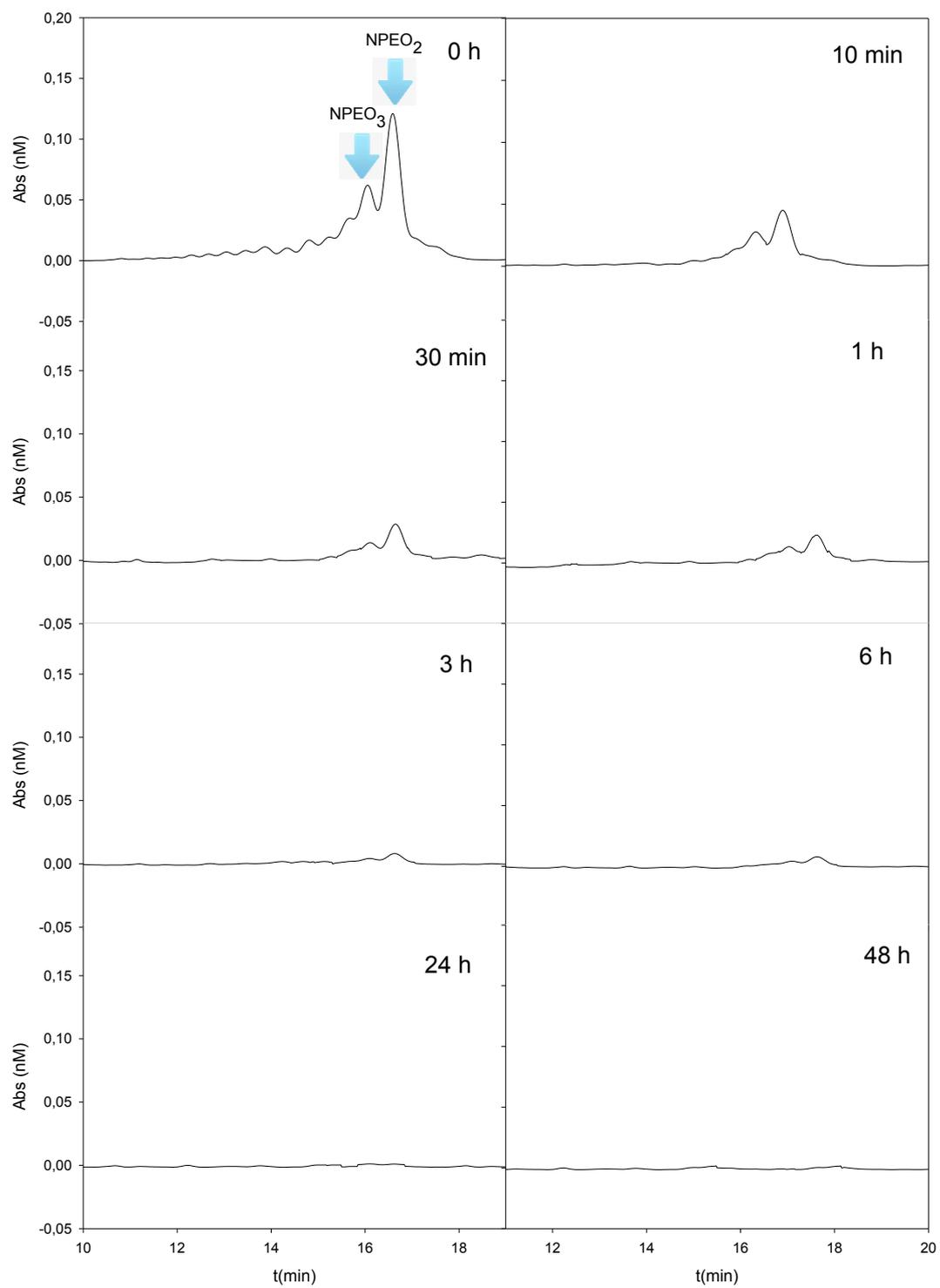


Figura 6.5. Remoción de NPEO₂ en tratamiento combinado utilizando lignito como adsorbente

Luego de finalizado el tratamiento biológico, que corresponde a tiempo 0 hs del tratamiento por adsorción se distinguen mayoritariamente dos picos en la corrida de HPLC, uno a 16.75 min y otro a 17.3 min. Estos picos corresponden, según el método descrito en el Capítulo 3, a los oligómeros NPEO₃ y NPEO₂. En las Figuras 6.4 y 6.5 están indicados los picos más relevantes, y se puede observar que el más elevado corresponde a NPEO₂ que, como se explicó en el Capítulo 4, es el producto principal de la degradación aeróbica de NPEO_x.

A medida que transcurre el tiempo de contacto entre la solución acuosa, que contiene principalmente oligómeros de cadena corta de NPEO_x, y los adsorbentes se puede advertir que la altura de estos picos va disminuyendo, hasta que no se distinguen los mismos. Esto es indicativo que no se detectó el oligómeros NPEO₂ al finalizar el tratamiento por adsorción. Por lo tanto, el tratamiento biológico seguido por adsorción logró remover en forma eficiente 300 mg/L de NPEO_{av9}.

6.2. Tratamiento simultáneo (biológico y de adsorción)

En la sección 6.1 se concluyó que el tratamiento biológico seguido por adsorción en dos etapas separadas resulta adecuado para remover NPEO_x del agua residual. En esta sección se presenta un estudio sobre el tratamiento combinado en una sola etapa en la que se agrega carbón en polvo al sistema biológico de tratamiento aeróbico. El carbón en el proceso de tratamiento biológico adsorbe compuestos recalcitrantes que no son fácilmente biodegradables, lo que reduce la demanda química de oxígeno de las aguas residuales y la eliminación de compuestos tóxicos (Çeçen y Aktas, 2011; Jafarinejad, 2017). El carbón también actúa como un "amortiguador" contra los efectos de compuestos orgánicos tóxicos en las aguas residuales (Çeçen y Aktas, 2011). En dicho sistema, el tratamiento biológico y la adsorción de carbón se combinan en un solo paso de tratamiento sinérgico (Jafarinejad, 2017). La adición del carbón en polvo estabiliza los sistemas biológicos contra los cambios, controla el color y el olor, y puede reducir los costos de eliminación al remover compuestos orgánicos solubles (Gallego y col., 2002). Usualmente estos sistemas utilizan carbón activado en polvo, en este estudio se utilizó además lignito (sección 5.2.3.), como alternativa de un adsorbente de bajo costo.

6.2.1. Ensayos experimentales

Para estudiar el proceso de tratamiento combinado, se utilizó un inóculo proveniente de 2 batch secuenciales obtenido como se explicó en el Capítulo 4. El medio de cultivo utilizado estaba compuesto por 300 mg/L NPEO_{av9} y el medio mineral descrito en la Sección 4.1. Se utilizó un biorreactor de barros activados discontinuo constituido por un vaso cilíndrico de vidrio de 600 mL con 200 L de volumen de trabajo, como el descrito en la Sección 4.1, y se adicionó 0.12 gr de carbón activado o 10 gr de lignito. En cada caso se midió la concentración de NPEO_x total en solución (C_{NPEO_x}), la concentración de biomasa (X) y la distribución de oligómeros individuales en función del tiempo. La concentración de biomasa (X) se determinó como la diferencia entre los SST del reactor menos los SST correspondientes a la concentración de carbonos.

También se utilizó la técnica de respirometría intermitente, descrita en el Capítulo 2, para monitorear la actividad metabólica de los lodos activados durante la aclimatación a NPEO_x en presencia de adsorbente. El respirómetro era equivalente al utilizado en la Sección 4.3 (600 mL de volumen útil) y se adicionaron 0.4 gr de carbón activado o 36 gr de lignito y se midió la actividad metabólica de la biomasa hasta el batch número 10. Además, se determinó el Índice Volumétrico de Lodos (IVL) al finalizar el ensayo.

6.2.2. Estudio del tratamiento combinado barros activados-carbones en ensayos en batch.

En la Figura 6.6 se muestra la remoción de 300 mgNPEO_{av9}/L (0.48 mM) en el tiempo para el tercer ciclo de aclimatación en un reactor con biomasa y carbonos suspendidos. En la primera hora de ensayo se obtuvo una remoción del 72.0% y 65.1% de NPEO_x soluble para los sistemas Barros Activados – Carbón Activado y Barros Activados – Lignito, respectivamente, y se advirtió una remoción completa del contaminante luego de 6 hs de tratamiento con ambos adsorbentes.

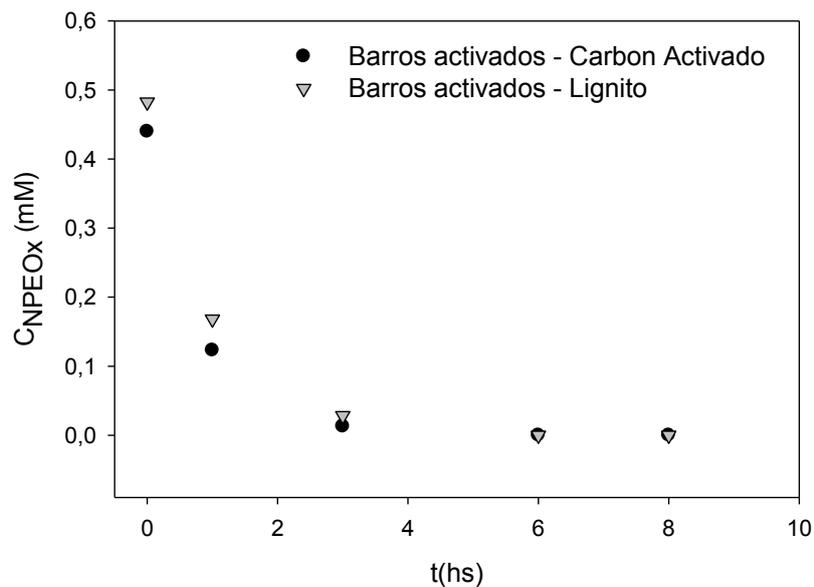


Figura 6.6. Perfil de remoción de 300 mgNPEO₉/L (0.48 mM) en el tiempo en reactores con biomasa y carbones suspendidos.

En la sección 4.4 se analizó la biodegradación de 300 mg/L de NPEO_{av9} en el tercer ciclo de aclimatación obteniendo un porcentaje de remoción de la concentración total de NPEO_x de 77% a 7.5 hs. Asimismo el principal producto de degradación fue el disruptor endócrino NPEO₂, por lo que el agregado de carbón al reactor aerobio mejora el porcentaje de remoción de NPEO_x y evita la descarga de los oligómeros tóxicos de cadena corta etoxilada.

Por otro lado, en el Capítulo 5, se reportó que con tratamiento por adsorción de soluciones de 300 mg/L NPEO_{av9}, se obtuvieron porcentajes de remoción de 91.4% y 91.3% con carbón activado y lignito respectivamente, sin embargo, la fracción no adsorbida estaba compuesta principalmente por NPEO_x de cadena etoxilada larga, que en el ambiente podría biotransformarse en oligómeros de cadena corta (Soares y col, 2008). En contraste, el tratamiento combinado resultó eficiente para remover el NPEO_x, aun utilizando el adsorbente de bajo costo, en comparación con el tratamiento individual y se obtuvo una remoción completa de NPEO_x.

En los ensayos realizados en presencia de tratamiento combinado se observó un rápido descenso de la concentración de NPEO_x, como se mostró en la Figura 6.6, y un aumento en los SST (Figura 6.7).

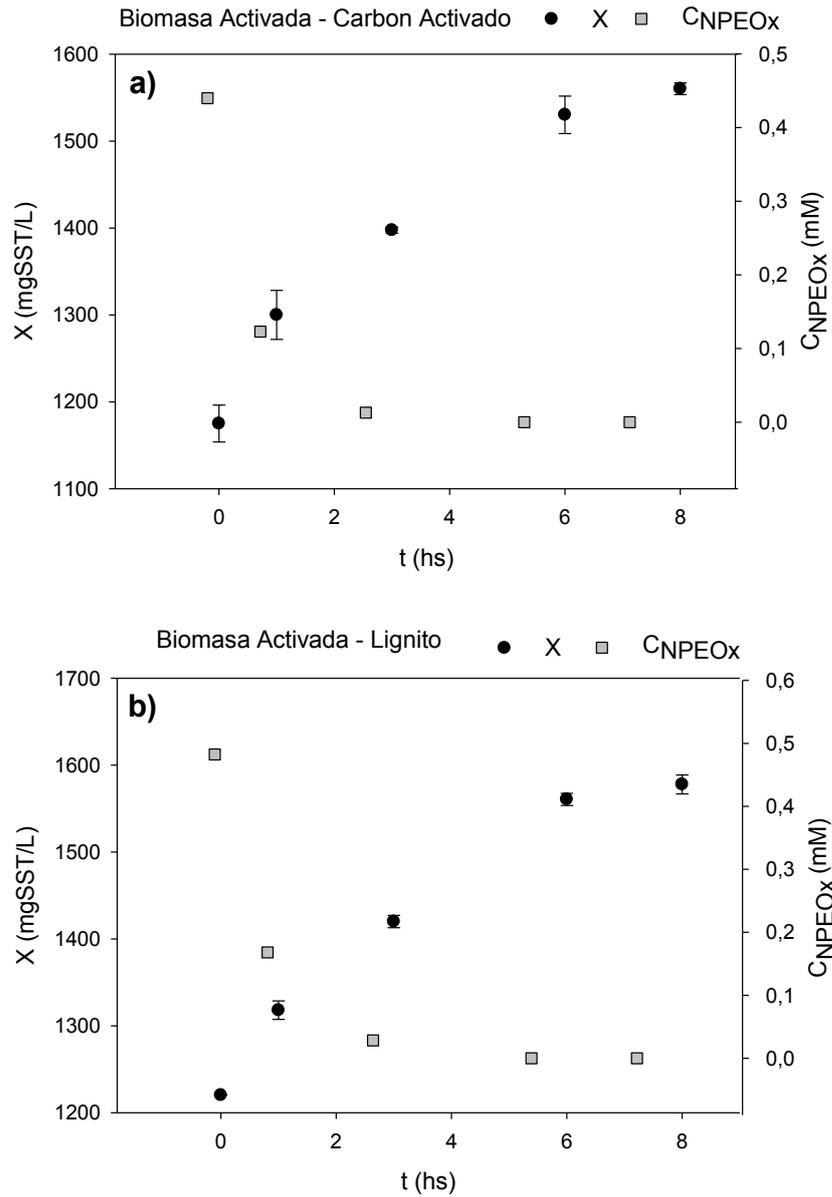


Figura 6.7. Concentración de biomasa X (●), concentración de NPEOx (■) en función del tiempo correspondientes a los ensayos de a) Barros Activados – Carbón Activado y b) Barros Activados– Lignito

A tiempo 0 hs, para ambos absorbentes la concentración de biomasa fue aproximadamente 1200 mgSST/L, luego se añadió 300 mg/L de NPEO_{av9} (0.48mM) y X se incrementó en promedio 134 ± 9 mgSST/L transcurrida una hora de ensayo. En el ensayo en batch, realizado en el Capítulo 4, en ausencia de carbones, el aumento de X en la primera hora de ensayo fue alrededor de 60 mgSST/L. El aumento en los sistemas combinados podría deberse a la adsorción de una fracción del sustrato a la

fase insoluble. Flynn y Stadnik (1979) dividen los componentes orgánicos de un agua residual en categorías basadas en biodegradabilidad y adsorbabilidad y sostienen que la eliminación de compuestos absorbibles difícilmente biodegradables por este tipo de sistemas combinados ocurre a través de la adsorción seguida por la eliminación lenta de compuestos degradables, por lo que los NPEO_x se encontrarían dentro de esta categoría.

Por otro lado, la biomasa al finalizar el ensayo se incrementó respecto a la inicial en promedio 371.4 ± 9 mgSST/L ± 19.6 mgSST/L para el tratamiento combinado, mientras que para el tratamiento biológico este incremento fue de alrededor 200 mgSST/L. Esto podría deberse a que, como se mostró en la Figura 6.6, al finalizar el ensayo, no se advirtió NPEO_x en la fase soluble, por lo que podría encontrarse en la fase insoluble, y contribuir a los SST.

Se calculó el rendimiento en biomasa ($Y_{X/S}$) para las condiciones ensayadas (utilizando carbón activado y lignito como adsorbentes), según la ecuación 6.1.

$$Y_{X/NPEOx} = \frac{X_f - X_i}{C_{NPEOx_i} - C_{NPEOx_f}} \quad (ec. 6.1)$$

donde los subíndices i y f indican las concentraciones iniciales y finales de biomasa y NPEO_x.

Los valores de $Y_{X/S}$ obtenidos para los sistemas combinados Carbón Activado – Biomasa de barros activados y Lignito- Biomasa de barros activados, resultaron 0.875 mgSST/mgNPEOx y 0.741 mgSST/mgNPEOx, respectivamente. El rendimiento $Y_{X/S}$ resultó mayor para el carbón activado que para el lignito ya que la capacidad de adsorción de NPEO_x del carbón activado es superior que la del lignito, y por ende la concentración de SST final era levemente mayor para el carbón activado.

Si no se considera el gran incremento de X durante la primera hora de ensayo, y se calcula el valor $Y_{X/S}$ considerando el valor inicial de biomasa a tiempo = 1 hora de ensayo como el valor inicial de biomasa, los valores obtenidos $Y_{X/S}$ de ambos sistemas combinados resultan en promedio 0.565 ± 0.037 mgSST/mgNPEOx. Este valor es similar al obtenido en el capítulo 4 (0.581 mgSST/mgNPEOx) para el tratamiento biológico, lo que podría indicar que en la primera hora de ensayo predomina la adsorción, y luego la biodegradación.

Con el objeto de analizar el efecto del adsorbente sobre el crecimiento microbiano, se calcularon los parámetros de crecimiento en cada uno de los ensayos. La velocidad específica de crecimiento (μ , h^{-1}) fue calculada a partir de la representación del $\ln(X)$ en función del tiempo, tomando la pendiente correspondiente a la parte lineal del mismo (Figura 6.8). El valor de μ no experimentó variaciones con respecto los ensayos realizados en ausencia de materia adsorbente en la sección 4.4 donde se obtuvo un valor de μ de $0.034 h^{-1}$. Para el caso del sistema barros activados - carbón activado μ resultó $0.0354 h^{-1}$, mientras que para el caso del sistema barros activados - lignito μ resultó $0.0324 h^{-1}$.

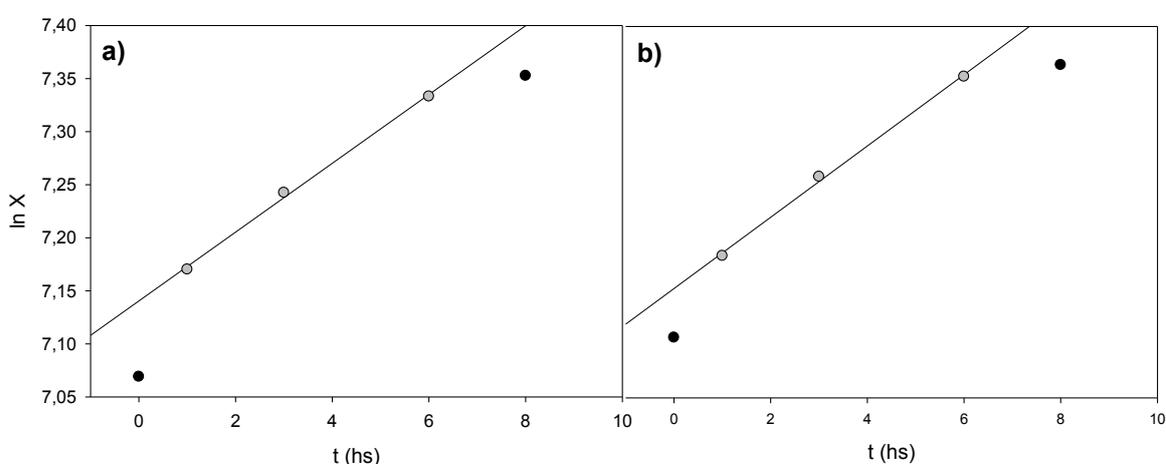


Figura 6.8. $\ln(X)$ en función del tiempo para correspondientes a los ensayos de a) Biomasa Activada – Carbón Activado y b) Biomasa Activada – Lignito

Varios autores han sugieren que la presencia de adsorbente reduce la biodisponibilidad del sustrato de crecimiento (la concentración de sustrato real en solución), por lo tanto, el coeficiente cinético μ disminuye (Ferro, 2010; Mu'azu y col, 2017). Sin embargo, en este caso se advierte que la totalidad de la concentración de $NPEO_x$ es removida, contribuyendo al incremento de biomasa. Esto no sucede en el tratamiento biológico, donde una fracción de $NPEO_x$ queda en solución.

Para analizar qué sucede con la distribución de oligómeros durante el tratamiento combinado en una sola unidad de tratamiento, en la Figura 6.9 se muestra cómo varió la distribución de oligómeros individuales a lo largo del ensayo medido por HPLC utilizando carbón activado y lignito como adsorbentes.

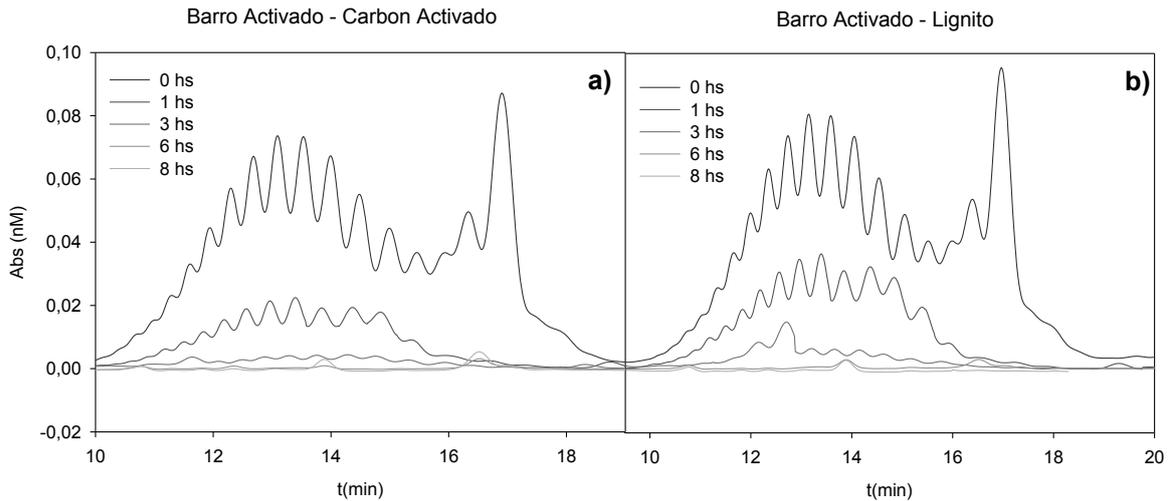


Figura 6.9: Corridas de HPLC correspondientes a los ensayos de a) Biomasa Activada - Carbón Activado y b) Biomasa Activada - Lignito

Inicialmente, a tiempo= 0, en la remoción del $NPEO_{av9}$ en el tratamiento combinado en una sola etapa se observa la cresta típica de este tensioactivo con un promedio de nueve unidades etoxiladas más una proporción de $NPEO_x$ de cadena corta (principalmente $NPEO_2$) provenientes del Ciclo 2 de aclimatación (Figura 6.9).

Luego de una hora, dicha fracción de $NPEO_x$ de cadena corta es removida posiblemente adsorbida a los carbones, ya que el proceso de biodegradación de $NPEO_x$ por un consorcio microbiano no es capaz de remover estos $NPEO_x$ como se mostró en el Capítulo 4. Además, existe una adsorción selectiva hacia $NPEO_x$ de cadena corta sobre los carbones como se concluyó en el Capítulo 5. Esto es concurrente con los valores de SST obtenidos durante la primera hora de ensayo, donde se observó un incremento significativo de dicha concentración. En la tercera hora de ensayo no se observa prácticamente ningún oligómero, esto sugiere que los oligómeros de cadena larga fueron transformados por el consorcio microbiano a $NPEO_x$ de cadena corta y estos últimos adsorbidos al adsorbente. Por lo tanto en el tratamiento por adsorción queda un residuo de oligómeros de cadena larga que no son adsorbidos por los adsorbentes estudiados.

En la Figura 6.10 se esquematiza el mecanismo recientemente descrito para la remoción de $NPEO_x$ por tratamiento combinado biológico – adsorción en una única unidad de tratamiento, donde primero ocurre la adsorción de una fracción del

contaminante, seguida por la degradación biológica de $\text{NPEO}_{\text{av}9}$ a $\text{NPEO}_{\text{av}2}$, y por último la adsorción del residuo de la biodegradación. El tratamiento en una unidad de tratamiento, estudiado en esta sección, permitió la remoción total de NPEO_x a partir de la combinación los procesos de biodegradación y adsorción.

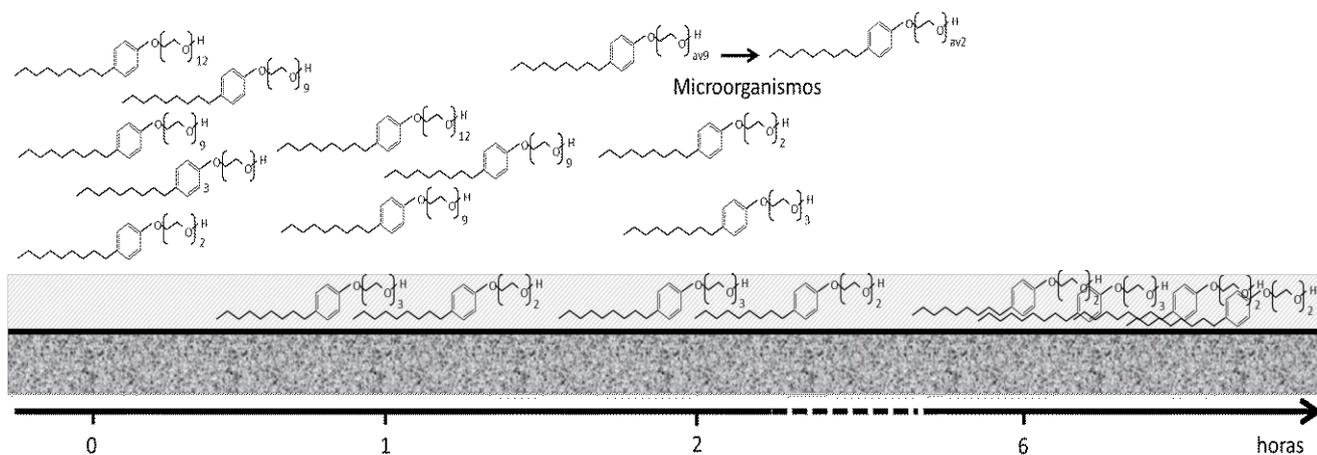


Figura 6.10. Mecanismo propuesto para la remoción de NPEO_x por tratamiento combinado

6.2.3. Estudio del proceso de tratamiento combinado por ensayos de respirometría intermitente

En el Capítulo 4 se analizó de la actividad respiratoria de barros activados para remover NPEO_x en el proceso de aclimatación. Se observó en la Figura 4.12 que a medida que transcurrieron los ciclos, la velocidad específica de respiración exógena máxima (q_{ex}) aumentó indicando que los barros activados eran cada vez más eficientes en la remoción de NPEO_x . La velocidad específica de respiración endógena (q_{en}) aumentó durante los primeros ciclos, indicando que los barros necesitaban un mayor consumo de energía para mantenimiento celular a los efectos de aclimatarse para degradar NPEO_x . Para analizar, cómo afecta la presencia de carbones durante la aclimatación de barros para degradar NPEO_x se analizó la respiración microbiana durante 10 ciclos de aclimatación en sistemas combinados barros activados - carbón activado y barros activados - lignito; se compararon los resultados obtenidos con el Sistema biológico sin presencia de carbones.

Se utilizó la técnica de respirometría intermitente, que permitió calcular la velocidad de respiración (R_T) en función del tiempo para cada ciclo de aclimatación, como se explicó en la sección 4.3. En la Figura 6.11 se muestran los Respirogramas

obtenidos para los dos primeros ciclos de aclimataciones a 300 mg/L de NPEO_{av9} para el tratamiento biológico y el tratamiento combinado barros activados – carbón activado.

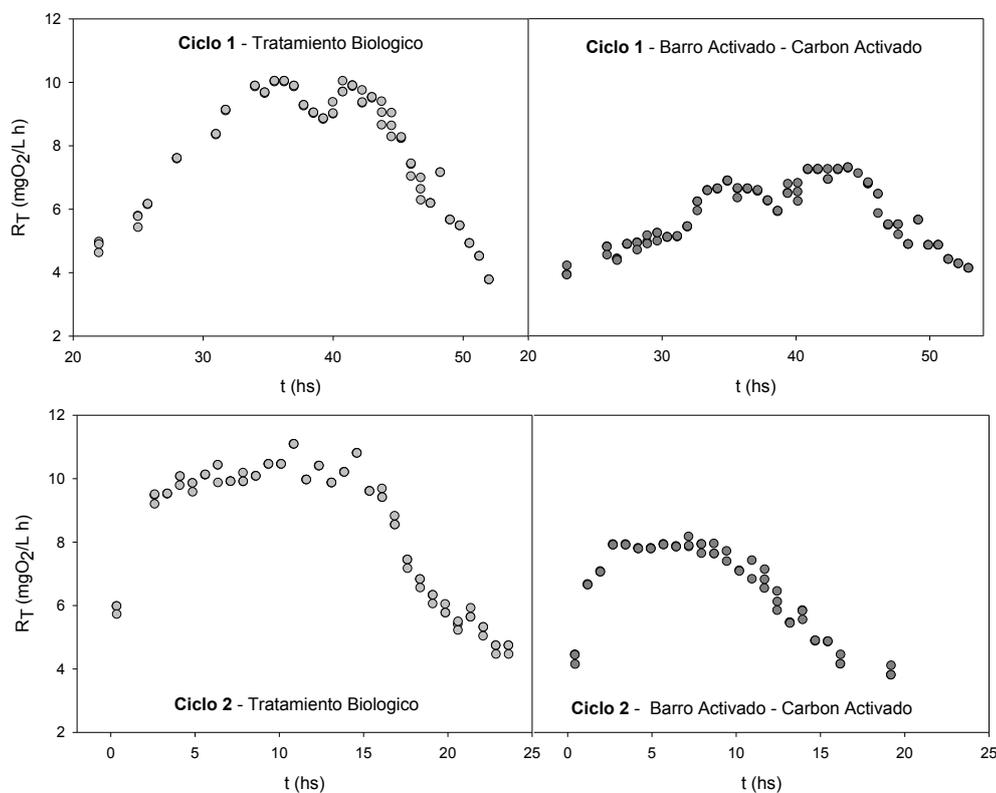


Figura 6 .11. Respirogramas para los dos primeros ciclos de aclimataciones a 300 mg/L de NPEO_{av9} correspondientes a los sistemas de Tratamiento Biológico y Barros Activado – Carbón Activado

En la Figura 6.11 se puede ver que existe un consumo de oxígeno tanto en tratamiento biológico como en el sistema combinado, ya que se advierte un aumento de la velocidad de consumo de oxígeno total (R_T) seguido por un descenso. Este hecho permite confirmar que, en el sistema combinado, se produce degradación aeróbica de una cierta fracción de NPEO_x . Además, aunque R_T es notoriamente inferior en el caso del tratamiento combinado frente al tratamiento biológico, las curvas resultaron análogas, indicando que la biodegradación en ambos sistemas ocurre por un mecanismo similar (Carvalho, 2004; Mezzanotte y col, 2003).

Los respirogramas mostrados en la Figura 6.11 sugieren que con barros no aclimatados, la degradación del NPEO_{av9} el tratamiento combinado ocurre en dos etapas sucesivas, por lo que el respirograma mostró dos picos, como se mostró en la sección 4.3 para el sistema biológico. A partir del tercer ciclo el consumo de NPEO_{av9}

no se distingue entre las etapas sucesivas; el tiempo necesario para remover del $NPEO_{av9}$ se mantiene aproximadamente constante coherente con la aclimatación de la comunidad microbiana a degradar $NPEO_x$ (Figura 6.12).

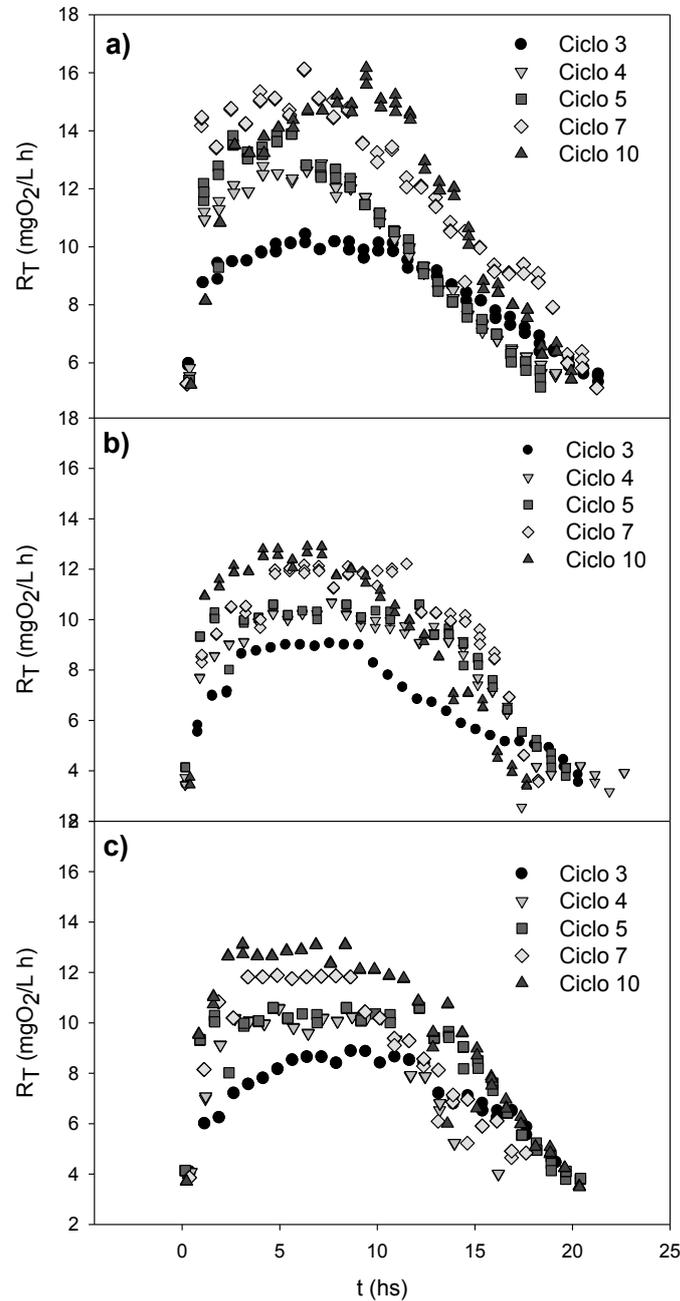


Figura 6 .12. Respirogramas del ciclo 3-10 de aclimatación a 300 mg/L de $NPEO_{av9}$ a) Barros Activados, b) Barros Activados – Carbón Activado y c) Barros Activados – Lignito

La velocidad de respiración total (R_T) resulta de la suma entre la velocidad endógena (R_{en}) correspondiente a la oxidación de su biomasa con el objeto de generar energía para mantenimiento celular y la velocidad de respiración exógena (R_{ex}) que corresponde a la velocidad de respiración asociada al consumo de un sustrato externo (Contreras y col., 2008). Los valores de R_T , R_{en} y R_{ex} son dependientes de la concentración de biomasa (X), por lo que, para hacer una comparación precisa, es necesario calcular la velocidad específica de consumo de oxígeno, que se obtiene dividiendo las velocidades de respiración por la concentración de biomasa promedio, utilizando las ecuaciones 4.11, 4.12 y 4.13.

Para los sistemas combinados se calculó la X corregida como se explicó en la sección 6.2.1. En la Tabla 6.1 se muestran los valores de velocidades de respiración exógena máximas para los sistemas Barros Activados (q_{BA}), Barros Activados – Carbón Activado (q_{BA-CA}) y Barros Activados – Lignito (q_{BA-LI}) para los diferentes ciclos de aclimatación. Se puede ver que a medida que avanzaron los ciclos, la velocidad específica de respiración exógena aumentaba indicando que los barros activados eran cada vez más eficientes en la remoción de $NPEO_x$. Luego se alcanzaba un valor aproximadamente constante coherente con barros aclimatados para degradar un contaminante (Lobo y col, 2013).

Para un mismo ciclo de aclimatación, los valores de las velocidades de respiración exógena resultaron menores para los tratamientos combinados que para el tratamiento biológico. La incorporación de carbones en sistemas biológicos ha sido estudiada por numerosos investigadores que informaron que la adición de carbones provocaba una disminución en la respiración microbiana en comparación con el sistema sin carbón coincidiendo con los resultados observados en el presente trabajo de Tesis. Diversos autores sostienen que la disponibilidad inmediata de la fuente de carbón disminuye debido a la presencia de material adsorbente (Sublette y col, 1982; Orozco y col, 2007; Shen y Arbuckle, 2016).

En la Tabla 6.1 se pueden ver las relaciones entre las velocidades de respiración de los tratamientos combinados con respecto al tratamiento biológico. Así, por ejemplo, para el ciclo 1 de aclimatación en los sistemas barros activados – carbón activado y barros activados – lignito la velocidad específica de respiración exógena resultó apenas un 32% y 33% (respectivamente) de la que se obtuvo en el tratamiento biológico. Esto propone que, como se observó en la sección 6.2.2, se produce en

primer lugar la adsorción de una fracción del contaminante y la velocidad de consumo correspondería al consumo del NPEO_x remanente, que se encuentra biodisponible.

Tabla 6.1: Velocidades de respiración exógena máxima para los sistemas Barros Activados (q_{BA}), Barros Activados – Carbón Activado (q_{BA-CA}) y Barros Activados – Lignito (q_{BA-LI}) para los diferentes ciclos de aclimatación

q_{Ex} (mgO ₂ /L h gSST)) máximas					
Ciclo (N°)	Barros Activados	Barros Activados – Carbón Activado	Barros Activados - Lignito	Relaciones Porcentuales	
	q_{BA}	q_{BA-CA}	q_{BA-LI}	q_{BA-CA} / q_{BA} (%)	q_{BA-LI} / q_{BA} (%)
1	2.44±0.07	0.77±0.02	0.80±0.05	32%	33%
2	2.78±0.08	1.12±0.01	1.05±0.15	41%	38%
3	2.92±0.05	1.86±0.01	1.61±0.08	64%	55%
4	3.97±0.08	2.24±0.00	2.12±0.02	56%	50%
5	4.50±0.05	2.69±0.00	2.19±0.09	60%	49%
7	5.36±0.28	2.89±0.13	2.89±0.01	54%	50%
10	5.45±0.18	3.7869±0.06	3.53±0.13	69%	61%

En la Figura 6.6. se observó que durante la primera hora de ensayo se obtuvo una remoción del 72.0% y 65.1% de NPEO_x para los sistemas barros activados - carbón activado y barros activados - lignito, por lo que quedarían en solución 28.0% y 34.9% NPEO_x, lo que se corresponde a la respiración exógena asociada al consumo de sustrato. A medida que transcurren los ciclos, las relaciones entre las velocidades de respiración exógena porcentuales (q_{BA-CA} / q_{BA} y q_{BA-LI} / q_{BA}) aumentaron hasta alcanzar un valor aproximadamente constante, posiblemente porque cada vez hay menos sitios activos del adsorbente disponibles y es menor la fracción de NPEO_x que inicialmente es adsorbida.

Si se produce en primer lugar la adsorción de una fracción del contaminante, la velocidad de respiración exógena correspondería al consumo del NPEO_x remanente

por el consorcio microbiano. Esto justifica que la velocidad de respiración exógena sea mayor para el lignito que para el carbón activado, ya que la capacidad de adsorción del carbón activado para remover NPEO_x es superior que la del lignito y entonces habría una concentración remanente es levemente superior de NPEO_x en el reactor biomasa – lignito y por ende un mayor consumo de oxígeno. Como se ve en la Tabla 6.1, esto ocurre en casi todos los ciclos, excepto en el ciclo 1, aunque por cercanía de los valores puede deberse a un error experimental.

La respiración de los microorganismos en ausencia de sustrato corresponde a la respiración endógena. La velocidad de respiración endógena (q_{en}) es indicativa de los requerimiento energéticos para el mantenimiento celular y en el capítulo 4 se observó que, la q_{en} aumenta durante los primeros ciclos, coherente con un proceso de aclimatación donde la biomasa modifica su metabolismo para poder asimilar el NPEO_x como única fuente de carbóno y energía, para lo cual necesitará un mayor consumo de energía para el mantenimiento celular; luego se estabiliza a partir del tercer ciclo cuando la biomasa está aclimatada a consumir NPEO_x. Para el caso de tratamiento combinado biomasa – carbón activado y biomasa – lignito se distingue una disminución apreciable de la velocidad especifica de consumo de oxigeno endógeno (Figura 6.13). Esto indica que la presencia de adsorbente favorece la adaptabilidad del consorcio microbiano al contaminante (Xiaojian y col, 1991; Çeçen y Aktas, 2011; Paredes Barro, 2013).

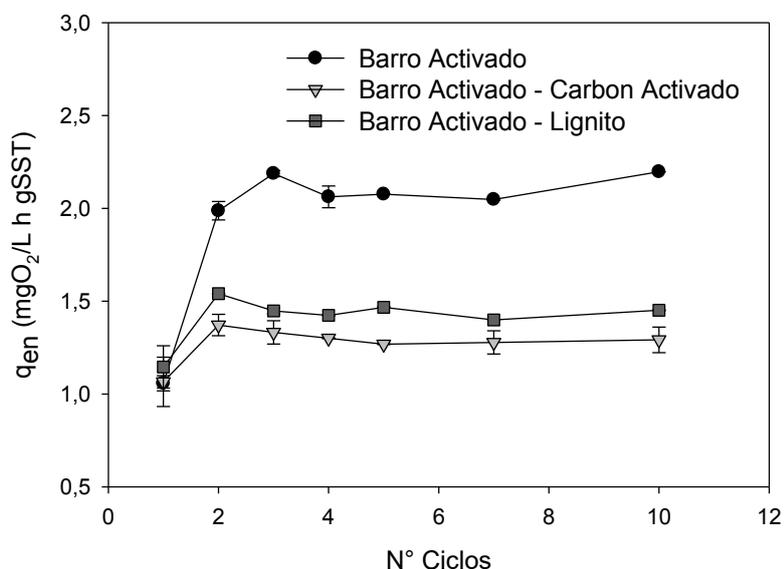


Figura 6.13: Velocidad específica de consumo de oxígeno endógeno en función del tiempo para los diferentes tipos de tratamiento para remover NPEO_{av9}.

En el Capítulo 4 no se ha detectado inhibición por concentraciones crecientes de NPEO_x, sin embargo, en las secciones 4.5.2 y 4.5.3. se advirtió que hay una acumulación de compuestos insolubles adheridos a la biomasa que podría causar un efecto negativo sobre el crecimiento microbiano y el mantenimiento celular. En la Figura 6.13 se observa que, en el tratamiento de barros activados, el consorcio microbiano requiere aproximadamente el doble de suministro de oxígeno para la respiración endógena en el último ciclo en comparación con el primero, mientras que en los sistemas combinados el requerimiento es menor. Los resultados obtenidos coinciden con lo informado por varios autores que reportan una sinergia aparente; es decir, el efecto total de la adsorción sobre carbones y la oxidación biológica actuando juntos es mayor que la suma de los efectos individuales, cada uno de ellos tomado de forma independiente. La explicación de este efecto sinérgico se ha atribuido a la estimulación de la actividad biológica mediante la eliminación de sustancias inhibitoras (Sher y col, 2000; Çeçen y Aktas, 2011; Wu y co, 2014; Jafarinejad, 2017). Se ha observado que la adsorción de una sustancia inhibitora o tóxica por el material adsorbente aparentemente restringe el contacto entre la sustancia tóxica y los microorganismos de un sistema de lodos activados. En presencia de los carbones, los organismos experimentan una menor concentración del contaminante en su microambiente que la que existiría en ausencia de una superficie de adsorción (Wu y co, 2014).

El mecanismo de adición de materiales adsorbentes a los barros activados logró la remoción completa del NPEO_x e impartió estabilidad al sistema de barros activado ante los problemas que causa de la adición del contaminante. Asimismo, el índice volumétrico de lodos (IVL) obtenido en los sistemas Barro Activado - Carbón Activado y Barro Activado - Lignito al finalizar el ensayo resultó 133.3 mL/g y 125.4 mL/l, por lo que los sistemas combinados poseen mejores características de compactación y de sedimentación de barros en comparación con el tratamiento biológico (IVL=153.2 ml/l, sección 4.7.2).

6.4. Conclusiones del Capítulo

Se ha observado que las transformaciones de NPEO_x en reactores de barros activados resultan en la acumulación del disruptor endócrino Nonilfenoldietoxilado

(NPEO₂); por otra parte el proceso por adsorción con carbones como única etapa de tratamiento genera una fracción de NPEO_x no adsorbida que está compuesta principalmente por NPEO_x de cadena etoxilada larga, que al ser dispersados en el ambiente generarán NPEO_x de cadena corta, que provocan alteraciones endocrinas. Asimismo, como el proceso de adsorción en carbones favorece la adsorción de oligómeros de cadena corta que se producen en el tratamiento biológico, el tratamiento por adsorción con carbones resulta un sistema complementario o tratamiento terciario adecuado para la remoción de NPEO_x de aguas residuales

Por tal razón, en esta capítulo se analizó la aplicación de tratamientos combinados para remover NPEO_x de aguas residuales

- ✓ En primer lugar, se analizó el proceso de adsorción con carbones como un tratamiento terciario, posterior al tratamiento biológico.
- ✓ Cuando el agua residual fue previamente tratada biológicamente en reactores de barro activados aplicando adsorción se obtuvo una remoción completa del contaminante incluso con el adsorbente más económico.
- ✓ El análisis de la distribución de oligómeros por HPLC no detectó NPEO₂ al finalizar el tratamiento por adsorción aún cuando previamente se había aplicado el tratamiento biológico
- ✓ La cantidad de material utilizado como adsorbente se redujo de 3 a 15 veces, cuando el tratamiento biológico de aguas residuales que contienen NPEO_x se realizaba antes de la adsorción.
- ✓ La utilización del proceso de adsorción como tratamiento terciario o de refinado es un procedimiento apto para la eliminación de estos contaminantes orgánicos que no son tratables mediante sistemas convencionales de tratamiento.
- ✓ También se estudió el tratamiento combinado en una sola etapa en la que se agregó carbón activado o lignito en polvo al sistema de tratamiento biológico de tratamiento aeróbico.
- ✓ La adición de materiales adsorbentes a los barro activados logró la remoción completa del NPEO_x

- ✓ Para el caso de tratamiento combinado biomasa - carbón activado y biomasa-lignito se observó una disminución apreciable de la velocidad específica de consumo de oxígeno endógeno durante el proceso de aclimatación. Esto indicó que la presencia de adsorbente favorece la adaptabilidad del consorcio microbiano al contaminante.
- ✓ El barro del tratamiento combinado en una sola etapa mostró buenas características de compactación y de sedimentación y produjo un consorcio estable ante la adición del contaminante.
- ✓ La mezcla de carbones con la biomasa en el tratamiento potencia la actividad de los microorganismos, ya que tiene la capacidad de adsorber, retener y ceder oxígeno en su superficie, favoreciendo una mejora en la eficiencia de la eliminación de contaminantes orgánicos por medio de la biomasa. Además, los carbones adsorben sobre su superficie los compuestos tóxicos, facilitando la adaptabilidad del consorcio microbiano a compuestos tóxicos.



CAPITULO 7

Conclusiones Generales

En este trabajo de tesis se estudió la aplicación de tratamientos combinados (biológicos y fisicoquímicos) en aguas residuales conteniendo el contaminante emergente: Nonilfenol Polietoxilado (NPEO_x).

Los Nonilfenoles Polietoxilados (NPEO_x, donde x indica el número promedio de unidades etoxiladas) son una familia de surfactantes que se utilizan en grandes cantidades, tanto en procesos industriales como en productos de limpieza, y pueden comportarse como disruptores endócrinos.

Estos compuestos se caracterizan por tener una parte hidrofóbica y otra hidrofílica. La parte hidrofílica se encuentra en posición para- al grupo alquilo y está formada por una cadena de unidades de óxido de etileno (EO_x).

Los NPEO_x comerciales son mezclas polidispersas compuestas por una distribución normal de oligómeros con un número promedio de unidades de óxido de etileno o unidades etoxiladas "x".

En esta tesis se estudiaron tres mezclas comerciales de NPEO_x con x= 5, 9 y 12 denominadas NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}, respectivamente. Cada una de estas mezclas comerciales estaba constituida por una distribución normal de oligómeros (NPEO_i), donde el oligómero con unidades etoxiladas igual al promedio de la mezcla era el mayoritario (NPEO₅, NPEO₉ y NPEO₁₂).

En el capítulo 3, se desarrolló un método de HPLC-UV para la determinación cuantitativa de los oligómeros presentes en las muestras de agua con NPEO_x. El método comprendió una separación parcial de los oligómeros usando una columna C₈ de fase inversa, la fase móvil empleada fue AcN/H₂O 70:30 (v/v) en el modo isocrático, operado a 30°C. Utilizando el software PeakFit se comprobó que las muestras de mezclas comerciales ensayadas concordaban con la distribución de Poisson y que la absorción molar de cada NPEO_i no dependía del número de unidades etoxiladas (i), se estableció entonces una metodología para la determinación de la distribución del tamaño molecular de NPEO_i en muestras con una distribución desconocida.

Para cada muestra, se obtuvieron el tiempo de retención, el área individual de cada oligómero NPEO_i (A_i) y el área total del NPEO_x (A_T) usando el software PeakFit. Debido a que el tiempo de retención correspondiente a cada NPEO_i era conocido, la fracción molar de cada NPEO_i se calculó como la relación A_i/A_T. La metodología

propuesta se comprobó utilizando mezclas comerciales preparadas y en todos los casos el error absoluto fue menor al 5% de la concentración real. Por lo tanto, el método de HPLC-UV desarrollado en el presente trabajo de tesis resultó útil para analizar muestras comerciales con distribuciones desconocidas de NPEO_i.

En el capítulo 4 se demostró que los reactores biológicos batch de barros activados resultaron adecuados para degradar NPEO_x con barros previamente aclimatados a fenol. Estos barros aclimatados a fenol presentaron un período de adaptación a NPEO_x de 30 a 50 horas, luego de este período, el tiempo requerido para la remoción de NPEO_x se estableció en 10 hs.

La aclimatación de los barros se logró luego de 3 ciclos de operación del reactor conservándose en los ciclos posteriores; por otra parte, no se observó inhibición por sustrato (NPEO_x) del consorcio microbiano en el rango de concentraciones estudiado. También se advirtió, a partir del ciclo 3, un consumo de nitrógeno amoniacal total (NAT) que se correspondió al consumo de NPEO_x observado, por lo que se puede asociar este consumo al requerido para la biooxidación de NPEO_x. Sin embargo, no se pudo correlacionar parte del crecimiento de la biomasa (X) al consumo de NAT. Se observó un crecimiento de concentración de biomasa (X) de manera concomitante al crecimiento microbiano, coherente con un consumo de NAT, y un aumento de X no asociado al crecimiento celular.

Luego del período de aclimatación, los rendimientos celulares se estabilizaron en 0.30 ± 0.07 mgSST/mgDQO_s y 34.4 ± 6.6 mgSST/mmolEO_x. A partir del estudio de la cinética del proceso de degradación, pudo obtenerse un valor de velocidad específica de crecimiento microbiano μ de 0.034 h^{-1} , ajustándose correctamente el modelo Monod a los datos obtenidos experimentalmente. Los resultados demostraron que el rendimiento en biomasa de los barros activados aclimatados a NPEO_x disminuyó (en forma hiperbólica) con el aumento de la concentración inicial de NPEO_x. Este comportamiento se observa en los casos en que un cierto sustrato puede presentar un efecto tóxico para la biomasa que lo está metabolizando. La toxicidad podría deberse a formación de algún metabolito tóxico durante la utilización del sustrato.

El análisis de los respirogramas indicó que partir del 3º ciclo, el consumo de NPEO_x ocurriría en una sola etapa, o no se distingue entre las etapas sucesivas. El tiempo necesario para remover del NPEO_x se mantuvo aproximadamente constante,

confirmando que a partir de ese ciclo ocurre la aclimatación de los barros para degradar NPEO_x. Se obtuvo un valor medio del coeficiente de oxidación ($Y_{o/s}$) de $7.1 \pm 0.8 \text{ molO}_2/\text{mol NPEO}_x$.

A medida que avanzaron los ciclos de aclimatación la velocidad específica de respiración exógena (q_{ex}) aumentó, indicando que los barros activados eran cada vez más eficientes en la remoción de NPEO_x. Por otro lado, la velocidad específica de respiración endógena (q_{en}) aumentó durante los primeros ciclos, coherente con un proceso de aclimatación donde la biomasa modifica su metabolismo para poder asimilar el NPEO_x como única fuente de carbón y energía, para lo cual necesita un mayor consumo de energía para mantenimiento celular. Luego q_{en} se estabilizó a partir del tercer ciclo cuando la biomasa estuvo aclimatada a consumir NPEO_x.

El consorcio aclimatado a NPEO_x fue capaz de acumular Polihidroxialcanoato (PHA), con un rendimiento del polímero extraído de 0.153 % (gPHA/gST). El análisis de la biodegradación por HPLC mostró la producción de metabolitos insolubles. Se comprobó entonces que, el aumento de biomasa (X) observado era originado por productos de degradación adheridos a la biomasa y compuestos sintetizados intracelularmente como reserva de carbón y energía, como los polihidroxialcanoatos (PHA).

El análisis detallado de la concentración de cada uno de los oligómeros por HPLC permitió comprobar que durante la biodegradación de NPEO_x por el cultivo microbiano, los oligómeros con cadenas etoxiladas más largas desaparecían progresivamente, mientras que los oligómeros con cadenas cortas eran más persistentes y el Nonilfenoldietoxilado (NPEO₂) se acumulaban como el principal producto final. La despolimerización de NPEO_x por parte de los microorganismos que genera NPEO_x de cadena corta, los cuales son mas hidrofóbicos, pueden desestabilizar la membranas de las bacterias, alterando el normal funcionamiento de las mismas. Debido a esto, los microorganismos tendrían que destinar una mayor fracción de la energía que producen, en funciones de mantenimiento celular, esto determinará una disminución de la producción de biomasa, y por lo tanto, del rendimiento celular.

Para todas las mezclas comerciales estudiadas (NPEO_{av5}, NPEO_{av9} y NPEO_{av12}), la biodegradación se produjo por el acortamiento de la cadena etoxilada, lo

que condujo a la acumulación de NPEO_2 indistintamente de la cantidad de grupos etoxilado promedio del NPEO_x utilizado como fuente de carbón. Asimismo, se observó un aumento de la concentración de biomasa (X) en orden creciente según $\text{NPEO}_{\text{av}5} < \text{NPEO}_{\text{av}9} < \text{NPEO}_{\text{av}12}$ lo cual confirmaría que el carbón para el crecimiento se derivaba exclusivamente de la cadena de etoxilada.

El mecanismo propuesto implica que la biodegradación de NPEO_x procede a través de la eliminación secuencial de la cadena etoxilada. La despolimerización de NPEO_x liberaría acetaldehído al medio y este se oxidaría para formar acetato. Luego, el acetato se metabolizaba para producir PHA y biomasa. El consumo de oxígeno obtenido ($Y_{o/s}$) se corresponde con la oxidación del aldehído a acetato, con la síntesis de PHA y el crecimiento de los microorganismos.

Este mecanismo de degradación conduce a la acumulación de productos de degradación más tóxicos que los que le dieron origen, como el Nonilfenoldietoxilado (NPEO_2), por lo que este tipo de tratamiento (biológico) por sí solo no es suficiente para eliminar estos compuestos de las aguas residuales.

En el Capítulo 5 se analizó la capacidad del carbón activado y del lignito, como una alternativa de adsorbente económico, para remover varias mezclas comerciales de NPEO_x de aguas residuales.

Se realizó la caracterización de las mezclas comerciales de NPEO_x que consistió en la determinación del área por molécula de surfactante, donde se comprobó que la misma aumenta según el siguiente orden: $\text{NPEO}_{\text{av}5} < \text{NPEO}_{\text{av}9} < \text{NPEO}_{\text{av}12}$. Se determinó que la concentración micelar crítica (CMC) disminuía levemente a medida que aumentaba la longitud de la cadena etoxilada, ya que depende principalmente de la estructura hidrofóbica.

Se caracterizaron las muestras de carbón activado comercial y lignito. El área de la superficie total de carbón activado fue superior a la del lignito. Sin embargo, la distribución del área de poros mostró que el 40.1 % de los poros del Carbón activado eran demasiado pequeños para la adsorción de NPEO_x . Los espectros IR mostraron que los grupos funcionales principales en la superficie de los carbóns son O-H fenólico, C=C, C-C y C-H de anillos aromáticos y C=O de diversa naturaleza, que producen un comportamiento anfótero de superficies.

A partir del tratamiento por adsorción con ambos adsorbentes se obtuvieron porcentajes de remoción superiores a 85%. El análisis por HPLC de la distribución de oligómeros individuales mostró una clara adsorción selectiva hacia NPEO_x de cadena corta; este fenómeno resultó ser más pronunciado en las muestras con un promedio mayor de unidades etoxiladas.

Se determinó la cantidad de adsorbente necesaria para la remoción de las mezclas comerciales de tensioactivos. Se requirió más cantidad de adsorbente por gramo de adsorbato para mezclas comerciales con un promedio mayor de unidades etoxiladas. Fueron necesarias 3.75 veces más carbón activado y 2 veces más lignito para adsorber NPEO_{av9} y NPEO_{av12} que la que se necesita para adsorber la misma cantidad de NPEO_{av5}. Esto indica que las estructuras micro y mesoporosas como el carbón activado, presentan una menor eficiencia en la remoción por adsorción de moléculas voluminosas, como los NPEO_x con largas cadenas etoxiladas, en comparación con sólidos con poros de mayor tamaño como el lignito.

El análisis del potencial Z en diferentes mezclas comerciales mostró que las diferencias en un grupo EO_x no influirían significativamente en el comportamiento de la carga, lo que indicaría que la principal fuerza impulsora para la adsorción es la energía de interacción hidrófoba, entre el carbón y los tensioactivos. Sin embargo, las isothermas de adsorción de NPEO_x sobre Carbón activado y Lignito a temperatura constante mostraron que la capacidad de adsorción disminuyó con el aumento de longitud de cadena etoxilada (EO_x). Esto implica que la necesidad de espacio para cada molécula aumentó con el aumento de longitud de cadena. Esto pudo ser fundamentado con el hecho que las cadenas etoxiladas se orientan hacia la solución causando un impedimento estérico en sus sitios vecinos, y este impedimento es mayor cuanto más larga es la cadena etoxilada; por eso se explica que la capacidad de adsorción de NPEO_{av5} sea mayor que la de NPEO_{av12}.

Los resultados revelaron que la isoterma de adsorción de Langmuir fue el modelo que mejor se adaptó para explicar la adsorción de NPEO_x sobre carbón activo y lignito y la cinética de pseudo segundo orden resultó adecuada para modelar el proceso de adsorción de NPEO_x sobre carbón activado.

El análisis de los parámetros termodinámicos indicó que la adsorción estaba dominada principalmente por interacciones físicas, aunque algunas interacciones más

químicas son también posibles. Por lo tanto, el mecanismo de remoción consiste en la adsorción de la porción no polar de la molécula NPEO_x, que se adsorbe sobre la superficie a través de interacciones de van der Waals y desplaza moléculas de agua de la superficie. Las cadenas EO_x se orientan lejos de la superficie causando un impedimento estérico que disminuye al acortarse la longitud de la cadena EO_x. Por este motivo resulta más favorable la remoción de NPEO_x por adsorción cuando la cadena de EO_x es más corta.

Este mecanismo de adsorción, favorable a NPEO_x de cadena corta genera un remanente de oligómeros de cadena larga en una etapa de tratamiento. Como los oligómeros de cadena corta se producen durante el tratamiento biológico, el tratamiento por adsorción con carbones resulta un sistema complementario o tratamiento terciario adecuado para la remoción de NPEO_x de aguas residuales. Por otra parte, si el proceso de adsorción se utiliza como único sistema de tratamiento, el efluente descargado al cuerpo receptor estaría formado principalmente por oligómeros de cadena larga. Estos oligómeros no pueden ser diseminados en el medio ambiente ya que podría transformarse en NPEO_x de cadena corta, que generan efectos de alteración endócrina.

Como las transformaciones de NPEO_x en reactores de barros activados resultan en la acumulación del disruptor endócrino Nonilfenoldietoxilado (NPEO₂) y como el proceso de adsorción en carbones favorece la adsorción de oligómeros de cadena corta que se producen en el tratamiento biológico, en el Capítulo 6 se analizó la aplicación de tratamientos combinados para remover NPEO_x de aguas residuales.

En primer lugar, se analizó el proceso de adsorción con carbones como un tratamiento terciario, posterior al tratamiento biológico, el cual obtuvo una remoción completa del contaminante, incluso con el adsorbente más económico (lignito), con la ventaja que no se detectó el oligómero NPEO₂ al finalizar el tratamiento por adsorción. Además, la cantidad de material necesario como adsorbente se reducía entre 3 y 15 veces, si el tratamiento biológico de aguas residuales que contienen NPEO_x se realizaba antes de la adsorción.

Asimismo, se estudió el tratamiento combinado en una sola etapa en la que se agregó carbón activado o lignito en polvo al sistema de tratamiento aeróbico que logró la remoción completa del NPEO_x. El barro activado del tratamiento combinado en

una sola etapa mostró buenas características de compactación y de sedimentación y produjo un consorcio estable frente a la adición del contaminante. La mezcla de carbones con la biomasa en el tratamiento potenció la actividad de los microorganismos, favoreciendo una mejora en la eficiencia de la eliminación de NPEO_x.

La adición de adsorbentes carbonoso al recipiente aireado del proceso de barro activado

- ✓ Incrementó la eficiencia de la eliminación del contaminante
- ✓ Aumentó el rendimiento del proceso comparado con barro activado convencional, produciendo una mejor separación del barro
- ✓ Potenció la actividad del consorcio microbiano, facilitando su adaptabilidad al contaminante

En resumen, se observó un efecto sinérgico entre la adsorción con carbones y la biodegradación. La interacción permitió un tratamiento más eficaz de las aguas residuales contaminadas con NPEO_x

Bibliografía

Abhuri, K. (2003). "Adsorption of phenol and p-chlorophenol from their single and bisolute aqueous solutions on Amberlite XAD-16 resin." *Journal of Hazardous Materials*, 105(1), 143-156.

Acero, J.(2012). "Retention of emerging micropollutants from UP water and a municipal secondary effluent by ultrafiltration and nanofiltration." *Chemical Engineering Journal*, 163, 264-272

Acero, J.L., Javier Benitez, F., Real, F.J. and Teva, F. (2012). "Coupling of adsorption, coagulation, and ultrafiltration processes for the removal of emerging contaminants in a secondary effluent." *Chemical Engineering Journal*, 210(0), 1-8.

Ahel, M. and Giger, W. (1993a). "Aqueous solubility of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates." *Chemosphere*, 26 (8), 1461–1470.

Ahel, M. and Giger, W. (1993b) "Partitioning of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates between water and organic solvents." *Chemosphere*, , 26 (8), 1471–1478.

Ahel, M., Giger, W., y Koch, M. (1994). "Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment—I. Occurrence and transformation in sewage treatment." *Water Research*, 28(5), 1131-1142.

Ahmad, A. L., Loh, M. M., y Aziz, J. A. (2007). "Preparation and characterization of activated carbón from oil palm wood and its evaluation on methylene blue adsorption". *Dyes and Pigments*, 75(2), 263-272.

Ahmadi, M. A., y Shadizadeh, S. R. (2013). "Experimental investigation of adsorption of a new nonionic surfactant on carbónate minerals". *Fuel*, 104, 462-467.

Aktaş, Ö., y Ceçen, F. (2001). "Addition of activated carbón to batch activated sludge reactors in the treatment of landfill leachate and domestic wastewater". *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 76(8), 793-802.

Aktaş, Z. (2000). "Effect of non-ionic reagent adsorption on zeta potential of fine coal particles". *Turkish Journal of Chemistry*, 24(2), 117-130.

Aktas, Z. y Woodburn, E. T. (1994). The adsorption behaviour of nonionic reagents on two low rank British coals. *Minerals engineering*, 7(9), 1115-1126.

Andler, R. y Díaz-Barrera, A. (2013). "Ingeniería para producir plásticos desde bacterias". *Ingenerare*, 27, 29-36.

Andreottola, G. y Foladori, P. (2007). "Treatability evaluation. Wastewater Quality Monitoring and Treatment", 179.

Arcos-Hernandez, M. V., GuriEFF, N., Pratt, S., Magnusson, P., Werker, A., Vargas, A. y Lant, P. (2010). "Rapid quantification of intracellular PHA using infrared spectroscopy: an application in mixed cultures". *Journal of biotechnology*, 150(3), 372-379.

Argemi F., Cianni N., Porta A. (2005). Disrupción endócrina: perspectivas ambientales y salud pública. *Acta bioquímica Clínica Latinoamericana*, 39 (3), 291-300.

Arias, J. M., Paternina, E. y Barragán, D. (2009). "Physical adsorption on solids: thermodynamic aspects." *Química Nova*, 32(5), 1350-1355.

Asada, T., Oikawa, K., Kawata, K., Ishihara, S., Iyobe, T., y Yamada, A. (2004). "Study of removal effect of bisphenol A and-estradiol by porous carbón". *J. Health Science*, 50(6), 588-593.

Atkins, P. y Jones, L. (2006). *Principios de química: los caminos del descubrimiento*. Ed. Médica Panamericana.

Atta, A. M., Dyab, A. K., y Al-Lohedan, H. A. (2013). "Micellization and adsorption behaviors of new reactive polymerizable surfactants based on modified nonyl phenol ethoxylates". *Journal of Surfactants and Detergents*, 16(3), 343-355.

Auriol, M., Filali-Meknassi, Y., Tyagi, R. D., Adams, C. D. y Surampalli, R. Y. (2006). "Endocrine disrupting compounds removal from wastewater, a new challenge". *Process Biochemistry*, Vol 41(3), 525-539.

Babel, S., y Kurniawan, T. A. (2003). "Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review". *Journal of hazardous materials*, 97(1), 219-243.

Bai, Y., Lin, D., Wu, F., Wang, Z., y Xing, B. (2010). "Adsorption of Triton X-series surfactants and its role in stabilizing multi-walled carbon nanotube suspensions". *Chemosphere*, 79(4), 362-367.

Baleaux, M. B. (1972). "Chimie analytique—dosage colorimétrique d'agents de surface non ioniques polyoxyéthylènes à l'aide d'une solution iodo-iodurée." *CR Acad. Sci.(Paris)*, 274, 1617-1620.

Ball, H. A., Reinhard, M. y McCarty, P. L. (1989). "Biotransformation of halogenated and nonhalogenated octylphenol polyethoxylate residues under aerobic and anaerobic conditions." *Environmental science y technology*, 23(8), 951-961.

Barber, L.B., Thurman, E.M., Schroeder, M.P. and Leblanc, D.R. (1988). "Long-term Fate of Organic Micropollutants in Sewage-Contaminated Groundwater." *Environmental Science and Technology*, 22 (2), 205-211

Bärlocher, F., Guenzel, K., Sridhar, K. R., y Duffy, S. J. (2011). "Effects of 4-n-nonylphenol on aquatic hyphomycetes". *Science of the total environment*, 409(9), 1651-1657.

Barrett, E. P., Joyner, L. G., y Halenda, P. P. (1951). "The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms." *Journal of the American Chemical society*, 73(1), 373-380.

Basile, L. A. (2009). "Estructura y dinámica de comunidades bacterianas en sistemas de barros activados que degradan fenol" Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Bester, K., Theobald, N. y Schröder, H. F. (2001). "Nonylphenols, nonylphenol-ethoxylates, linear alkylbenzenesulfonates (LAS) and bis (4-chlorophenyl)-sulfone in the German Bight of the North Sea." *Chemosphere*, 45(6), 817-826.

Bhatnagar, A., y Sillanpää, M. (2009). "Applications of chitin-and chitosan-derivatives for the detoxification of water and wastewater-a short review". *Advances in Colloid and Interface Science*, 152(1), 26-38.

"BID (Banco Interamericano de Desarrollo) (2013). "Water Supply and Sewerage". Informe N° 12810AR. <https://www.iadb.org>"

Blackburn, M. A., y Waldock, M. J. (1995). "Concentrations of alkylphenols in rivers and estuaries in England and Wales." *Water research*, 29(7), 1623-1629.

Bodzek M. y Dudziak M. (2006). "Elimination of steroidal sex hormones by conventional water treatment and membrane processes" *Desalination.*, 198, 24-32.

Bolong, N., Ismail, A. F., Salim, M. R., Matsuura, T. (2009). "A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal". *Desalination*, 239(1), 229-246.

Bonfeld-Jorgensen, E. C., Long, M., Hofmeister, M. V., y Vinggaard, A. M. (2007). "Endocrine-disrupting potential of bisphenol A, bisphenol A dimethacrylate, 4-n-nonylphenol, and 4-n-octylphenol in vitro: new data and a brief review". *Environmental Health Perspectives*, Vol 115, 69.

Botkin D.B. y Keller E.A. (2000). "Environmental science Earth as a living planet." Tercera Edition, John Wiley y Sons, New York, USA.

Bougrier, C., Delgenès, J. P. y Carrère, H. (2008). "Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion". *Chemical Engineering Journal*, 139(2), 236-244.

Bouki, C., Dvorakova, M. y Diamadopoulos, E. (2010). "Adsorption of nonylphenol on activated sludge biomass under aseptic conditions". *CLEAN–Soil, Air, Water*, 38(5-6), 516-520.

Brandão, P. C., Souza, T. C., Ferreira, C. A., Hori, C. E., y Romanielo, L. L. (2010). "Removal of petroleum hydrocarbons from aqueous solution using sugarcane bagasse as adsorbent." *Journal of hazardous materials*, 175(1), 1106-1112.

Bravo, B., Márquez, N., Ysambertt, F., Chávez, G., Cáceres, A., Bauza, R. y Salager, J. L. (2006). "Phase behavior of fatty acid/oil/water systems: effect of the alkyl length chain acid. Journal of surfactants and detergents." 9(2), 141-146.

Breuer, U. (2010). "Plastics from Bacteria–Natural Functions and Applications". Biotechnology Journal, 5(12), 1351-1351.

Brix, R., Hvidt, S. y Carlsen, L. (2001). Solubility of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates. On the possible role of micelles. Chemosphere, 44(4), 759-763.

Brunauer, S., Deming, L. S., Deming, W. E. y Teller, E. (1940). "On a theory of the van der Waals adsorption of gases". Journal of the American Chemical society, 62(7), 1723-1732.

Brunner, P. H., Capri, S., Marcomini, A., y Giger, W. (1988). "Occurrence and behaviour of linear alkylbenzenesulphonates, nonylphenol, nonylphenol mono-and nonylphenol diethoxylates in sewage and sewage sludge treatment". Water Research, 22(12), 1465-1472.

Burdon, K (1946). "Fatty material in bacteria and fungi revealed by staining dried, fixed slide preparations". Department of Bacteriology and Immunology, Baylor University College of Medicine, Houston, Texas.

Calcagno, A., Urbano Jáuregui, L., Planas, A. C., Gaviño Novillo, M., Mendiburo, N., y South American Technical Advisory Committee. (2000). "Informe sobre la gestión del agua en la República Argentina". Buenos Aires: CEPAL, Naciones

Calvo, E., Bravo, R., Amigo, A. y Gracia-Fadrique, J. (2009). "Dynamic surface tension, critical micelle concentration, and activity coefficients of aqueous solutions of nonyl phenol ethoxylates". Fluid Phase Equilibria, 282(1), 14-19.

Campos, J. C., Machado, C. R. A., Couto, J. M. S., Florido, P. L., Cerqueira, A. C. F. P., y Santiago, V. M. J. (2014). "Evaluation of an activated sludge process combined with powdered activated carbón for the treatment of oil refinery wastewater." Journal Of International Environmental Application And Science, 9(1), 24.

Cassidy, O. E., Rowley, G., Fletcher, I. W., Davies, S. F. y Briggs, D. (1999). "Surface modification and electrostatic charge of polystyrene particles". *International journal of pharmaceutics*, 182(2), 199-211.

Cates, M. E. y Candau, S. J. (1990). "Statics and dynamics of worm-like surfactant micelles". *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2(33), 6869.

Cavalheiro, J. M., de Almeida, M. C. M., Grandfils, C., y Da Fonseca, M. M. R. (2009). "Poly (3-hydroxybutyrate) production by *Cupriavidus necator* using waste glycerol." *Process Biochemistry*, 44(5), 509-515.

Çeçen, F. y Aktas, Ö. (2011). "Activated carbón for water and wastewater treatment: Integration of adsorption and biological treatment". John Wiley y Sons.

Celik, M. S. (1989). "Adsorption of ethoxylated sulfonate and nonionic homologs on coal". *Journal of colloid and interface science*, 129(2), 428-440.

Celik, M. S. y Yoon, R. H. (1991). "Adsorption of poly (oxyethylene) nonylphenol homologs on a low-ash coal." *Langmuir*, 7(8), 1770-1774.

CEPA (Canada Environmental Protection Act) (1999). "Priority Substances List Assessment Report-Nonylphenol and Its Ethoxylates". Environment Canada, Health Canada.

CES (1993) . "Uses, fate and entry to the environment of Ž . nonylphenol ethoxylates". Report for the Department of the Environment UK by Consultants in Environmental Sciences Ltd, Beckenham.

Chakraborty, S., Chowdhury, S., y Saha, P. D. (2011). "Adsorption of Crystal Violet from aqueous solution onto NaOH-modified rice husk." *Carbohydrate Polymers*, 86(4), 1533-1541.

Chan, Y. J., Chong, M. F., Law, C. L. y Hassell, D. G. (2009). "A review on anaerobic-aerobic treatment of industrial and municipal wastewater". *Chemical Engineering Journal*, Vol 155(1), 1-18.

Chattopadhyaya, G., Macdonald, D. G., Bakhshi, N. N., Mohammadzadeh, J. S. S. y Dalai, A. K. (2006). "Preparation and characterization of chars and activated carbóns from Saskatchewan lignite". *Fuel processing technology*, 87(11), 997-1006.

Chiu, T. Y., Paterakis, N., Cartmell, E., Scrimshaw, M. D. y Lester, J. N. (2010). "A critical review of the formation of mono-and dicarboxylated metabolic intermediates of alkylphenol polyethoxylates during wastewater treatment and their environmental significance." *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 40(3), 199-238.

Choi, M. S., Park, H. J., Oh, J. H., Lee, E. H., Park, S. M., y Yoon, S. (2014). "Nonylphenol-induced apoptotic cell death in mouse TM4 Sertoli cells via the generation of reactive oxygen species and activation of the ERK signaling pathway". *Journal of Allied Toxicology*, 34(6), 628-636.

Chokwe, T. B., Okonkwo, J. O., y Sibali, L. L. (2017). Distribution, exposure pathways, sources and toxicity of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in the environment. *Water SA*, 43(4), 529-542.

Chrostowski, P. (2002). "Fact Sheet: Alkylphenols in Biosoilds". CPF Associates Inc. Takoma Park, MD, USA.

CIR (Cosmetic Ingredient Review) (1983). "Final report on the safety assessment of Nonoxynols -2, -4, -8, -9, -10, -12, -14, -15, -30, -40, and -50." *Journal of American College of Toxicolog*, 2 (7), 35-60.

Cocolin, L., Manzano, M., Cantoni, C., y Comi, G. (2001). "Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of the 16S rRNA gene V1 region to monitor dynamic changes in the bacterial population during fermentation of Italian sausages." *Applied and Environmental Microbiology*, 67(11), 5113-5121.

Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture (2007). "Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture. Water for Food, Water for Life: A Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture. London: Earthscan, and Colombo:." International Water Management Institute.

Contreras, E. (2006). "Optimización de los procesos de tratamiento biológico de efluentes industriales para la remoción de carbón y nitrógeno" (Doctoral dissertation, Facultad Regional La Plata).

Corvini, P. F. X., Schäffer, A. y Schlosser, D. (2006). "Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols—our eving view." *Alied microbiology and biotechnology*, 72(2), 223-243.

Cox, C. (1996). "Nonylphenol and Related Chemicals". *Journal of Pesticide Reform Spring*, 16(1), 15-20.

CSD (Community Services District) (1997 a). "Comprehensive Assessment of the Freshwater Resources of the World. Report of the SecretaryGeneral." *United Nations Economics and Social Council* , 170.

Dai, S., y Tam, K. C. (2003). "Isothermal titration calorimetric studies of alkyl phenol ethoxylate surfactants in aqueous solutions". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 229(1), 157-168.

Demirbas, A. (2008). "Heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: a review". *Journal of hazardous materials*, 157(2), 220-229.

Di Corcia, A., Costantino, A., Crescenzi, C., Marinoni, E., y Samperi, R. (1998). "Characterization of recalcitrant intermediates from biotransformation of the branched alkyl side chain of nonylphenol ethoxylate surfactants." *Environmental science y technology*, 32(16), 2401-2409.

Di Gioia, D., Sciubba, L., Bertin, L., Barberio, C., Salvadori, L., Frassinetti, S., y Fava, F. (2009). "Nonylphenol polyethoxylate degradation in aqueous waste by the use of batch and continuous biofilm bioreactors". *Water research*, 43(12), 2977-2988.

Douillard, J. M., Pougnet, S., Faucompre, B., y Partyka, S. (1992). "The adsorption of polyoxyethylenated octyl and nonylphenol surfactants on carbón black and sulfur from aqueous solutions". *Journal of colloid and interface science*, 154(1), 113-121.

Duggan O., Allen S.J. (1997). "Study of the physical and chemical characteristics of a range of chemically treated, lignite based carbóns" *Water Science and Technology*, 35, 21-27.

EIA, U. (2012). "Annual energy review 2011". Energy Information Administration.

Ekdal, A. (2014). "Fate of nonylphenol ethoxylate (NPEO) and its inhibitory impact on the biodegradation of acetate under aerobic conditions". *Environmental technology*, 35(6), 741-748.

Elizalde-González, M. P. y Hernández-Montoya, V. (2007). "Characterization of mango pit as raw material in the preparation of activated carbón for wastewater treatment". *Biochemical Engineering Journal*, 36(3), 230-238.

Enyeart, C. R. (1967). "Polyoxyethylene alkylphenols." *Nonionic Surfactants*, 1.

EPA (United States Environmental Protection Agency) (1985). "Chemical hazard information profile - nonylphenol". Draft report. Washington, USA.

EPA (United States Environmental Protection Agency) (2014). <http://www.epa.gov/>

Fan, Y., Han, S. K., y Liu, H. (2012). "Improved performance of CEA microbial fuel cells with increased reactor size". *Energy y Environmental Science*, 5(8), 8273-8280.

Ferguson, P. L., Iden, C. R. y Brownawell, B. J. (2001). "Distribution and fate of neutral alkylphenol ethoxylate metabolites in a sewage-impacted urban estuary." *Environmental Science y Technology*, 35(12), 2428-2435.

Filale Y., Tyagi R., Surampalli R., Barata C. y Riva M. (2004). "Endocrine-disrupting compounds in wastewater, sludge-treatment processes, and receiving waters: Overview, Practice Periodical of Hazardous, Toxic and Radioactive" *Waste Management*, 8(1), 39-56.

Finqueneisel G. , Zimny T. , Albiniak A. ,Siemieniowska T. ,Vogt D. ,Weber J.V. (1998). "Cheap adsorbent. Part 1: Active cokes from lignites and improvement of their adsorptive properties by mild oxidation" *Fuel*, 77, 549-556.

Flory, P. J. (1940). "Molecular size distribution in ethylene oxide polymers." *Journal of the American chemical society*, 62(6), 1561-1565.

Flynn, B. P., y Stadnik, J. G. (1979). Start-up of a powdered activated carbón-activated sludge treatment system. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 358-369.

Focht, D. D. y Chang, A. C. (1975). "Nitrification and denitrification processes related to waste water treatment". *Advances in alied microbiology*, 19, 153-186.

Forte, M., Di Lorenzo, M., Carrizzo, A., Valiante, S., Vecchione, C., Laforgia, V. y De Falco, M. (2016). "NONYLPHENOL EFFECTS ON HUMAN PROSTATE NON TUMORIGENIC CELLS." *Toxicology*.

Gabriel, F. L., Giger, W., Guenther, K. y Kohler, H. P. E. (2005). "Differential degradation of nonylphenol isomers by *Sphingomonas xenophaga* Bayram". *Alied and environmental microbiology*, 71(3), 1123-1129.

Gallego, J. P., Ruiz Lopez, S., Maugans, C. B. (2002). The Use of Wet Oxidation and PACT® for the Treatment of Propylene Oxide/Styrene Monomer (PO/SM) Industrial Wastewaters at the Repsol PO/SM Plant in Tarragona, Spain. *CHISA, Praha, The Czech Republic*, 25-29.

Gao, D., Li, Z., Guan, J., Li, Y. y Ren, N. (2014). "Removal of surfactants nonylphenol ethoxylates from municipal sewage-comparison of an A/O process and biological aerated filters". *Chemosphere*, 97, 130-134.

Gejlsbjerg, B., Madsen, T., y Andersen, T. T. (2003). Comparison of biodegradation of surfactants in soils and sludge-soil mixtures by use of 14 C-labelled compounds and automated respirometry. *Chemosphere*, 50(3), 321-331.

Gholizadeh, A., Gholami, M., Ebrahimi, A. A., Miri, M., y Nikoonahad, A. (2016). "Performance Evaluation of Combined Process of Powdered Activated Carbón-

Activated Sludge (PACT) in Textile Dye Removal." *Journal of Environmental Health and Sustainable Development*, 1(3), 141-52.

Giger, W., P.H. Brunner and C. Schaffner. (1984). "4-Nonylphenol in sewage sludge; Accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants." *Science*, Vol 225, 623-625.

Goldburg, W. I. (1999). "Dynamic light scattering". *American Journal of Physics*, 67(12), 1152-1160.

Gomez-Serrano, V., Cuerda-Correa, E. M., Fernandez-Gonzalez, M. C., Alexandre-Franco, M. F. y Macias-Garcia, A. (2005). "Preparation of activated carbóns from chestnut wood by phosphoric acid-chemical activation". Study of microporosity and fractal dimension. *Materials Letters*, 59(7), 846-853.

González García, Y., Contreras, M., Carlos, J., Gonzales Reynoso, O. y Cordova Lopez, J. A. (2013). "Síntesis y biodegradación de polihidroxialcanoatos: plásticos de origen microbiano. *Revista internacional de contaminación ambiental*", 29(1), 77-115.

González, M. M., Martín, J., Santos, J. L., Aparicio, I. y Alonso, E. (2010). "Occurrence and risk assessment of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in sewage sludge from different conventional treatment processes." *Science of the total environment*, 408(3), 563-570.

González-García, C. M., González-Martín, M. L., González, J. F., Sabio, E., Ramiro, A. y Gañán, J. (2004). "Nonionic surfactants adsorption onto activated carbón. Influence of the polar chain length". *Powder technology*, 148(1), 32-37.

González-García, Y., Nungaray, J., Córdova, J., González-Reynoso, O., Koller, M., Atlic, A. y Braunegg, G. (2008). "Biosynthesis and characterization of polyhydroxyalkanoates in the polysaccharide-degrading marine bacterium *Saccharophagus degradans* ATCC 43961". *Journal of industrial microbiology y biotechnology*, 35(6), 629-633.

Gostomski P.A., De Vela R.J. (2018) "Metabolic uncouplers for controlling biomass accumulation in biological waste treatment systems". *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 17(1), 1–18.

Gross, R. A., y Kalra, B. (2002). "Biodegradable polymers for the environment". *Science*, 297(5582), 803-807.

Gu, X., Zhang, Y., Zhang, J., Yang, M., Tamaki, H., Kamagata, Y., y Li, D. (2010). Isolation of phylogenetically diverse nonylphenol ethoxylate-degrading bacteria and characterization of their corresponding biotransformation pathways. *Chemosphere*, 80(3), 216-222

Gurieff, N. y Lant, P. (2007). "Comparative life cycle assessment and financial analysis of mixed culture polyhydroxyalkanoate production". *Bioresource Technology*, 98(17), 3393-3403.

Haaland, D. M. (1990). "Multivariate calibration methods applied to quantitative FT-IR analyses". *Practical Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, pp 395-468.

Hassas, B. V., Karakaş, F y Çelik, M. S. (2014). "Ultrafine coal dewatering: Relationship between hydrophilic lipophilic balance (HLB) of surfactants and coal rank". *International Journal of Mineral Processing*, 133, 97-104.

Hayashi, S., Saito, S., Kim, J. H., Nishimura, O., y Sudo, R. (2005). "Aerobic biodegradation behavior of nonylphenol polyethoxylates and their metabolites in the presence of organic matter". *Environmental science y technology*, 39(15), 5626-5633.

Hecker, M. y Hollert, H. (2011). "Endocrine disruptor screening: regulatory perspectives and needs." *Environmental Sciences Europe*, 23(1), 15.

Hewstone, R. K. (1994). "Environmental Health Aspects of lubricant additives". *Science of Total Environment*, 156 (3), 243-254.

Ho, Y. S. (2004). "Selection of optimum sorption isotherm." *Carbón*, 42(10), 2115-2116.

Ho, Y. S. y McKay, G. (1999). "Pseudo-second order model for sorption processes". *Process biochemistry*, 34(5), 451-465.

Huang, G. L., Hou, S. G., Wang, L. y Sun, H. W. (2007). "Distribution and fate of nonylphenol in an aquatic microcosm". *Water research*, Vol 41(20), 4630-4638.

Hüls, A. G. (1994). "Product information sheet revision-nonylphenol (1/8/94)." Marl, Allemagne.

Hunter, R. J. (1993). "Introduction to modern colloid science". Oxford University Press.

Hunter, R. J. (2013). "Zeta potential in colloid science: principles and applications" Academic press, . 2.

Huntsman Corporation (1999a). "Technical Bulletin for Surfonic N-10 (NPE1.5)". Texas,USA. Washington,USA. Alkylphenols and Ethoxylates Research Council.

Ibrahim, S., Wang, S., y Ang, H. M. (2010). "Removal of emulsified oil from oily wastewater using agricultural waste barley straw." Biochemical Engineering Journal, 49(1), 78-83.

Ike F., Asano M., Belkada F., Tsunoi S., Tanakas M. y Fujita M. (2002). "Degradation of biotransformation products of nonylphenol ethoxylates by ozonation and UV/TiO₂ treatment." Water Science Technology, 46, 127-132.

Indec (Instituto Nacional de Estadística y Censo) (2013). Censo 2011. <http://www.ine.gob.ve/>.

Isobe, T., Nishiyama, H., Nakashima, A., y Takada, H. (2001). "Distribution and behavior of nonylphenol, octylphenol, and nonylphenol monoethoxylate in Tokyo metropolitan area: their association with aquatic particles and sedimentary distributions." Environmental Science y Technology, 35(6), 1041-1049.

Ivanković, T. y Hrenović, J. (2010). Surfactants in the environment. Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 61(1), 95-110.

Jafarinejad, S. (2017). "Activated sludge combined with powdered activated carbón (PACT process) for the petroleum industry wastewater treatment: A review." Chemistry International, 3(4), 268-277.

Jagtoyen, M., y Derbyshire, F. (1998). "Activated carbóns from yellow poplar and white oak by H₃PO₄ activation". Carbón, 36(7), 1085-1097.

Jardak, K., Drogui, P. y Daghrir, R. (2016). "Surfactants in aquatic and terrestrial environment: occurrence, behavior, and treatment processes." *Environmental Science and Pollution Research*, 23(4), 3195-3216.

Jendrossek, D. (2009). "Polyhydroxyalkanoate granules are complex subcellular organelles (carbónosomes)". *Journal of bacteriology*, 191(10), 3195-3202.

Jimenez, J., Miller, M., Bott, C., Murthy, S., De Clieir, H., y Wett, B. (2015). High-rate activated sludge system for carbón management–Evaluation of crucial process mechanisms and design parameters. *Water research*, 87, 476-482.

Jobling, S. and Sumpter, J. P. (1993). "Detergent components in sewage effluent are weakly estrogenic to fish - An invitro study using rainbow-trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes." *Aquatic Toxicology*, 27 (3-4), 361-372.

Jobling, S. and Sumpter, J. P. (1993). "Detergent components in sewage effluent are weakly estrogenic to fish - An invitro study using rainbow-trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes." *Aquatic Toxicology*, Vol 27 (3-4), 361-372.

John, D. M., House, W. A. y White, G. F. (2000). "Environmental fate of nonylphenol ethoxylates: differential adsorption of homologs to components of river sediment". *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(2), 293-300.

John, D. M., y White, G. F. (1998). "Mechanism for biotransformation of nonylphenol polyethoxylates to xenoestrogens in *Pseudomonas putida*." *Journal of bacteriology*, 180(17), 4332-4338.

John, D.M., House, W.A. and White, G.F. (2000). "Environmental Fate of Nonylphenol Ethoxylates: Differential Adsorption of Homologs to Components of River Sediment." *Environmental Toxicology and Chemistry* 19 (2), 293-300.

Jonkers, N., Kneer, T. P. y De Voogt, P. (2001). "Aerobic biodegradation studies of nonylphenol ethoxylates in river water using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry." *Environmental Science y Technology*, 35(2), 335-340.

Jonkers, N., Laane, R. W., y de Voogt, P. (2003). Fate of nonylphenol ethoxylates and their metabolites in two Dutch estuaries: evidence of biodegradation in the field. *Environmental Science y Technology*, 37(2), 321-327.

Juhász, Á., Tabajdi, R., Dékány, I. y Csapó, E. (2017). "Thermodynamic Characterization of Temperature-and Composition-Dependent Mixed Micelle Formation in Aqueous Medium". *Journal of Surfactants and Detergents*, 20(6), 1291-1299.

Jurado, E., Fernández-Serrano, M., Núñez-Olea, J. y Lechuga, M. (2009). "Aerobic biodegradation of a nonylphenol polyethoxylate and toxicity of the biodegradation metabolites". *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 83(3), 307-312.

Kapdan, I. K., y Kargi, F. (2002). Simultaneous biodegradation and adsorption of textile dyestuff in an activated sludge unit. *Process Biochemistry*, 37(9), 973-981.

Karatepe, N. (2003). "Adsorption of a non-ionic dispersant on lignite particle surfaces". *Energy Conversion and management*, 44(8), 1275-1284.

Khanna, S. y Srivastava, A. K. (2005). "Statistical media optimization studies for growth and PHB production by *Ralstonia eutropha*". *Process Biochemistry*, 40(6), 2173-2182.

Kim, J. Y., Ryu, K., Kim, E. J., Choe, W. S., Cha, G. C., y Yoo, I. K. (2007). "Degradation of bisphenol A and nonylphenol by nitrifying activated sludge". *Process Biochemistry*, 42(10), 1470-1474.

Kirschner M. (2014). Contacto personal, Innovation Group, 26 Fairmount Avenue Morristown, NJ 07960 USA, <http://www.the-innovation-group.com/contact.htm>.

Klösgen, B., Rümeha, C. y Gleich, B. (2011). "Bioimpedance spectroscopy". In *BetaSys* (. 241-271). Springer, New York, NY.

Kosmulski, M. (2009). "pH-dependent surface charging and points of zero charge. IV. Update and new approach". *Journal of Colloid and Interface Science*, 337(2), 439-448.

Kronberg, B. (1983). "Thermodynamics of adsorption of nonionic surfactants on latexes". *Journal of colloid and interface science*, 96(1), 55-68.

Lang, W., Dejma, C., Sirisansaneeyakul, S., & Sakairi, N. (2009). "Biosorption of nonylphenol on dead biomass of *Rhizopus arrhizus* encapsulated in chitosan beads". *Bioresource technology*, 100(23), 5616-5623.

Lara-Martín, P. A., González-Mazo, E. y Brownawell, B. J. (2012). "Environmental analysis of alcohol ethoxylates and nonylphenol ethoxylate metabolites by ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry". *Analytical and bioanalytical chemistry*, 402(7), 2359-2368.

Lee Ferguson, P., y Brownawell, B. J. (2003). "Degradation of nonylphenol ethoxylates in estuarine sediment under aerobic and anaerobic conditions." *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(6), 1189-1199.

Lee, S. Y. (1996). "Bacterial polyhydroxyalkanoates". *Biotechnology and bioengineering*, 49(1), 1-14.

Lee, Y. M., Seo, J. S., Kim, I. C., Yoon, Y. D. y Lee, J. S. (2006). "Endocrine disrupting chemicals (bisphenol A, 4-nonylphenol, 4-tert-octylphenol) modulate expression of two distinct cytochrome P450 aromatase genes differently in gender types of the hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus*". *Biochemical and biophysical research communications*, Vol 345(2), 894-903.

Levitz, P. E. (2002). "Non-ionic surfactants adsorption: structure and thermodynamics". *Comptes Rendus Geoscience*, 334(9), 665-673.

Li, D., Kim, M., Shim, W. J., Yim, U. H., Oh, J. R. y Kwon, Y. J. (2004). "Seasonal flux of nonylphenol in Han River, Korea". *Chemosphere*, 56(1), 1-6.

Liu Y. (1998) "Energy uncoupling in microbial growth under substrate-sufficient conditions". *Applied Microbiology and Biotechnology* 49(5), 500–505.

Liu, G., Zheng, S., Yin, D., Xu, Z., Fan, J., y Jiang, F. (2006). "Adsorption of aqueous alkylphenol ethoxylate surfactants by mesoporous carbón CMK-3". *Journal of Colloid and Interface Science*, 302(1), 47-53.

Liu, X., Tani, A., Kimbara, K., y Kawai, F. (2006). "Metabolic pathway of xenoestrogenic short ethoxy chain-nonylphenol to nonylphenol by aerobic bacteria, *Ensifer* sp. strain AS08 and *Pseudomonas* sp. strain AS90". *Applied microbiology and biotechnology*, 72(3), 552-559.

Liu, Z. H., Kanjo, Y. y Mizutani, S. (2009). "Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewater treatment—physical means, biodegradation, and chemical advanced oxidation: a review". *Science of the Total Environment*, Vol 407(2), 731-748.

Lobo, C. C. (2014). "Tratamiento biológico de aguas residuales industriales" Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Exactas.

Lobo, C. C., Bertola, N. C., y Contreras, E. M. (2014). "Modelling the change in the oxidation coefficient during the aerobic degradation of phenol by acclimated activated sludge." *Water SA*, 40(1), 125-131.

Loos, R., Hanke, G., Umlauf, G. y Eisenreich, S. J. (2007). "LC–MS–MS analysis and occurrence of octyl-and nonylphenol, their ethoxylates and their carboxylates in Belgian and Italian textile industry, waste water treatment plant effluents and surface waters." *Chemosphere*, 66(4), 690-699.

Lopardo, R. A., Bacchiega, J. D. y Higa, L. E. (2015). "Agua urbana en el continente americano, el caso de la República Argentina." *AGUA URBANA*, 28.

López-Cortés, A., Lanz-Landázuri, A., & García-Maldonado, J. Q. (2008). "Screening and isolation of PHB-producing bacteria in a polluted marine microbial mat". *Microbial ecology*, 56(1), 112-120.

Lozada, M., Itria, R. F., Figuerola, E. L., Babay, P. A., Gettar, R. T., De Tullio, L. A., y Erijman, L. (2004). "Bacterial community shifts in nonylphenol polyethoxylates-enriched activated sludge". *Water research*, 38(8), 2077-2086.

Lozada, M., Itria, R. F., Figuerola, E., de Tullio, L. A., y Erijman, L. (2004). "Dinámica, selección y estabilidad de poblaciones bacterianas en barros activados". In *Desafíos ambientales y del saneamiento en el siglo XXI*.

Lui, L.I., Hardmeier, I., Babay, P.A., Itria, R.F. and Erijman, L. (2007). "Anaerobic nonylphenol ethoxylate degradation coupled to nitrate reduction in a modified biodegradability batch test." *Chemosphere*, 68 (11), 2136-2143.

Ma, H. W. y Luo, J. (2017). "Practical Method for Accurate Determination of Alkylphenol Ethoxylates in Household Detergents by Aluminum Iodide Cleavage Pretreatment Followed by GC-MS". *Chromatographia*, 1-7.

Manzano, M. A., Perales, J. A., Sales, D., y Quiroga, J. M. (1999). The effect of temperature on the biodegradation of a nonylphenol polyethoxylate in river water. *Water Research*, 33(11), 2593-2600.

Mao, Z., Zheng, X. F., Zhang, Y. Q., Tao, X. X., Li, Y. y Wang, W. (2012). "Occurrence and biodegradation of nonylphenol in the environment". *International journal of molecular sciences*, 13(1), 491-505.

Marcomini, A., Capel, P.D., Lichtensteiger, T., Brunner, P.H. and Giger, W. (1989). "Behavior of Aromatic Surfactants and PCBs in Sludge-Treated Soil and Landfills." *Journal of Environmental Quality*, 18 (4), 523-528.

Martín-Martínez, J. M. (1990). "Adsorción física de gases y vapores por carbones". Universidad de Alicante. Secretariado de Publicaciones.

McLeese, D. W., Zitko, V., Sergeant, D. B., Burridge, L. y Metcalfe, C. D. (1981). "Lethality and accumulation of alkylphenols in aquatic fauna." *Chemosphere*, 10(7), 723-730.

Menendez-Diaz, J. A., y Martin-Gullon, I. (2006). "Types of carbón adsorbents and their production". *Interface Science and technology*, 7, 1-47.

Mezzanotte, V., Castiglioni, F., Todeschini, R., y Pavan, M. (2003). Study on anaerobic and aerobic degradation of different non-ionic surfactants. *Bioresource Technology*, 87(1), 87-91.

Mignone, C. F. y Donati, E. R. (2004). "ATP requirements for growth and maintenance of iron-oxidizing bacteria." *Biochemical Engineering Journal*, 18(3), 211-216.

Molina-Sabio, M., y Rodriguez-Reinoso, F. (2004). "Role of chemical activation in the development of carbón porosity". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 241(1), 15-25.

Montgomery Brown, J. and Reinhard, M. (2003). "Occurrence and behaviour of alkylphenol polyethoxylates in the environment" *Environmental Engineering Science* , 20 (5), 471-486.

Morgan-Sagastume, F., Karlsson, A., Johansson, P., Pratt, S., Boon, N., Lant, P. y Werker, A. (2010). "Production of polyhydroxyalkanoates in open, mixed cultures from a waste sludge stream containing high levels of soluble organics, nitrogen and phosphorus". *Water Research*, 44(18), 5196-5211.

Mu'azu, N. D., Jarrah, N., Zubair, M. y Alagha, O. (2017). "Removal of Phenolic Compounds from Water Using Sewage Sludge-Based Activated Carbón Adsorption: A Review". *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(10), 1094.

Mukerjee, P. y Mysels, K. J. (1971). "Critical micelle concentrations of aqueous surfactant systems". *National Standard reference data system*.

Muñoz, H., Mejía, G., Chaverra, M. y Vasquez, E. (2016). "Una aproximación al estimativo la DBO y la DQO de aguas residuales por medio de la medida del carbóno orgánico total." *Revista Facultad de Ingeniería*, (20), 20-28.

Muyzer, G., De Waal, E. C., y Uitterlinden, A. G. (1993). "Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA." *Applied and environmental microbiology*, 59(3), pp 695-700.

Myers J.P., Guillette L.J., Palanza P., Parmigiani S., Swan S.H., and Saal F.S. Vom (2004). *International Seminar on Nuclear War and Planetary Emergencies 30th Session*, . 105-121, Word Scientific.

Narkis, N. y Ben-David, B. (1985). "Adsorption of non-ionic surfactants on activated carbón and mineral clay". *Water research*, 19(7), 815-824.

Naylor, C.G., Mieure, J.P., Adams, W.J., Weeks, J.A., Castaldi, F.J., Ogle, L.D. y Romano, R.R. (1992). "Alkylphenol Ethoxylates in the Environment." *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69 (7), 695-703.

Norris, D. O. y Carr, J. A. (2006). "Endocrine Disruption: Biological Bases for Human Effects in Wildlife and Humans." Oxford University Press, USA

Nuhoglu, A., y Yalcin, B. (2005). "Modelling of phenol removal in a batch reactor". *Process Biochemistry*, 40(3), pp 1233-1239.

Oliveira, C. S., Ordaz, A., Ferreira, E. C., Alves, M. y Thalasso, F. (2011). "In situ pulse respirometric methods for the estimation of kinetic and stoichiometric parameters in aerobic microbial communities". *Biochemical engineering journal*, 58, 12-19.

Olkowska, E., Polkowska, Ż., y Namieśnik, J. (2012). "Analytical procedures for the determination of surfactants in environmental samples." *Talanta*, 88, 1-13.

Ömeroğlu, S., y Sanin, F. D. (2014). "Fate and degradation kinetics of nonylphenol compounds in aerobic batch digesters". *Water research*, 64, 1-12.

ONU (Organización de las Naciones Unidas) (2003). Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo : Agua para todos, agua para la vida. París", Nueva York y Oxford, UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura) y Berghahn Books.

Orhon, D., Artan, N., y Ateş, E. (1994). "A description of three methods for the determination of the initial inert particulate chemical oxygen demand of wastewater". *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 61(1), pp 73-80.

Orozco Barrenetxea C., Pérez Serrano A., González Delgado Ma. N., Rodríguez Vidal F.J. y Alfayate Blanco J.M. (2002). "Contaminación ambiental. Una visión desde la química." Spain Paraninfo, España.

Orozco, A. F., Contreras, E. M. y Zaritzky, N. E. (2010). "Dynamic response of combined activated sludge-powdered activated carbón batch systems." *Chemical Engineering Journal*, Vol 157(2-3), 331-338.

Orozco, A. F., Contreras, E. M., Bertola, N. C., y Zaritzky, N. E. (2007). Hexavalent chromium removal using aerobic activated sludge batch systems added with powdered activated carbón. *Water Sa*, 33(2).

Orozco, A. M. F., Contreras, E. M., y Zaritzky, N. E. (2008). "Modelling Cr (VI) removal by a combined carbón-activated sludge system". *Journal of hazardous materials*, 150(1), 46-52.

Papirer, E. (2000). "Adsorption on silica surfaces". CRC Press. 90

Paredes Barro, L. (2013). "Eliminación de compuestos farmacéuticos y de cuidado personal (CFCPs) en efluentes anaerobios empleando sistemas biológicos de filtración/adsorción".

Parfitt, G. D. y Rochester, C. H. (Eds.). (1983). "Adsorption from solution at the solid/liquid interface". London: Academic press. . 105-152

Pasternack, G. B., Gilbert, A. T., Wheaton, J. M., y Buckland, E. M. (2006). "Error propagation for velocity and shear stress prediction using 2D models for environmental management." *Journal of Hydrology*, 328(1), 227-241.

Petrovic M., Gonzales S. y Barcelo D. (2003). "Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water." *Trends Analytical Chemical*, 22 (10), 685-696.

Pirt S.J. (1975) "Principles of microbe and cell cultivation". Blackwell, Oxford.

Piva, F., y Martini, L. (1998). "Neurotransmitters and the control of hypophyseal gonadal functions: possible implications of endocrine disruptors". *Pure and alied chemistry*, 70(9), 1647-1656.

PNUD (2006). "Informe sobre Desarrollo Humano 2006: Más allá de la escasez: Poder, pobreza y crisis mundial del agua." <http://www.un.org/>

Polat, H., Molva, M. y Polat, M. (2006). "Capacity and mechanism of phenol adsorption on lignite". *International journal of mineral processing*, 79(4), 264-273.

Porte C., Janer G., Sternberg R., Le Blanc G. (2005). "Testosterone conjugating activities in invertebrates: are they targets for endocrine disruptors" *Aquatic Toxicology*, 71 (3), 273- 282

Porter, M. R. (2013). "Handbook of surfactants". Springer.

Priac, A., Morin-Crini, N., Druart, C., Gavaille, S., Bradu, C., Lagarrigue, C. y Crini, G. (2017). "Alkylphenol and alkylphenol polyethoxylates in water and wastewater: a review of options for their elimination". *Arabian Journal of Chemistry*, 10, 3749-3773.

Priac, A., Morin-Crini, N., Druart, C., Gavaille, S., Bradu, C., Lagarrigue, C. y Crini, G. (2014). "Alkylphenol and alkylphenol polyethoxylates in water and wastewater: a review of options for their elimination". *Arabian Journal of Chemistry*.

Pryor S. W., Hay A. G., and Walker L. P.(2002). "Nonylphenol in anaerobically digested sewage sludge from New York State." *Environmental Science and Technology* 36 (17), 3678-3682.

Quiroga, J. M., y Sales, D. (1991). "Degradation kinetics of surfactants: kinetic model to degradation in discontinuous systems". *Tenside, surfactants, detergents*, 28(1), 28-30.

Radovic, L. R., Moreno-Castilla, C., y Rivera-Utrilla, J. (2001). "Carbón materials as adsorbents in aqueous solutions". *Chemistry and physics of carbón*, 227-406.

Ramalho R. S. (1993). "Tratamiento de aguas residuales". Reverté S.A., Barcelona, España.

Reddy, M. V., Mawatari, Y., Yajima, Y., Seki, C., Hoshino, T. y Chang, Y. C. (2015). "Poly-3-hydroxybutyrate (PHB) production from alkylphenols, mono and poly-aromatic hidrocarbóns using *Bacillus* sp. CYR1: A new strategy for wealth from waste". *Bioresource technology*, 192, 711-717.

Reddy, M. V., Nikhil, G. N., Mohan, S. V., Swamy, Y. V., y Sarma, P. N. (2012). "Pseudomonas otitidis as a potential biocatalyst for polyhydroxyalkanoates

(PHA) synthesis using synthetic wastewater and acidogenic effluents." *Bioresource technology*, 123, 471-479.

Reed, H.W.B. (1978). "Alkylphenols. In: Kirk-Othmer" John Wiley and Sons, Inc., New York, N.Y. *Encyclopedia of Chemical Technology*. 3(2), 72–96.

Rehm, B. H., Mitsky, T. A., y Steinbüchel, A. (2001). "Role of fatty acid de novo biosynthesis in polyhydroxyalkanoic acid (PHA) and rhamnolipid synthesis by pseudomonads: establishment of the transacylase (PhaG)-mediated pathway for PHA biosynthesis in *Escherichia coli*." *Applied and environmental microbiology*, 67(7), 3102-3109.

Remiarz, R. J., Agarwal, J. K., Quant, F. R., y Sem, G. J. (1983). Real-time aerodynamic particle size analyzer. *Aerosols in the mining and industrial work environments*, 3, pp 879-895.

Renner, R. (1997). "European bans on surfactant trigger transatlantic debate." *Environmental Science y Technology*, 31(7), 316A-320A.

Rittmann B.E. y Saez P.B. (1993). "Modeling biological processes involved in degradation of hazardous organic substrates" En: Levin, M.A. and Gealt, M.A. (eds.) *Biotreatment of Industrial and Hazardous Waste*. McGraw Hill, Inc. New York. 113-119.

Rodríguez, M. O., Rodríguez, D. D. V. B., López, D. D. A. I. G., y Rivillas, D. D. J. M. V. (2009). "Comportamiento reológico de disoluciones acuosas de surfactantes comerciales no iónicos".

Romano, R.R. (1991). "Current studies on nonylphenol - physical/chemical, biodegradation and aquatic effects. In: *Proceedings of the Seminar on Nonylphenol Ethoxylates (NPE) and Nonylphenol (NP)*", Saltsjöbaden, Sweden. Ingvar Bingman, Stockholm. . 233–239.

Roquerol, F., Rouquerol, J. y Sing, K. (1999). "Adsorption by powders and solids: principles, methodology, and applications". Academic Press, London, 54, 15893-15899.

Rosal, R., Rodríguez, A., Perdigón-Melón, J.A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M.J., Agüera, A. and Fernández-Alba, A.R. (2010). "Occurrence of emerging

pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation". *Water Research*, 44(2), 578-588.

Rosen, M. J. y Kunjau, J. T. (2012). "Surfactants and interfacial phenomena". John Wiley y Sons.

Rosen, M. J., y Kunjau, J. T. (2012). "Surfactants and interfacial phenomena". John Wiley y Sons.

Ruth, K., Grubelnik, A., Hartmann, R., Egli, T., Zinn, M. y Ren, Q. (2007). "Efficient production of (R)-3-hydroxycarboxylic acids by biotechnological conversion of polyhydroxyalkanoates and their purification". *Biomacromolecules*, 8(1), 279-286.

Salager, J. L. (1992). "El mundo de los surfactantes." *Cuaderno FIRP*, 311.

Salager, J. L. y Fernández, A. (2002). "Surfactantes en solución acuosa". *FIRP*, 300.

Salager, J. L., Marquez, N., Graciaa, A. y Lachaise, J. (2000). "Partitioning of ethoxylated octylphenol surfactants in microemulsion-oil-water systems: influence of temperature and relation between partitioning coefficient and physicochemical formulation". *Langmuir*, 16(13), 5534-5539.

Sánchez Soto, P. J. (2009). "Efecto del tratamiento mecánico por molienda en las propiedades texturales de pirofilita". *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 48(2), 59-69.

Santacesaria, E., Di Serio, M., Lisi, L. y Gelosa, D. (1990). "Kinetics of nonylphenol polyethoxylation catalyzed by potassium hydroxide." *Industrial y engineering chemistry research*, 29(5), 719-725.

Scarlett, M. J., Fisher, J. A., Zhang, H., y Ronan, M. (1994). "Determination of dissolved nonylphenol ethoxylate surfactants in waste waters by gas stripping and isocratic high performance liquid chromatography." *Water Research*, 28(10), 2109-2116.

Schafer A., Nghiem L. y Waite T. (2003). "Removal of the natural hormone estrone from solution using nanofiltration and reverse osmosis". *Environment Science Technology*, 37, 182-188.

Schug, T. T., Janesick, A., Blumberg, B. y Heindel, J. J. (2011). "Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility". *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 127(3), 204-21

Schwarz, R., y Forchhammer, K. (2005). "Acclimation of unicellular cyanobacteria to macronutrient deficiency: emergence of a complex network of cellular responses". *Microbiology*, 151(8), 2503-2514

Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A. y Ahmed, S. (2008). "Biological degradation of plastics: a comprehensive review". *Biotechnology advances*, 26(3), 246-265.

Shang, D. Y., Ikonomou, M. G., y Macdonald, R. W. (1999). "Quantitative determination of nonylphenol polyethoxylate surfactants in marine sediment using normal-phase liquid chromatography–electrospray mass spectrometry." *Journal of Chromatography A*, 849(2), 467-482.

Shao, B., Hu, J. Y., y Yang, M. (2002). "Determination of nonylphenol ethoxylates in the aquatic environment by normal phase liquid chromatography–electrospray mass spectrometry." *Journal of Chromatography A*, 950(1), 167-174.

Shao, B., Hu, J., Yang, M., An, W., y Tao, S. (2005). "Nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in river water, drinking water, and fish tissues in the area of Chongqing, China". *Archives of environmental contamination and toxicology*, 48(4), 467-473.

Shaw, D. J. (1970). "Introducción a la química de superficies y coloides". Exedra: Ciencia, tecnología, ingeniería.

Sher, M. I., Arbuckle, W. B., y Shen, Z. (2000). Oxygen uptake rate inhibition with PACT™ sludge. *Journal of hazardous materials*, 73(2), 129-142.

Sing, K. S. (1985). "Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity". *Pure and applied chemistry*, 57(4), 603-619.

Snyder S., Westerhoff P., Yoon Y., Sedlak D. (2003). "Pharmaceuticals, Personal Care Products, and Endocrine Disruptors in water: Implications for the water industry." *Environmental Engineering science*, 20 (5).

Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E. and Lester J.N. (2008). "Nonylphenol in the Environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters," *Environment International*, 34(7), 1033-1049.

Soria-Sánchez, M., Maroto-Valiente, A., Guerrero-Ruiz, A. y Nevskaya, D. M. (2010). "Adsorption of non-ionic surfactants on hydrophobic and hydrophilic carbon surfaces". *Journal of colloid and interface science*, 343(1), 194-199.

Soto, A. M., Justicia, H., Wray, J. W. y Sonnenschein, C. (1991). "p-Nonylphenol: An Estrogenic Xenobiotic Released from Modified Polystyrene." *Environmental Health Perspectives*, 92, 167-173.

Streeter, V. L., Wylie, E. B., Bedford, K. W., y Saldarriaga, J. G. (1988). *Mecánica de los fluidos*, 9. McGraw-Hill.

Sublette, K. L., Snider, E. H., y Sylvester, N. D. (1982). "A review of the mechanism of powdered activated carbon enhancement of activated sludge treatment". *Water Research*, 16(7), 1075-1082.

Sun, Z., Nicolosi, V., Rickard, D., Bergin, S. D., Aherne, D. y Coleman, J. N. (2008). "Quantitative evaluation of surfactant-stabilized single-walled carbon nanotubes: dispersion quality and its correlation with zeta potential". *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(29), 10692-10699.

Swartz, C. H., Reddy, S., Benotti, M. J., Yin, H., Barber, L. B., Brownawell, B. J. y Rudel, R. A. (2006). Steroid estrogens, nonylphenol ethoxylate metabolites, and other wastewater contaminants in groundwater affected by a residential septic system on Cape Cod, MA. *Environmental science and technology*, Vol 40(16), 4894-4902.

Swisher, R. D. (1986). "Surfactant biodegradation" CRC Press, 18

Tahmasebi, A., Yu, J., Han, Y., y Li, X. (2012). "A study of chemical structure changes of Chinese lignite during fluidized-bed drying in nitrogen and air". *Fuel Processing Technology*, 101, 85-93.

Tal, S., y Okon, Y. (1985). "Production of the reserve material poly- β -hydroxybutyrate and its function in *Azospirillum brasilense* Cd. *Canadian journal of microbiology*". 31(7), 608-613.

Talmage S. S. (1994). "Environmental and human safety of major surfactants. . 2: Nonionic surfactants, alcohol ethoxylates and alkylphenol ethoxylates." *The Soap and Detergent Association*. 475 Park Avenue South, New York. 10016, 363

The Freedonia Group (2015). "World Activated Carbón - Demand and Sales Forecasts, Market Share, Market Size, Market Leaders". 767 Beta Drive Cleveland, OH 44143 USA, <http://www.freedoniagroup.com/>

UNESCO (2014). *Decade of Education for Sustainable Development: 2005-2014. Draft International Implementation Scheme*.

UNESCO (2017). *2017 UN World Water Development Report, Wastewater*. <http://www.unesco.org/>

Valentino, F., Karabegovic, L., Majone, M., Morgan-Sagastume, F. y Werker, A. (2015). "Polyhydroxyalkanoate (PHA) storage within a mixed-culture biomass with simultaneous growth as a function of accumulation substrate nitrogen and phosphorus levels". *Water research*, 77, 49-63.

Villena, M. M. L. y Serrano, D. M. F. (2005). "Biodegradación y toxicidad de tensioactivos comerciales."

Wang, B., Dong, F., Chen, S., Chen, M., Bai, Y., Tan, J. y Wang, Q. (2016). "Phenolic endocrine disrupting chemicals in an urban receiving river (Panlong river) of Yunnan–Guizhou plateau: Occurrence, bioaccumulation and sources". *Ecotoxicology and environmental safety*, Vol 128, 133-142.

Wanner, J. (1994). "Activated sludge: bulking and foaming control". CRC Press.

Weinheimer, R.M. and Varineau, P.T. (1998). "Polyoxyethylene alkylphenols. In: N.M. van Os (ed.), Nonionic surfactants, organic chemistry." Marcel Dekker. New York, 39–85.

Werker, A. G., Johansson, P. S. T. y Magnusson, P. O. G. (2015)". U.S. Patent Application No. 14/766,579.

Westerhoff P., Yoon Y., Snyder S. y Wert E. (2005). "Fate of endocrine-disrupter, pharmaceuticals and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment process." *Environment Science Technology*, 39, 6649-6663.

White, R., Jobling, S., Hoare, S. A., Sumpter, J. P., y Parker, M. G. (1994). "Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic". *Endocrinology*, 135(1), 175-182.

WHO (World Health Organization) y UNICEF (United Nations Children's Fund) (2000). *Global Water Suly and Sanitation Assessment Report*. Geneva and New York, World Health Organization and United Nations Children`s Fund.

WHO (World Health Organization) (1998). "Environmental Health Criteria: Nonylphenol and nonylphenol ethoxylates." Geneva, Switzerland: International Programme on Chemical Safety.

Widjaja, T., Miyata, T., Nakano, Y., Nishijima, W., y Okada, M. (2004). Adsorption capacity of powdered activated carbón for 3, 5-dichlorophenol in activated sludge. *Chemosphere*, 57(9), 1219-1224.

World Commision on Water (1999). "World`s Rivers in Crisis Some are Dying; Others Couldie. World Water Council." World Commision on Water.

World Wildlife Fund Canada (1996). "Nonylphenol ethoxylates and their use in Canada." Toronto, Ontario: December 1996.

Wu, J., Zhang, Y., Luo, X., She, Y., Yu, L., Chen, S. and Mai, B. (2012). "A review of polybrominated diphenyl ethers and alternative brominated flame retardants in wildlife from China: Levels, trends, and bioaccumulation characteristics." *Journal of Environmental Sciences* , 24(2), 183-194.

Wu, W., Zhang, L., Chen, Y., Liu, W., Tu, Y., y Zhou, J. (2014). Interaction between activated carbón and microorganisms in PACT process. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 92(8), 1340-1345.

Wyrwas, B., Dymaczewski, Z., Zgoła-Grześkowiak, A., Szymański, A., Frańska, M., Kruszelnicka, I. y Chrzanowski, Ł. (2013). "Biodegradation of Triton X-100 and its primary metabolites by a bacterial community isolated from activated sludge". *Journal of environmental management*, 128, 292-299.

Xiaojian, Z., Zhansheng, W. y Xiasheng, G. (1991). "Simple combination of biodegradation and carbón adsorption—the mechanism of the biological activated carbón process". *Water research*, 25(2), 165-172.

Yang, J. S., Baek, K., Kwon, T. S. y Yang, J. W. (2009). "Adsorption of chlorinated solvents in nonionic surfactant solutions with activated carbón in a fixed bed". *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 15(6), 777-779.

Ying, G.G., Williams, B. and Kookana, R. (2002). "Environmental Fate of Alkylphenols and Alkylphenol Ethoxylates - A Review." *Environment International*, 28(3), 215-226.

Yu, Y., Zhai, H., Hou, S. y Sun, H. (2009). "Nonylphenol ethoxylates and their metabolites in sewage treatment plants and rivers of Tianjin, China". *Chemosphere*, 77(1), 1-7.

Yuan, X., Xing, W., Zhuo, S. P., Si, W., Gao, X., Han, Z., y Yan, Z. F. (2008). "Adsorption of bulky molecules of nonylphenol ethoxylate on ordered mesoporous carbóns." *Journal of colloid and interface science*, 322(2), 558-565.

Zeng, R. J., Lemaire, R., Yuan, Z., y Keller, J. (2003). "Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal in a lab-scale sequencing batch reactor." *Biotechnology and bioengineering*, 84(2), 170-178.

Zhu, C., Chiu, S., Nakas, J. P., y Nomura, C. T. (2013). "Bioplastics from waste glycerol derived from biodiesel industry." *Journal of Allied Polymer Science*, 130(1), 1-13.