



Universidade de Santiago de Compostela

Departamento de Enxeñaría Química

**Eliminación de compuestos
farmacéuticos y de cuidado personal
(CFCPs) en efluentes anaerobios
empleando sistemas biológicos de
filtración/adsorción**

Memoria presentada por **Lidia Paredes Barro**
como Proyecto Fin de Máster de “Ingeniería de
Procesos Químicos y Ambientales” de la
Universidad de Santiago de Compostela.

Santiago de Compostela, Julio 2013



Juan Manuel Lema Rodicio, Catedrático del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Santiago de Compostela,

Marta Carballa Arcos, Investigadora Parga Pondal del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Santiago de Compostela,

INFORMAN:

Que la presente memoria, titulada “Eliminación de compuestos farmacéuticos y de cuidado personal en efluentes anaerobios mediante sistemas biológicos de filtración/adsorción” constituye el Trabajo Fin de Máster realizado por Lidia Paredes Barro bajo nuestra dirección con el objetivo de obtener el título de Máster en “Ingeniería de Procesos Químicos y Ambientales”.

Santiago de Compostela, 5 de Julio de 2013.

El tutor:

La tutora:

Juan Manuel Lema Rodicio

Marta Carballa Arcos

La alumna:

Lidia Paredes Barro

Agradecimientos

Quisiera dar las gracias a todas las personas que han colaborado en la realización de este Trabajo Fin de Máster:

A mis tutores, Marta Carballa y Juan Lema por darme la oportunidad de formar parte de este grupo de investigación, por su ayuda y sus consejos.

A Edu, por toda la ayuda, los consejos y el apoyo que me ha proporcionado desde el primer hasta el último día.

A todos los miembros del grupo, ya que mediante sus opiniones, consejos y experiencias han contribuido de forma activa al desarrollo de este trabajo.

Y a mi familia, sin los cuales no hubiera podido llegar hasta aquí.

Índice

| | |
|---|----|
| Objetivos..... | 9 |
| Resumen | 13 |
| Nomenclatura..... | 17 |
| Capítulo 1. Introducción..... | 19 |
| 1.1. Microcontaminantes emergentes..... | 21 |
| 1.1.1. Compuestos farmacéuticos y de cuidado personal (CFCPs) | 21 |
| 1.1.2. Caracterización de los compuestos seleccionados | 24 |
| 1.2. Presencia y eliminación de CFCPs en EDAR..... | 28 |
| 1.2.1. Concentraciones de CFCPs en aguas residuales..... | 28 |
| 1.2.2. Mecanismos de eliminación de CFCPs en EDAR..... | 29 |
| 1.2.3. Presencia de CFCPs en efluentes anaerobios..... | 31 |
| 1.3. Nuevas tecnologías para mejorar la eliminación de CFCPs en EDAR..... | 33 |
| 1.3.1. Procesos de oxidación avanzada..... | 33 |
| 1.3.2. Sistemas de filtración/adsorción..... | 34 |
| 1.3.3. Sistemas de biofiltración..... | 36 |
| Capítulo 2. Materiales y métodos..... | 39 |
| 2.1. Montaje experimental..... | 41 |
| 2.1.1. Configuración de los reactores | 41 |
| 2.1.2. Puesta en marcha..... | 43 |
| 2.2. Operación de los reactores | 45 |
| 2.3. Ensayos en batch..... | 46 |
| 2.4. Procedimientos para la caracterización de la biomasa..... | 47 |
| 2.4.1. Ensayos de actividad | 47 |
| 2.4.2. Caracterización microbiológica..... | 50 |
| 2.5. Métodos analíticos | 54 |
| 2.5.1. Parámetros físicos | 54 |

| | |
|--|-----|
| 2.5.2. Parámetros químicos | 54 |
| 2.5.3. Determinación de microcontaminantes en fase líquida | 60 |
| Capítulo 3. Resultados y discusión | 67 |
| 3.1. Ensayos batch..... | 69 |
| 3.2. Caracterización de la biomasa | 74 |
| 3.2.1. Actividades | 74 |
| 3.2.2. FISH | 75 |
| 3.3. Operación de los reactores | 76 |
| 3.3.1. Operación del filtro de arena..... | 76 |
| 3.3.2. Operación del filtro de carbón activo..... | 80 |
| 3.3.3. Operación del biofiltro de arena | 84 |
| 3.3.4. Operación del biofiltro de carbón activo | 88 |
| 3.4. Eliminación de microcontaminantes | 92 |
| Capítulo 4. Conclusiones | 107 |
| Capítulo 5. Bibliografía | 113 |
| Anexos | 121 |

Objetivos

Objetivos

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Máster es evaluar la eliminación de compuestos farmacéuticos y de cuidado personal (CFCPs) durante el tratamiento de efluentes anaerobios empleando sistemas biológicos de filtración/adsorción.

Para la consecución de este objetivo global se han propuesto los siguientes objetivos específicos:

- Estudiar cómo afecta el tipo de soporte empleado en el lecho (arena o carbón activo granular) al desarrollo de las poblaciones bacterianas y a la adsorción de los compuestos.
- Evaluar la eliminación de los CFCPs cuando en el lecho solo existe adsorción y cuando se combinan adsorción, absorción y biodegradación.
- Estudiar la influencia del tiempo de residencia hidráulico (TRH) en la eliminación de los CFCPs durante el tratamiento del agua residual.

Resumen

La presencia de microcontaminantes orgánicos en aguas residuales urbanas procedentes del consumo de productos destinados a la higiene y la salud es un tema de preocupación en la actualidad ya que el tratamiento convencional de las aguas residuales no es efectivo en la eliminación de estos compuestos. Para mejorar la calidad de las aguas tratadas y reducir el impacto que pueda generar su vertido sobre el medio ambiente, en las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) deben instalarse sistemas de postratamiento.

Para estudiar la eliminación de 20 compuestos farmacéuticos y de cuidado personal (CFCPs) presentes en efluentes anaerobios se instalaron cuatro reactores tipo columna (filtro de arena (A), filtro de carbón activo granular (C), biofiltro de arena (AI) y biofiltro de carbón activo granular (CI)) con el objetivo principal de poder discernir cuál era el principal mecanismo implicado en la eliminación de estos microcontaminantes orgánicos (adsorción o biodegradación), y analizar el tipo de soporte empleado (arena o carbón activo granular) al desarrollo de las poblaciones bacterianas y a la adsorción de los compuestos. Los reactores fueron operados bajo las mismas condiciones de operación (volumen, granulometría y porosidad del lecho, temperatura, tiempo de residencia hidráulico (TRH)). Los biofiltros fueron inoculados con la misma concentración de biomasa y les fue suministrada la misma aireación durante toda la operación. El periodo de operación de los reactores se dividió en 3 etapas: arranque (I), TRH 1,4 d (II) y TRH 0,7 d (III).

Se analizó el comportamiento de los reactores mediante el seguimiento de los parámetros convencionales (pH, conductividad, DQO, NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , COT, NT, alcalinidad, O_2 disuelto, SSV, SST). Los biofiltros mostraron elevadas eficacias de eliminación de materia orgánica soluble y amonio, incluso durante el periodo de arranque y estabilización, mientras que la operación de los filtros a largo plazo evidenció que no son efectivos para la eliminación de estos dos contaminantes presentes en el agua residual.

Además, se realizaron ensayos batch para estimar la capacidad de la arena y el carbón activo granular para la adsorción de amonio, nitrato y materia orgánica soluble. Los resultados obtenidos confirmaron la capacidad de la arena para adsorber amonio y la del carbón activo granular para adsorber amonio, nitrato y materia orgánica soluble. Sin embargo, en todos los casos evaluados, las capacidades de adsorción que presentaron los materiales adsorbentes fueron relativamente bajas.

Resumen

Para determinar la eficacia de eliminación de los microcontaminantes en cada uno de los reactores se realizaron dos muestreos en cada una de las etapas de operación (I, II y III). Se demostró que el carbón activo tiene una capacidad de adsorción muy elevada para todos los compuestos evaluados mientras que la arena presenta adsorción nula para el 60% de los compuestos (carbamazepina, diazepam, diclofenac, ibuprofeno, naproxeno, fluoxetina, bisfenol A, eritromicina, roxitromicina, trimetoprim, estrona, 17 α -etinilestradiol). La biodegradación juega un papel clave en la eliminación de los compuestos biodegradables (naproxeno, fluoxetina, bisfenol A, eritromicina, roxitromicina, trimetoprim) y fácilmente biodegradables (ibuprofeno, estrona, 17 α -etinilestradiol), además de contribuir al incremento de la vida útil del lecho debido a la regeneración del soporte. La reducción del TRH de 1,4 a 0,7 d no afectó de forma significativa a la eficacia de eliminación de los reactores para la mayoría de los microcontaminantes estudiados.

El biofiltro de carbón activo resultó ser el sistema más adecuado para el tratamiento de efluentes anaerobios ya que presentó altas eficacias de eliminación de la materia orgánica y el amonio. Además, fue altamente efectivo en la eliminación de los 20 microcontaminantes estudiados, incluso en el caso de los más recalcitrantes (carbamazepina y diazepam). El trabajo futuro debe estar basado en el estudio de la eliminación de los CFCs en estos sistemas de postratamiento empleando TRH más bajos para reducir los costes de implantación y operación asociados a su instalación en las EDAR.

Nomenclatura

| | |
|----------------------|--|
| A | Filtro de arena |
| ADBI | Celestolide |
| AGV | Ácidos grasos volátiles |
| AHTN | Tonalide |
| AI | Biofiltro de arena |
| ATU | Alitiourea |
| BPA | Bisfenol A |
| C | Filtro de carbón activo |
| CBZ | Carbamazepina |
| CDE | Compuestos disruptores endocrinos |
| CFCP | Compuestos farmacéuticos y de cuidado personal |
| CI | Biofiltro de carbón activo |
| COT | Carbono orgánico total |
| DCF | Diclofenac |
| DQO | Demanda química de oxígeno |
| DZP | Diazepam |
| EBCT | Empty Bed Contact Time |
| EDAR | Estación depuradora de aguas residuales |
| ERY | Eritromicina |
| E1 | Estrona |
| E2 | 17 β -estradiol |
| EE2 | 17 α -etinilestradiol |
| FISH | Fluorescence in situ hybridization |
| FLX | Fluoxetina |
| GAC | Carbón activo granular |
| GC-MS | Cromatografía de gases - Espectrometría de Masas |
| HHCB | Galaxolide |
| IBP | Ibuprofeno |
| LC-MS | Cromatografía líquida - Espectrometría de Masas |
| M_i | Muestra <i>i</i> |
| NP | Nonilfenol |
| NPX | Naproxeno |

| | |
|-------------|---------------------------------|
| NT | Nitrógeno total |
| OD | Oxígeno disuelto |
| OP | Octilfenol |
| ROX | Roxitromicina |
| SMX | Sulfametoxazol |
| SPE | Solid phase extraction |
| SST | Sólidos en suspensión totales |
| SSV | Sólidos en suspensión volátiles |
| TCS | Triclosán |
| TMP | Trimetoprim |
| TRC | Tiempo de residencia celular |
| TRH | Tiempo de residencia hidráulico |
| UASB | Upflow Anaerobic Sludge Blanket |

1

Introducción

1.1. Microcontaminantes emergentes

Durante años la actividad industrial se ha considerado la fuente responsable de la llegada al medio acuático de numerosos compuestos tóxicos para los organismos que allí se desarrollaban produciendo así efectos negativos sobre la flora y fauna presentes. En la actualidad existen directivas que limitan las concentraciones máximas admisibles de determinadas sustancias contaminantes en aguas superficiales, por lo tanto, es posible controlar el vertido de estos compuestos contaminantes en efluentes industriales (Directiva 2008/105/CE). Sin embargo, en la última década se ha empezado a centrar la atención en un grupo de compuestos, denominados contaminantes emergentes, que se encuentran presentes en las aguas en concentraciones muy bajas, de los cuales existe muy poca información y sobre los que no pueden aplicarse regulaciones estrictas ya que proceden del consumo de determinados productos en viviendas y hospitales (Deblonde et al., 2011).

Los microcontaminantes son sustancias contaminantes de naturaleza mayoritariamente orgánica que se encuentran presentes en las aguas residuales en concentraciones del orden de $\mu\text{g/L}$ (ppb) a ng/L (ppt). Dentro de este extenso grupo de sustancias se encuentran los compuestos farmacéuticos y de cuidado personal (CFCPs) y los disruptores endocrinos (CDEs).

1.1.1. Compuestos farmacéuticos y de cuidado personal (CFCPs)

Los CFCPs engloban una amplia variedad de sustancias químicas que se diferencian en su estructura, función y propiedades (Daughton and Ternes, 1999). Este grupo incluye a los medicamentos prescritos, productos de limpieza, cosméticos, fragancias y hormonas tanto sintéticas como naturales. Algunos ejemplos concretos de este tipo de compuestos son: ibuprofeno (IBP), carbamazepina (CBZ), diazepam (DZP), naproxeno (NPX), sulfametoxazol (SMX), trimetoprim (TMP), galaxolide (HHCB), tonalide (AHTN), estrona (E1), 17β -estradiol (E2), 17α -etinilestradiol (EE2), etc.

Existen numerosas fuentes responsables de la llegada de compuestos farmacéuticos y de cuidado personal al medio acuático (Figura 1.1.1). El consumo de fármacos para el tratamiento de enfermedades o dolencias, tanto en hogares como en hospitales, es la principal causa de la aparición de estos productos en este medio, ya que una vez que estas sustancias son administradas al paciente, la fracción no asimilada por el organismo o sus metabolitos, son excretados e incorporados a la red de aguas

residuales. De forma similar ocurre con los productos de cuidado personal que tras ser utilizados son descargados en las aguas residuales urbanas.

La deposición de residuos en vertederos procedentes de los hogares se considera otra fuente de entrada de estos compuestos en el medio acuático debido a su filtración a través del suelo hasta las aguas subterráneas.

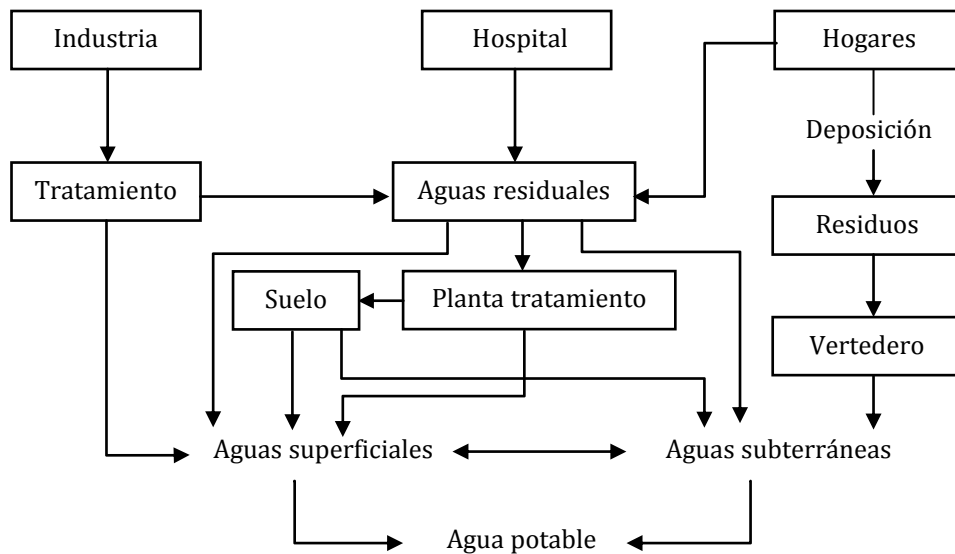


Figura 1.1.1. Rutas de exposición de los CFCPs en las aguas residuales y en el medio acuático (adaptación de Ternes et al., 2006)

En la actualidad existe una creciente preocupación por un determinado tipo de microcontaminantes, los denominados compuestos disruptores endocrinos. Este grupo de sustancias químicas tiene capacidad para alterar el sistema hormonal de las personas y los animales incluso a bajas concentraciones, por lo que la exposición a los mismos puede ocasionar ciertos efectos adversos sobre la salud (Kidd et al., 2007; Santos et al., 2010). Algunos de los compuestos que se encuentran englobados dentro de este grupo son el bisfenol A (BPA), triclosan (TCS), octilfenol (OP), nonilfenol (NP), estrona (E1), 17 β -estradiol (E2), 17 α -etinilestradiol (EE2), etc.

Dado que durante el diseño de las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) no se ha considerado la eliminación de compuestos contaminantes que se encuentran presentes en concentraciones del orden de ppb y ppt, la eliminación de los CFCPs durante el tratamiento convencional de las aguas residuales es tan sólo

parcial permitiendo así la llegada de estos compuestos a los medios acuáticos receptores (Joss et al., 2008).

La presencia de CFCPs en el medio ambiente supone numerosos riesgos ambientales (Sanderson et al., 2004; Roig, 2010). Aunque a corto plazo no se puede cuantificar su efecto, la exposición continuada (por tratarse de sustancias con un uso muy extendido y que se liberan constantemente al medio) de los organismos acuáticos a estos compuestos presentes en los ríos, mares y lagos a los cuales son vertidas las aguas residuales tras su tratamiento podría ocasionar efectos impredecibles a largo plazo e incluso cambios irreversibles en los mismos ya que una fracción importante de estos compuestos fueron diseñados para cumplir una función biológica en un organismo objetivo concreto, pudiendo provocar efectos secundarios en otros organismos (Fent et al., 2006). Debe considerarse además que la mayoría de estas sustancias presentan carácter recalcitrante, son bioacumulativas, potencialmente tóxicas e interfieren con el sistema endocrino (Kannan et al., 2005).

Existen diversos estudios en los cuales se ha analizado el efecto de los CFCPs sobre el medio ambiente. Martins da Costa et al. (2006) demostraron que la exposición continuada de ciertos microorganismos patógenos (*Enterococcus* spp.) a compuestos antibióticos aumentó la resistencia a los mismos lo que podría llegar a convertirse en un problema de salud pública de primer orden. Otros trabajos como el desarrollado por Kidd et al. (2007) demostraron que la exposición continuada de una población de peces a bajas concentraciones (5-6 ppt) de la hormona artificial presente en la píldora anticonceptiva (EE2) puede ocasionar la feminización de los mismos.

A pesar del riesgo potencial que presentan los CFCPs, en la actualidad no existe ninguna normativa que regule los límites de vertido de estos compuestos presentes en las aguas residuales cuando son descargados en los ríos o en el mar, a excepción del nonilfenol y del octilfenol. Sin embargo, en los últimos años se han empezado a tomar medidas para limitar el vertido de algunos de estos compuestos. Así, en enero de 2012, la Comisión Europea realizó una propuesta (Comisión Europea, 2012) para modificar la Directiva 2000/60/CEE en lo que respecta a sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas donde se incluyen las concentraciones máximas admisibles en aguas superficiales correspondientes a tres CFCPs (17 α -etinilestradiol, 17 β -estradiol y diclofenac). En algunos países como Canadá se ha prohibido el uso del triclosán en productos de consumo debido a su carácter de disruptor endocrino mientras que otras asociaciones de elevada relevancia como es el caso de la Agencia

de Protección Ambiental Estadounidense (EPA) han solicitado la prohibición de este compuesto en productos de consumo.

1.1.2. Caracterización de los compuestos seleccionados

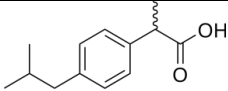
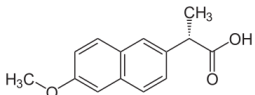
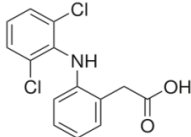
Durante el desarrollo de este trabajo se estudiará la eliminación de 20 microcontaminantes presentes en efluentes anaerobios: 10 fármacos, 3 fragancias y 7 disruptores endocrinos (3 de ellos hormonas). Los compuestos seleccionados son representativos de cada uno de los grupos y presentan diferentes características físico-químicas. Algunos de los criterios que se han considerado para su elección fueron: su elevado consumo en las viviendas, su riesgo potencial sobre el medio ambiente o su carácter persistente.

Antiinflamatorios

Los antiinflamatorios son fármacos que se utilizan para prevenir o disminuir la inflamación de los tejidos, así como para reducir ciertas dolencias asociadas a los procesos gripales debido a su carácter analgésico. Dado que no requieren receta médica y que su consumo no ocasiona efectos secundarios salientables, son los fármacos más utilizados.

Los antiinflamatorios son compuestos de carácter ácido ya que presentan en su estructura un grupo carboxilo (Tabla 1.1.1). Se caracterizan por su elevada polaridad y una solubilidad intermedia.

Tabla 1.1.1. Antiinflamatorios seleccionados (PM=peso molecular)

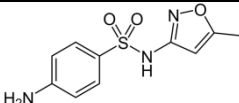
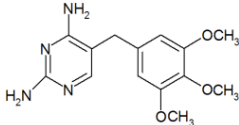
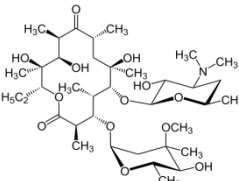
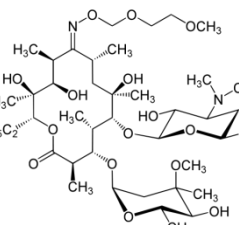
| Compuesto | Fórmula | PM | Estructura |
|------------------|--------------------------|-------|---|
| Ibuprofeno (IBP) | $C_{13}H_{18}O_2$ | 206,3 |  |
| Naproxeno (NPX) | $C_{14}H_{14}O_3$ | 230,3 |  |
| Diclofenac (DCF) | $C_{14}H_{10}Cl_2NO_2Na$ | 318,1 |  |

Antibióticos

Los antibióticos son fármacos que se utilizan tanto en consumo humano como animal para hacer frente a una infección ocasionada por un microorganismo patógeno. Estos compuestos farmacéuticos actúan eliminando o inhibiendo la acción del gen que provoca la infección sin perjudicar, en la mayoría de los casos, al organismo que lo hospeda.

Las propiedades físico-químicas que presentan estos compuestos son muy diferentes. En este trabajo se estudiará la eliminación de dos macrólidos (roxitromicina y eritromicina), una sulfamida (sulfametoxazol) y el trimetoprim (Tabla 1.1.2). Los dos primeros muestran altos pesos moleculares por lo que su solubilidad en agua es muy baja. Sin embargo, los otros dos son solubles en agua (> 400 mg/L) y presentan un peso molecular comparable al del resto de compuestos estudiados.

Tabla 1.1.2. Antibióticos seleccionados.

| Compuesto | Fórmula | Peso molecular | Estructura |
|-------------------------|-------------------------|----------------|--|
| Sulfametoxazol (SMX) | $C_{10}H_{11}N_3O_3S$ | 253,3 |  |
| Trimetoprim (TMP) | $C_{14}H_{18}N_4O_3$ | 290,3 |  |
| Eritromicina (ERY) | $C_{37}H_{67}NO_{13}$ | 733,9 |  |
| Roxitromicina (ROX) | $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$ | 837,1 |  |

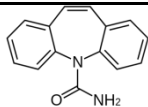
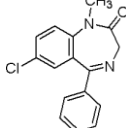
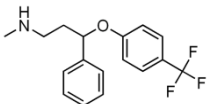
Neurofármacos

Los neurofármacos son compuestos farmacéuticos que se utilizan en el tratamiento de enfermedades que afectan al sistema nervioso. En este estudio se analizará el comportamiento de tres compuestos cuyo consumo es muy elevado en la actualidad debido a sus caracteres antiepiléptico (carbamazepina), tranquilizante (diazepam) y antidepressivo (fluoxetina) (Tabla 1.1.3).

La carbamazepina y el diazepam son compuestos neutros y relativamente solubles en agua. Su carácter recalcitrante dificulta que puedan ser eliminados durante el tratamiento biológico de las aguas residuales.

La fluoxetina presenta un coeficiente de reparto octanol-agua elevado por lo que puede ser eliminado durante el tratamiento de las aguas debido a su adherencia a la biomasa o a los sólidos presentes.

Tabla 1.1.3. Neurofármacos seleccionados.

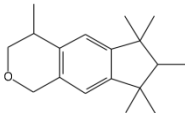
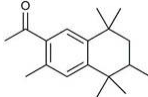
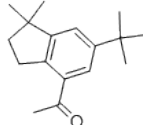
| Compuesto | Fórmula | Peso molecular | Estructura |
|------------------------|----------------------|----------------|---|
| Carbamazepina (CBZ) | $C_{15}H_{12}N_2O$ | 236,3 |  |
| Diazepam (DZP) | $C_{16}H_{13}ClN_2O$ | 284,7 |  |
| Fluoxetina (FLX) | $C_{17}H_{18}F_3NO$ | 309,3 |  |

Fragancias sintéticas

Las fragancias sintéticas son compuestos que se utilizan en la fabricación de productos de limpieza y de cuidado personal, tales como detergentes, perfumes y jabones. Su aparición tuvo lugar durante los años 60 como sustitutas de las fragancias naturales. Tres de las fragancias sintéticas más utilizadas en la actualidad son: galaxolide, tonalide y celestolide (Tabla 1.1.4).

Las fragancias son compuestos de baja solubilidad en agua y carácter lipofílico, por lo que su eliminación durante el tratamiento de las aguas residuales se debe mayoritariamente a su absorción en los lodos.

Tabla 1.1.4. Fragancias seleccionadas.

| Compuesto | Fórmula | Peso molecular | Estructura |
|-----------------------|-----------------|----------------|---|
| Galaxolide (HHCB) | $C_{18}H_{26}O$ | 258,4 |  |
| Tonalide (AHTN) | $C_{18}H_{26}O$ | 258,4 |  |
| Celestolide (ADBI) | $C_{17}H_{24}O$ | 244,4 |  |

Disruptores endocrinos

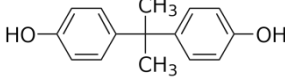
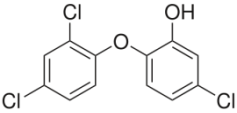
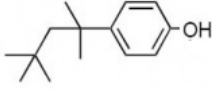
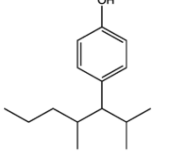
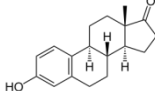
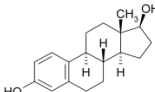
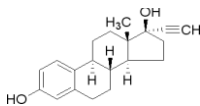
Los disruptores endocrinos son sustancias químicas con capacidad para alterar el sistema hormonal de las personas y los animales provocando efectos adversos sobre la salud de los mismos.

En este caso particular se han seleccionado como compuestos representativos de este grupo (Tabla 1.1.5) el bisfenol A (utilizado en la fabricación de plásticos), el triclosán (componente empleado como antibacteriano en las pastas de dientes), el octilfenol y nonilfenol (utilizados en productos de limpieza) ya que son cuatro de los compuestos que están generando mayor controversia en la actualidad debido a sus posibles efectos negativos sobre la salud, además de las hormonas.

Las hormonas naturales son sustancias secretadas por células especializadas cuyo objetivo es ejercer un efecto sobre otras células presentes en el organismo de personas y animales. Estas sustancias llegan a las aguas residuales debido a su excreción como conjugados inactivos polares tales como glucurónidos y sulfatos. Dentro de este grupo destaca la presencia de la estrona y del 17 β -estradiol.

El 17 α -etinilestradiol es una hormona sintética que se utiliza en la formulación de la píldora anticonceptiva. Igual que ocurre en el caso de las otras dos hormonas estudiadas sus metabolitos se excretan como conjugados de glucuronida y sulfatos.

Tabla 1.1.5. Disruptores endocrinos seleccionados.

| Compuesto | Fórmula | Peso molecular | Estructura |
|---------------------------------------|---|----------------|---|
| Bisfenol A (BPA) | C ₁₅ H ₁₆ O ₂ | 228,3 |  |
| Triclosán (TCS) | C ₁₂ H ₇ O ₂ Cl ₃ | 289,5 |  |
| Octilfenol (OP) | C ₁₄ H ₂₂ O | 206,0 |  |
| Nonilfenol (NP) | C ₁₅ H ₂₄ O | 220,3 |  |
| Estrona (E1) | C ₁₈ H ₂₂ O ₂ | 270,4 |  |
| 17 β -estradiol (E2) | C ₁₈ H ₂₄ O ₂ | 272,4 |  |
| 17 α -etinilestradiol (EE2) | C ₂₀ H ₂₄ O ₂ | 296,4 |  |

1.2. Presencia y eliminación de CFCPs en EDAR

1.2.1. Concentraciones de CFCPs en aguas residuales

La presencia de CFCPs en las aguas residuales es variable y dependiente de su procedencia. En la Tabla 1.2.1 se detallan las concentraciones en aguas residuales urbanas a su llegada a las plantas de tratamiento recogidas en diferentes estudios.

1.2.2. Mecanismos de eliminación de CFCPs en EDAR

Las estaciones depuradoras de aguas residuales están diseñadas para la eliminación de materia orgánica, nitrógeno y fósforo. Esto conlleva a que la eficacia de eliminación de los CFCPs durante el tratamiento de las aguas residuales sea muy diferente, dependiente de las propiedades físico-químicas de los compuestos (solubilidad, volatilidad, adsorbabilidad, absorbabilidad, biodegradabilidad, polaridad y estabilidad) (Le Minh et al., 2010; Ziylan and Ince, 2011) y de las condiciones de operación (tratamiento aerobio, anaerobio o anóxico, TRC, TRH, pH y temperatura) (Verlicchi et al., 2012). Así, los principales mecanismos de eliminación de CFCPs en estaciones depuradoras de aguas residuales incluyen biodegradación, sorción y volatilización (Suarez et al., 2008).

1.2.2.1. Biodegradación

La degradación biológica de los CFCPs presentes en aguas residuales puede determinarse mediante una ecuación cinética de pseudo-primer orden (Joss et al., 2006):

$$r_{biol} = -\frac{dC}{dt} = k_{biol} \cdot X_{SSV} \cdot C_w \quad [1.1]$$

Donde:

k_{biol} : coeficiente de degradación biológica (L/g SSV·d)

C: concentración total de microcontaminantes ($\mu\text{g/L}$)

C_w : concentración de microcontaminantes en fase líquida ($\mu\text{g/L}$)

X_{SSV} : concentración de sólidos en suspensión volátiles (g SSV/L)

De acuerdo con este valor del coeficiente de degradación biológica los compuestos pueden clasificarse en tres grupos:

- Difícilmente biodegradables con $k_{biol} < 0,1 \text{ L/ g SST}\cdot\text{d}$
- Fácilmente biodegradables con $k_{biol} > 10 \text{ L/ g SST}\cdot\text{d}$
- Moderadamente biodegradables con $0,1 < k_{biol} < 10 \text{ L/ g SST}\cdot\text{d}$

1.2.2.2. Sorción

Para determinar la fracción de CFCPs que es sorbida en el lodo se define el coeficiente de distribución sólido-líquido (K_d). Este coeficiente relaciona las concentraciones de los compuestos en fase sólida y en fase líquida (ec. 1.2). El potencial de sorción de los CFCPs es función de su carácter lipofílico y de su acidez.

$$K_d = \frac{C_s}{X_{SST} \cdot C_w} \quad [1.2]$$

Donde:

K_d : coeficiente de distribución sólido-líquido (L/g SST)

C_s : concentración del compuesto en fase sólida ($\mu\text{g/L}$)

X_{SST} : concentración de sólidos en suspensión totales (g SST/L)

C_w : concentración del compuesto en fase líquida ($\mu\text{g/L}$)

La sorción puede llevarse a cabo a través de dos mecanismos:

- Absorción: se produce por la interacción de los grupos aromáticos y alifáticos de los compuestos con la membrana celular de los microorganismos y la fracción lipídica de los lodos. Su efecto se puede evaluar mediante el coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}).
- Adsorción: se produce por la interacción electrostática entre los compuestos cargados positivamente y la superficie de los microorganismos con carga negativa. El pH del medio determina la adsorción de los compuestos al sólido ya que afecta a la ionización o disociación de los mismos en fase líquida, caracterizado este por el valor de la constante de disociación (K_a).

1.2.2.3. Volatilización

La fracción de compuesto volatilizado en el tanque de aireación depende del flujo de aire que está en contacto con el agua residual, del tipo de aireación y del coeficiente de Henry (ec. 1.3).

Este mecanismo de eliminación es despreciable para fármacos y hormonas, y afecta principalmente a las fragancias.

$$\phi = \frac{C_w \cdot H \cdot Q_{air}}{C_w + C_w \cdot H \cdot Q_{air} + C_w \cdot K_d \cdot X_{SST}} = \frac{H \cdot Q_{air}}{1 + H \cdot Q_{air} + K_d \cdot X_{SST}} \quad [1.3]$$

Donde:

H: coeficiente de Henry ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^3$ agua residual/ $\mu\text{g}\cdot\text{m}^3$ aire)

Q_{air} : caudal de aire (m^3 aire/ m^3 agua residual)

1.2.3. Presencia de CFCPs en efluentes anaerobios

En los últimos años se han llevado a cabo numerosos estudios para determinar la eliminación de los CFCPs durante el tratamiento convencional de las aguas residuales (Carballa et al., 2004; Yu et al., 2013), sin embargo, pocos son los trabajos encontrados en bibliografía que hayan estudiado la eliminación de los CFCPs durante el tratamiento anaerobio de las aguas residuales urbanas. Los resultados obtenidos por de Graaff et al. (2011) indicaron que solo el paracetamol fue eliminado durante el tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas en un reactor UASB de entre todos los compuestos estudiados (paracetamol, carbamazepina, ibuprofeno, diclofenac, tetraciclina, metoprolol, doxiciclina, propanolol, cetiricina). Queiroz et al. (2012) consiguieron eliminar sulfametoxazol y trimetoprim en un reactor de las mismas características, sin embargo; éste resultó ser totalmente ineficiente para la eliminación de bisfenol A y diclofenac. Froehner et al. (2011) demostraron que el tratamiento anaerobio es efectivo para la reducción de la actividad estrogénica en aguas residuales obteniendo porcentajes de eliminación superiores al 66% para compuestos tales como la estrona, el 17 β -estradiol y el 17 α -etinilestradiol, mientras que Reyes-Contreras et al. (2011) concluyeron que este tratamiento es parcialmente efectivo para la eliminación de cafeína, triclosán y ketoprofen.

Los resultados obtenidos por Alvariño (2011) en el estudio realizado sobre la eliminación de 15 CFCPs (IBP, NPX, DCF, SMX, ERY, ROX, TMP, FLX, DZP, E1, E2, EE2) presentes en aguas residuales urbanas en un reactor de tipo UASB demostraron que el tratamiento anaerobio es efectivo para la eliminación de naproxeno, trimetoprim y sulfametoxazol con una eficacia de eliminación superior al 80% mientras que es parcialmente efectivo (>50%) para la eliminación de las fragancias, la fluoxetina y el 17 β -estradiol. Estos resultados son afines con los logrados por Carballa et al. (2007) durante la digestión anaerobia de lodos de depuradora. En este último trabajo se concluyó que el tratamiento anaerobio de los lodos de depuradora es efectivo para la eliminación de sulfametoxazol (>95%), roxitromicina (>90%) y naproxeno (>80%) mientras que este es parcialmente efectivo para la eliminación de las fragancias galaxolide y tonalide (>50%) y las hormonas E1 y E2 (>65%).

Tabla 1.2.1. Presencia de microcontaminantes orgánicos en aguas residuales urbanas.

| Compuesto | Concentraciones (ppb) | | | | | | |
|-----------|-----------------------|-------------|-------------|--------------|-----------|-------------|--------------|
| | | | | | | | |
| IBP | 2,6-5,7 | 1,2-2,68 | 15,74-32,64 | 0,235-13,905 | 1,62-7,26 | - | 1,599-2,853 |
| NPX | 1,8-4,6 | - | 2,62-4,44 | n.d.-0,294 | 0,42-2,76 | - | 1,36-5,033 |
| DCF | < 0,05 | 0,91-3,25 | 0,63-1,03 | n.d.-11,742 | 1,06-1,26 | - | 0,105-4,110 |
| SMX | 0,6 | 0,075-0,145 | - | - | 0,29-0,75 | - | 0,079-0,216 |
| TMP | - | - | - | - | 0,09-0,27 | - | 0,080-1,300 |
| ERY | - | - | - | - | 0,03-0,15 | - | 0,071-0,141 |
| ROX | < 0,02 | 0,026-0,145 | - | - | 0,01 | - | 0,025-0,117 |
| CBZ | < 0,07 | 0,325-1,850 | 0,66-2,06 | n.d.-1,950 | < 0,16 | - | 0,709-2,930 |
| DZP | < 0,06 | n.d. | - | n.d. | 1,9-2,52 | - | - |
| FLX | - | - | - | n.d.-3,090 | 0,01-0,03 | - | - |
| HHCB | 1,4-3,4 | 0,83-4,443 | 0,68-1,2 | 0,050-2,780 | 0,96-1,72 | - | 0,79-4,443 |
| AHTN | 0,7-1,7 | 0,21-1,106 | 0,24-0,54 | 0,023-0,816 | 0,39-0,73 | - | 0,21-1,69 |
| ADBI | - | - | - | - | < 0,02 | - | - |
| BPA | - | 0,72-2,376 | - | - | - | - | - |
| TCS | - | - | - | - | - | - | 0,247-0,785 |
| NP | - | 1,28-4,031 | - | - | - | - | - |
| E1 | 0,0024 | - | - | n.d.-0,073 | - | 0,025-0,132 | 0,032-0,070 |
| E2 | 0,0016 | - | - | - | - | 0,017-0,150 | 0,0025-0,125 |
| EE2 | < 0,001 | - | - | n.d.-0,080 | - | 0,003-0,070 | - |
| OP | - | 0,118-0,680 | - | - | - | - | - |

* n.d. : no detectado (1) Carballa et al., 2004; (2) Clara et al., 2005; (3) Hijosa-Valsero et al., 2010; (4) Salgado et al., 2011.; (5)

Fernández-Fontaina et al., 2012; (6) Hamid et al., 2012; (7) Ratola et al., 2012

1.3. Nuevas tecnologías para mejorar la eliminación de CFCPs en EDAR

En los últimos años se han desarrollado nuevas tecnologías de tratamiento para mejorar la calidad de las aguas que son descargadas en los ríos y mares. Estos sistemas, incorporados a las EDAR como parte del tratamiento terciario, son efectivos para reducir la concentración de CFCPs (Sudhakaran et al., 2013).

1.3.1. Procesos de oxidación avanzada

Los procesos de oxidación avanzada son utilizados para eliminar contaminantes orgánicos presentes en el agua no tratables mediante técnicas convencionales debido a su elevada estabilidad química y/o a su baja biodegradabilidad. Mediante el empleo de estas tecnologías se produce la mineralización completa de los compuestos mediante su oxidación química. Dentro de este grupo se encuentran la ozonización, radiación UV, combinación O_3/H_2O_2 , procesos Fenton, etc.

1.3.1.1. Ozonización

La ozonización es la técnica de oxidación avanzada más utilizada durante el tratamiento de las aguas residuales. El ozono es utilizado para llevar a cabo la oxidación completa de los contaminantes orgánicos. Numerosos estudios han demostrado la eficacia de la ozonización para eliminar CFCPs. Hernández-Leal et al., (2011) alcanzaron eficacias de eliminación superiores al 95% para triclosán, galaxolide, tonalide, nonilfenol, bisfenol A durante el tratamiento de un efluente secundario con ozono. Lee et al., (2012) combinaron la ozonización con la biofiltración en lecho de arena para mejorar la eficacia de eliminación de los CFCPs durante el tratamiento del agua residual y reducir la toxicidad del efluente.

1.3.1.2. Radiación UV

La radiación UV es una técnica empleada en el tratamiento terciario de las aguas residuales para reducir la cantidad de agentes patógenos antes de que las aguas sean descargadas a los ríos o al mar. Se ha demostrado que la fotodegradación mediante radiación UV es efectiva para la eliminación de determinados CFCPs presentes en las aguas tales como carbamazepina, diclofenac y sulfametoxazol (Kim et al., 2009). Para mejorar la eficacia de eliminación de los CFCPs se suelen utilizar tratamientos que combinan UV/H_2O_2 y UV/O_3 (Sudhakaran et al., 2013).

1.3.2. Sistemas de filtración/adsorción

La filtración y la adsorción son dos operaciones unitarias que se utilizan en las plantas de tratamiento de aguas residuales para ajustar las propiedades de las aguas tratadas a las especificaciones exigidas. Los materiales más utilizados en los sistemas de filtración/adsorción durante el tratamiento de las aguas residuales son la arena y el carbón activo.

1.3.2.1. Filtros de arena

La filtración mediante lecho de arena es una operación unitaria que se utiliza en las estaciones depuradoras de aguas residuales como parte del tratamiento terciario para eliminar sólidos en suspensión.

Diferentes estudios han demostrado la eficacia de estos sistemas de tratamiento para la eliminación de CFCPs en efluentes secundarios (Göbel et al., 2007; Nakada et al., 2007). Los resultados obtenidos hasta el momento no permiten asegurar cual es el factor responsable de la eliminación de estos compuestos, ya que aunque en algunos estudios como el realizado por Nakada et al. (2007) se obtuvieron porcentajes de eliminación superiores al 80% para compuestos con $\log K_{ow} > 3$ (ibuprofeno, ácido mefenámico, octilfenol y bisfenol A) e inferiores al 50% para aquellos que presentan $\log K_{ow} < 3$ (DEET, crotamiton, carbamazepina, sulfapiridina, sulfametoxazol y 17 β -estradiol) las eficacias de eliminación no fueron constantes en todas las campañas realizadas. Aunque la hidrofobicidad se considera un factor clave para explicar la eliminación de CFCPs en los filtros de arena, otros factores tales como el crecimiento de poblaciones bacterianas sobre el soporte o la aparición de caminos preferenciales son también importantes (Wettstein, 2004).

1.3.2.2. Filtros de carbón activo

La aplicación de columnas de carbón activo para la eliminación de ciertos contaminantes orgánicos que proporcionan sabor y olor al agua viene utilizándose desde hace varias décadas en las plantas potabilizadoras de agua. Diferentes autores han estudiado la aplicación de estos sistemas de tratamiento para la eliminación de CFCPs presentes en aguas potables (Ternes et al., 2002) y lo han extrapolado de forma efectiva al tratamiento de efluentes secundarios en EDAR (Hernández-Leal et al., 2011).

El mecanismo responsable de la eliminación de los microcontaminantes en columnas de carbón activo es la adsorción. La eficacia de eliminación en estos sistemas depende de las propiedades que presentan el soluto (carga, tamaño, hidrofobicidad) y el adsorbente (estructura de los poros, química superficial), así como también de la composición que muestra la matriz del agua que va a ser tratada (contenido en materia orgánica coloidal, sólidos) además de la temperatura (Ternes et al., 2006).

Para evaluar la capacidad de adsorción que presenta un adsorbente ante un microcontaminante concreto se definen las isothermas de adsorción, que relacionan la capacidad de adsorción del material empleado como adsorbente con la concentración del contaminante en fase líquida cuando se alcanza el equilibrio a una temperatura constante. La isoterma que más se utiliza para representar la capacidad de adsorción de los carbones activos es la isoterma de Freundlich.

La isoterma de Freundlich se define como:

$$q = K_f \cdot C_e^{1/n} \quad [1.4]$$

Donde:

q: capacidad de adsorción (μg CFCP/g adsorbente)

C_e : concentración de equilibrio del microcontaminante en la fase líquida ($\mu\text{g}/\text{L}$)

K_f : parámetro relacionado con la capacidad de adsorción ($\mu\text{g}/\text{g})(\text{L}/\mu\text{g})^{1/n}$)

$1/n$: parámetro relacionado con la intensidad de adsorción

Los parámetros correspondientes a la isoterma de Freundlich (K_f y $1/n$) indican la afinidad del compuesto contaminante por el material adsorbente. Cuanto mayor es el valor de K_f y menor es el valor de n , más efectivo es el adsorbente para la eliminación de los microcontaminantes. En la Tabla 1.3.1 se muestran los parámetros correspondientes a la isoterma de Freundlich obtenidos para una selección de CFCPs cuando se emplea como adsorbente carbón activo granular (GAC). De este estudio pudo concluirse que el carbón activo granular es efectivo para la eliminación de microcontaminantes con carácter recalcitrante (carbamazepina, diclofenac y diazepam) mientras que presenta poca afinidad por las fragancias (galaxolide, tonalide, celestolide).

La utilización de columnas de carbón activo para eliminar CFCPs presentes en aguas residuales tiene dos inconvenientes principales:

- Competición de la materia orgánica y los microcontaminantes por los centros activos del carbón activo. La presencia de materia orgánica en las aguas residuales puede ocasionar el bloqueo de los poros del material adsorbente, disminuyendo así la eficacia de eliminación de los CFPCs (Figura 1.3.1).
- Necesidad de regeneración del adsorbente.

Tabla 1.3.1. Parámetros correspondientes a la isoterma de Freundlich obtenidos con GAC para determinados CFPCs (Serrano et al., 2010).

| Compuesto | $K_f (\mu\text{g/g})(\text{L}/\mu\text{g})^{1/n}$ | $1/n$ | R^2 |
|-----------|---|-------|-------|
| IBP | 72 | 0,87 | 0,99 |
| NPX | 107 | 0,87 | 0,99 |
| DCF | 170 | 0,85 | 0,88 |
| CBZ | 565 | 0,25 | 0,87 |
| DZP | 110 | 0,81 | 0,99 |
| HHCB | 22 | 0,83 | 0,79 |
| AHTN | 17 | 1,20 | 0,90 |
| ADBI | 41 | 0,83 | 0,93 |

A pesar de los dos problemas que presentan estos sistemas de tratamiento, se han publicado numerosos trabajos donde se concluye que estos son efectivos en la eliminación de microcontaminantes presentes en aguas tanto residuales como potables. Así, en el 2007, Snyder et al. demostraron que las columnas de carbón activo son adecuadas para eliminar algunos CFPCs tales como carbamazepina (> 55%), eritromicina (> 44%) y sulfametoxazol (> 83%) presentes en aguas potables. En el 2011, Hernández et al. aplicaron este tipo de sistema al tratamiento de efluentes secundarios procedentes del tratamiento biológico, alcanzando eliminaciones del 66% (bisfenol A), 95% (triclosán), 79% (galaxolide), 67% (tonalide) y 84% (nonilfenol).

1.3.3. Sistemas de biofiltración

Los sistemas de biofiltración son aquellos sistemas que combinan la eliminación de los compuestos contaminantes mediante biodegradación y adsorción/absorción debido a la presencia de una biopelícula que se desarrolla sobre la superficie del material empleado como adsorbente. Permiten operar con concentraciones de

biomasa y tiempos de retención celular más elevados que los usados en un sistema convencional de lodos activos por lo que son adecuados para el desarrollo de bacterias de crecimiento lento como es el caso de las bacterias nitrificantes (Fernández-Polanco et al., 2000).

Los parámetros de operación que deben estudiarse para analizar el comportamiento de los biofiltros y optimizar su funcionamiento son: relación L/D, granulometría del lecho, tiempo de contacto en lecho vacío (EBCT), temperatura, concentración y tipo de biomasa, aireación y composición del influente (Çeçen and Aktas, 2012).

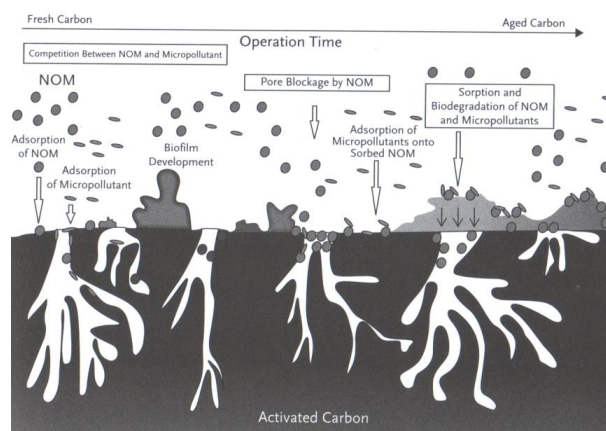


Figura 1.3.1. Competición entre la materia orgánica y los microcontaminantes en biofiltros de carbón activo (Çeçen et al., 2012).

1.3.3.1. Biofiltros de arena

Numerosos estudios han demostrado la eficacia de eliminación de CFCPs en biofiltros de arena durante el tratamiento de efluentes secundarios (Reungoat et al., 2011; Onesios et al., 2012) y de aguas potables (Zearley et al., 2012).

Los ensayos realizados por Hollender et al. (2009) con efluentes secundarios mostraron que los biofiltros de arena son capaces de eliminar algunos compuestos contaminantes tales como diclofenac (20%), atenolol (15%), naproxeno (30%), carbendazim (15%) y trimetoprim (15%). Los resultados obtenidos por Reungoat et al. (2011) cuando estudiaron la eliminación de 21 CFCPs en efluentes secundarios mediante este sistema de tratamiento mostraron que 12 de ellos fueron no eliminados o pobremente eliminados ($\leq 20\%$), 8 experimentaron eliminación intermedia (23-54%) mientras que solo el paracetamol fue eliminado en un 85%.

1.3.3.2. Biofiltros de carbón activo

El empleo de filtros de carbón activo con actividad biológica es una solución efectiva para hacer frente a los problemas que presentan las columnas de carbón activo. El desarrollo de una biopelícula sobre el lecho de GAC favorece la degradación de la materia orgánica y de los microcontaminantes adsorbidos previamente sobre la superficie del carbón (Figura 1.3.1). La biodegradación es clave para incrementar la vida útil del lecho debido al efecto de la regeneración del soporte.

Distintos estudios han analizado la eficacia de los biofiltros de carbón activo para la eliminación de CFCPs en aguas potables y aguas residuales procedentes del tratamiento secundario (Ternes et al., 2002; Reungoat et al., 2011; Velten et al., 2011). El trabajo realizado por Snyder et al. (2006) demostró que este sistema de tratamiento es válido para eliminar atenolol, diclofenac, fluoxetina, naproxeno, triclosán y trimetoprim de efluentes secundarios con una eficacia superior al 97%. Otros trabajos, como el realizado por Reungoat et al. (2011) concluyeron que los biofiltros de carbón activo son adecuados para eliminar compuestos pobremente eliminados en plantas de tratamiento de aguas residuales (carbamazepina, diclofenac, eritromicina, metoprolol, roxitromicina, sulfametoxazol, trimetoprim) con una eficacia superior al 90%.

2

Materiales y métodos

2.1. Montaje experimental

Para llevar a cabo el estudio se instalaron cuatro reactores tipo columna de funcionamiento en continuo (Figura 2.1.1). Los reactores fueron operados bajo las mismas condiciones de operación (temperatura, volumen del lecho, tiempo de residencia hidráulico, etc.), siendo la diferencia principal entre ambos el tipo de soporte utilizado en el interior de la columna (arena o carbón activo granular) y/o la inoculación previa con biomasa heterótrofa y nitrificante.

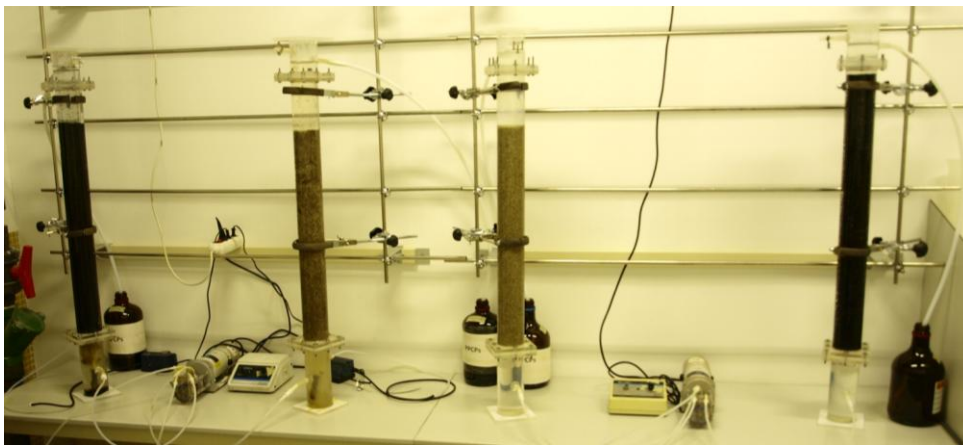


Figura 2.1.1. Reactores empleados en el estudio (de izquierda a derecha: biofiltro de carbón activo granular (CI), biofiltro de arena (AI), filtro de arena (A) y filtro de carbón activo granular (C)).

2.1.1. Configuración de los reactores

Se dispone de cuatro reactores tipo columna fabricados en metacrilato de 110 cm de altura (divididos en tres secciones de 20, 80 y 10 cm) y 7,3 cm de diámetro interno, siendo el volumen total correspondiente a cada uno de los reactores de 4,6 L. La alimentación se introduce en flujo ascendente por un conducto lateral situado a 10 cm de la base inferior de los reactores mediante una bomba peristáltica de flujo variable y el efluente se extrae por desplazamiento del líquido a través de un conducto lateral situado a 5 cm con respecto a la parte superior de los reactores. El material empleado como soporte (arena o carbón activo granular, según proceda) ocupa un volumen de 3 L (volumen del lecho) y es “retenido” por dos mallas situadas a una altura de 20 y 100 cm, respectivamente. En la Figura 2.1.2 se muestra un esquema del tipo de reactor utilizado.

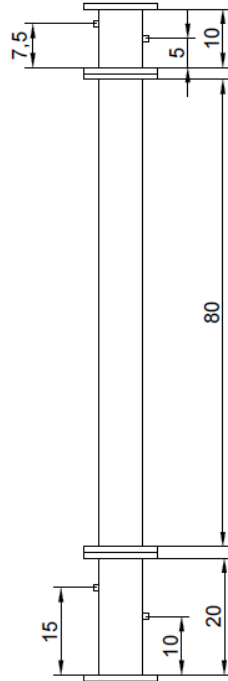


Figura 2.1.2. Esquema de los reactores.

Los reactores inoculados disponen de un sistema de aireación instalado en la sección inferior de los mismos. El sistema de aireación está constituido por un difusor de aire de 6,5 cm de altura y 1,5 cm de diámetro conectado mediante un tubo de teflón a un aireador eléctrico de funcionamiento en continuo.

Las características técnicas de la arena y del carbón activo granular empleados como soporte en el interior de los reactores se detallan en la Tabla 2.1.1 y se detalla más información en los Anexos I y II.

Tabla 2.1.1. Características de los materiales.

| | Arena | GAC |
|--|-------|---------|
| Tamaño de partícula (mm) | 1 - 2 | 1 - 2,3 |
| Densidad aparente (kg/m ³) | 1416 | 480 |
| Porosidad del lecho | 0,43 | 0,44 |

2.1.2. Puesta en marcha

En primer lugar, se procedió a la inoculación de dos reactores (uno con soporte de arena y otro con soporte de carbón activo granular). La biomasa empleada como inóculo fue tomada del reactor biológico instalado en la EDAR de Calo-Milladoiro y se concentró con la ayuda de una centrífuga para conseguir un lodo lo más espeso posible, favoreciendo así su adherencia posterior al material empleado como soporte. La cantidad necesaria de inóculo se determinó teniendo en cuenta que la concentración inicial de biomasa en el interior del reactor (referida al volumen útil del lecho) debía estar en torno a 11 g SSV/L.

Para llevar a cabo la inoculación de los reactores se mezclaron, mediante agitación manual, la biomasa obtenida tras la centrifugación del licor mezcla y el material empleado como soporte (arena (4,3 kg) o carbón activo granular (1,4 kg), según proceda) hasta conseguir una distribución homogénea del inóculo a través del soporte.

Una vez que se obtuvieron las dos mezclas anteriores se procedió al llenado de los reactores con el material empleado como soporte correspondiente en cada caso (arena, carbón activo granular, arena inoculada y carbón activo granular inoculado). La introducción del soporte se realizó por la sección superior de los reactores.

Durante la etapa de puesta en marcha, los reactores fueron alimentados en continuo con un influente sintético cuyas características (detalladas en la Tabla 2.1.2) simulan la composición de un efluente obtenido tras el tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas en un reactor UASB. A la alimentación sintética, preparada con agua de grifo, se incorporaron los 20 microcontaminantes seleccionados (Apartado 1.1.2) y cuyas concentraciones se detallan en la Tabla 2.1.3. Las concentraciones seleccionadas de estos compuestos se basaron en los niveles que se encuentran habitualmente en los influentes de las EDAR considerando también los límites de detección y cuantificación de los métodos analíticos empleados.

Los microcontaminantes fueron adicionados en la alimentación empleando patrones concentrados que englobaban a los compuestos en 7 grupos:

- Ácidos (IBP, NPX, DCF): 2.000 mg/L en metanol
- Antibióticos (SMX, TMP, ERY, ROX): 2.000 mg/L en metanol
- Neutros (CBZ, DZP): 5.000 mg/L en acetona
- Fluoxetina (FLX): 5.000 mg/L en metanol

Capítulo 2

- Fragancias (HHCB, AHTN, ADBI): 5.000 mg/L en acetona
- Disruptores endocrinos (BPA, TCS, OP, NP): 2.000 mg/L en metanol
- Hormonas (E1, E2, EE2): 250 mg/L en metanol

Tabla 2.1.2. Características del influente.

| | | | |
|--------------------------|-----|--|------|
| pH | 7 | P-PO ₄ ⁻³ (mg/L) | 10,5 |
| DQO (mg/L) | 600 | Alcalinidad (mg/L) | 500 |
| N-NH ₃ (mg/L) | 11 | AGV (mg/L) | 250 |

* AGV: Ácidos grasos volátiles

Tabla 2.1.3. Concentración de microcontaminantes en el influente de los reactores (µg/L).

| | | | | | | | |
|-------------|----|---------------|----|-------------|----|--------------------|----|
| Ibuprofeno | 10 | Eritromicina | 10 | Galaxolide | 40 | Carbamazepina | 10 |
| Naproxeno | 10 | Roxitromicina | 10 | Tonalide | 40 | Sulfametoxazol | 10 |
| Diclofenac | 10 | Bisfenol A | 10 | Celestolide | 40 | Estrona | 1 |
| Diazepam | 10 | Triclosán | 10 | Optilfenol | 10 | 17β-Estradiol | 1 |
| Trimetoprim | 10 | Fluoxetina | 10 | Nonilfenol | 10 | 17αEtinilestradiol | 1 |

La alimentación de los reactores fue preparada empleando los reactivos y las concentraciones que se detallan en la Tabla 2.1.4.

Tabla 2.1.4. Composición de la alimentación.

| | |
|--|------|
| NH ₄ Cl (mg/L) | 43,5 |
| Na ₃ PO ₄ (mg/L) | 58 |
| NaHCO ₃ (mg/L) | 840 |
| Metanol (mL/L) | 0,2 |
| Disolución de AGVs (mL/L) | 7,2 |
| Disolución de trazas (mL/L) | 0,5 |

Tabla 2.1.5. Composición de la disolución de AGVs (mL/L).

| | |
|------------------|-------|
| Ácido acético | 22,32 |
| Ácido propiónico | 8,34 |
| Ácido butírico | 7,17 |

Tabla 2.1.6. Composición de la disolución de trazas (mg/L).

| | |
|--------------------------------------|-------|
| FeCl ₃ ·6H ₂ O | 1.500 |
| H ₃ BO ₃ | 150 |
| CuSO ₄ ·5H ₂ O | 30 |
| KI | 30 |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 120 |
| CoCl ₂ ·6H ₂ O | 150 |
| MnCl ₂ ·4H ₂ O | 120 |

El tiempo de residencia hidráulico (TRH) empleado durante la puesta en marcha de los reactores fue de 1,4 días (referido al volumen útil de los lechos) simulando los TRH típicos utilizados durante el tratamiento de las aguas residuales en humedales. Este valor permite operar con una velocidad superficial de líquido adecuada para favorecer la adherencia de la biomasa al soporte y fomentar el desarrollo de una biopelícula ya que se encuentra por debajo del valor máximo recomendado en estos casos (0,1 m/h) (Villaverde et al., 2000). La temperatura de operación se mantuvo en torno a 25°C y el caudal de aire aportado fue de 1,7 L/min para garantizar que la concentración de oxígeno disuelto fuera del orden de 7 mg/L.

2.2. Operación de los reactores

Tras la puesta en marcha, los cuatro reactores operaron bajo las mismas condiciones de operación con respecto a temperatura, aireación y composición de la alimentación. Durante la operación de los reactores sólo fue modificado el TRH.

El periodo de operación de los reactores se puede dividir en tres etapas:

- Etapa I (desde el día 1 al día 27 de operación (biofiltros), 1 al 20 (filtros)). Período de arranque y estabilización. El TRH empleado fue de 1,4 d (referido al volumen útil del lecho).
- Etapa II (desde el día 28 al 42 de operación (biofiltros), 21 al 35 (filtros)). El TRH empleado fue de 1,4 d (referido al volumen útil del lecho). Adición de 100 mg/L de azida sódica (NaN₃) y 10 mg/L de ATU en la alimentación de los filtros de arena y carbón activo para eliminar la actividad biológica en los mismos.
- Etapa III (desde el día 43 al 70 de operación (biofiltros), 36 al 63 (filtros)). El TRH empleado fue de 0,7 d (referido al volumen útil del lecho).

Capítulo 2

Para monitorizar la operación de los reactores, se tomaron muestras de la alimentación y del efluente tres veces por semana durante las primeras semanas de operación y posteriormente se redujo a dos veces por semana. Los parámetros medidos junto con el volumen de muestra necesario en cada caso indicado entre paréntesis fueron: pH, O₂, alcalinidad (25 mL), AGV (300 µL), SSV (20 mL), COT (5 mL), NT (5 mL), aniones/cationes (10 mL), NH₄⁺ (5 mL), NO₂⁻ (5 mL), NO₃⁻ (5 mL) y DQO (2,5 mL).

Durante el período de operación de los reactores se realizaron 6 muestreos de microcontaminantes. Los dos primeros, denominados a partir de ahora como M1 y M2, fueron realizados los días 22 y 27 de operación de los biofiltros (15 y 20 en el caso de los filtros). Los muestreos M3 y M4 se realizaron durante la etapa II los días 33 y 40 de operación de los biofiltros (26 y 33 en el caso de los filtros) mientras que los muestreos M5 y M6 fueron realizados durante la etapa III los días 55 y 63 de operación de los biofiltros (48 y 56 en el caso de los filtros).

Para determinar la eficacia de eliminación de los CFCPs en cada uno de los reactores se tomaban 500 mL de influente y 500 mL de efluente, y se procedía a su análisis mediante GC-MS (250 mL) y LC-MS (250 mL) tras realizar la extracción en fase sólida (solid phase extraction, SPE).

2.3. Ensayos en batch

Se realizaron ensayos en batch para la obtención de las isothermas correspondientes a la adsorción de amonio, nitrato y materia orgánica (representada por una mezcla de AGVs y metanol) sobre carbón activo granular y sobre arena. Para ello, se han considerado las concentraciones de los contaminantes en el influente de los reactores (amonio y materia orgánica) y la concentración de nitrato presente en el efluente suponiendo que la nitrificación del amonio presente en la alimentación fuese completa.

Se realizaron 36 ensayos en discontinuo distribuidos en tres sets. En cada uno de los sets se utilizaron 12 matraces Erlenmeyer (de 250 mL de volumen útil) de los cuales 6 fueron utilizados para llevar a cabo los ensayos correspondientes a la adsorción del contaminante sobre GAC y los otros 6 para evaluar la adsorción del contaminante sobre arena. Las características técnicas de la arena y del carbón activo granular empleados ya fueron detalladas en la Tabla 2.1.1.

El procedimiento experimental utilizado fue el mismo en los tres sets, siendo las diferencias principales entre ellos el tipo y la concentración de contaminante presente en el agua. En cada periodo los matraces fueron llenados con una disolución de contaminante de concentración conocida (11 mg N-NH₄⁺/L, 558 mg DQO/L o 11 mg N-NO₃⁻/L) y sobre ellos se añadieron dosis de GAC o de arena, según corresponda, de 50 mg/L, 100 mg/L, 500 mg/L, 1 g/L y 10 g/L. Fue necesaria también la preparación de un blanco (sin adsorbente) para evaluar cualquier cambio que pudiera tener lugar en el sistema. Las disoluciones de los contaminantes fueron preparadas en agua de grifo empleando como reactivos: NH₄Cl (amonio), NaNO₃ (nitrato), metanol y una disolución de AGVs (m/p/b) de 50 g DQO/L (64% de la disolución de AGVs y en un 36% del metanol).

Los matraces fueron colocados en un shaker (100 rpm) a 25°C durante 48 horas para asegurar que se había alcanzado el equilibrio entre las concentraciones de contaminante en fase líquida y en fase sólida.

Para evaluar la adsorción de los contaminantes sobre los materiales adsorbentes empleados se midieron las concentraciones de amonio, nitrato y DQO soluble en la disolución inicial y tras 48 horas de experimento.

2.4. Procedimientos para la caracterización de la biomasa

2.4.1. Ensayos de actividad

Para determinar la actividad de la biomasa empleada como inóculo en los dos reactores inoculados se realizaron ensayos para obtener las actividades heterótrofa y nitrificante de las bacterias presentes en el lodo procedente del tratamiento biológico de la EDAR de Calo-Milladoiro.

Actividad heterótrofa

Los ensayos se realizaron utilizando un método respirométrico (López-Fiuza et al., 2002), basado en el seguimiento de la velocidad de consumo de oxígeno disuelto (OD), usando un monitor de oxígeno biológico (BOM, YSI modelo 5300). Este equipo dispone de dos sensores de oxígeno disuelto (YSI modelo 5331) y de un sistema de adquisición de datos conectado a un PC (Figura 2.4.1). La reacción transcurre en viales de 15 mL (10 mL de volumen útil), agitados mediante un sistema de agitación magnética y mantenidos a una temperatura constante de 25°C en un baño termostatzado.



Figura 2.4.1. Monitor de oxígeno biológico.

El procedimiento seguido es el siguiente:

- Lavar el lodo con tampón fosfato (Tabla 2.4.1).
- Calibrar los electrodos de oxígeno.
- Saturar los viales, a los que ya se le añadió el medio de tampón fosfato y la concentración de biomasa requerida, con aire a la temperatura fijada para el ensayo (25°C).
- Colocar los electrodos de oxígeno dentro de los viales, asegurándose que no quede ninguna burbuja ocluida en la fase líquida, y conectar el sistema de adquisición de datos.
- Tras dos minutos de reacción en ausencia de sustrato (fase endógena) se inyecta éste al medio de reacción.
- Se deja transcurrir la reacción el tiempo necesario para poder determinar las velocidades de consumo de oxígeno (10-15 min).
- Se determina el contenido en biomasa (SSV) de los viales.

La concentración de biomasa utilizada en el experimento se mantuvo en el rango de 0,5-2 g SSV/L y como sustrato se utilizó CH_3COONa , por tratarse de DQO fácilmente biodegradable. La concentración de sustrato inicial se estableció de forma que no resultase limitante de la velocidad de la reacción biológica (200 mg DQO/L). Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

La medida proporcionada por el respirómetro es la evolución de la concentración de OD en los viales con el tiempo, expresada como % de O_2 .

Tabla 2.4.1. Composición del tampón fosfato (g/L).

| Compuesto | Concentración |
|---------------------------------------|---------------|
| KH ₂ PO ₄ | 3,31 |
| K ₂ HPO ₄ | 3,97 |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 1,84 |
| MgCl ₂ ·10H ₂ O | 1,52 |
| NaCl | 0,80 |
| NaHCO ₃ | 0,21 |

La actividad heterótrofa se determina como:

$$Act.Het. = \frac{(Pte_t - Pte_e) \cdot V}{SSV} \quad [2.1]$$

Donde:

Act. Het.: Actividad heterótrofa (mg DQO/g SSV·d)

Pte_t, Pte_e: Pendientes total y de la fase endógena, respectivamente (mg O₂/L·d)

SSV: Sólidos en suspensión volátiles (g/L)

V: Volumen útil del vial (L)

Actividad nitrificante

Para determinar la actividad nitrificante de la biomasa se empleó un protocolo análogo al descrito en el apartado anterior, pero en este caso se utilizó cloruro de amonio como sustrato, con una concentración inicial de 20 mg N-NH₄⁺/L. Para realizar los cálculos se tuvo en cuenta la estequiometría de la conversión de amonio a nitrato:

$$Act.Nitr. = \frac{(Pte_t - Pte_e) \cdot \frac{14 \text{ mg N}}{64 \text{ mg O}_2} \cdot V}{SSV} \quad [2.2]$$

Donde:

Act. Nitr.: Actividad nitrificante (g N/g SSV·d)

Pte_t, Pte_e: Pendientes total y de la fase endógena, respectivamente (mg O₂/L·d)

SSV: Sólidos en suspensión volátiles (g SSV/L)

V: Volumen útil del vial (L)

La composición del tampón de lavado que se emplea se establece en base a las necesidades de carbono inorgánico y nutrientes de las bacterias nitrificantes. Considerando que las condiciones óptimas de nitrificación tienen lugar a pH 8, la composición del tampón bicarbonato empleado se detalla en la Tabla 2.4.2.

Tabla 2.4.2. Composición del tampón bicarbonato.

| Compuesto | Concentración |
|---------------------------------|---------------|
| NaHCO ₃ | 3,000 |
| KH ₂ PO ₄ | 0,331 |
| K ₂ HPO ₄ | 0,397 |
| Trazas | 5,00 |

* Todas las concentraciones en g/L, excepto las trazas en mL /L

Tabla 2.4.3. Composición de la disolución de trazas nitrificantes.

| Compuesto | Concentración (g/L) |
|--|---------------------|
| CaCl ₂ | 5,54 |
| MnCl ₂ ·4H ₂ O | 5,06 |
| FeSO ₄ ·7H ₂ O | 5,00 |
| (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O | 1,10 |
| EDTA | 5,00 |
| CuSO ₄ ·4H ₂ O | 1,57 |
| CoCl ₂ ·6H ₂ O | 1,57 |
| ZnCl ₂ | 1,04 |

2.4.2. Caracterización microbiológica

Fluorescence in situ hybridization (FISH)

La técnica FISH permite la detección selectiva de microorganismos presentes en muestras que pueden contener muchos otros microorganismos diferentes. Para ello se usan cadenas de oligonucleótidos (ACGT) preparadas artificialmente y que son complementarias a zonas específicas de la cadena del 16S ARNr que permiten identificar a un microorganismo o grupo dependiendo de la especificidad de la cadena (Figura 2.4.2). A estas cadenas sintéticas se les denomina sondas de oligonucleótidos (preparadas sintéticamente por Thermo-Fischer-Scientific) y llevan adherido a su molécula un tinte fluorescente. Se utilizaron sondas para visualizar el dominio global de bacterias (EUB 3381), y más específicamente sondas para detectar poblaciones específicas de heterótrofas, oxidantes de amonio y oxidantes de nitrito.

Para que tenga lugar la hibridación, la pared celular del microorganismo debe ser permeable a la sonda. El procedimiento general seguido, resumido de (Figueroa, 2008), es el siguiente:

Fijación de las células

En caso de que la biomasa esté en forma de agregados estos tienen que deshacerse por ejemplo mediante la aplicación de ultrasonidos. Es importante que los flóculos estén disgregados pero que no se rompan las células.

- Concentrar la muestra por centrifugación.
- Lavar la muestra con PBS (1x), centrifugar y resuspender en PBS.
- Añadir tres volúmenes de fijador y mantener esta muestra en hielo de 1 a 3 horas.
- Lavar/resuspender en PBS y añadir 1,25 volúmenes de etanol al 98% (a -20°C).

Inmovilización

- Limpiar la superficie de los portaobjetos con agua destilada y secar.
- Añadir en cada pocillo de los portas para el microscopio 10 μL de la solución de gelatina previamente calentada a 70°C .
- Eliminar la gelatina y secar los portas en posición vertical y añadir 10 μL (2-15 μL) de suspensión de células previamente fijadas en cada pocillo.
- Secar en la estufa a 46°C durante 10 min y deshidratar pasándolas sucesivamente por 50, 80 y 98% de etanol (cada 3 min). Secar después a temperatura ambiente.

Hibridación

- Pipetear 10 μL del tampón de hibridación correspondiente con cada sonda sobre cada uno de los pocillos del porta en los que haya células.
- Pipetear 1 μL de solución stock preparada en cada pocillo (concentración final 30 $\text{ng}/\mu\text{L}$ para sondas marcadas con tintes CY3 y CY5, y 50 $\text{ng}/\mu\text{L}$ para las sondas marcadas con FLUOS) evitando rascar sobre la cubierta de gelatina.

Capítulo 2

- Colocar los portas inmediatamente dentro del tubo de hibridación teniendo cuidado de que siempre estén en posición horizontal e incubar durante 1,5 horas a 46°C.
- Eliminar el tampón de hibridación lavando con tampón de lavado, colocar el porta dentro del tubo Falcon con el tampón de lavado restante e incubar durante 10-20 min a 48°C, lavando después con agua Milli-Q y secándolos al aire.
- Añadir el amplificador de fluorescencia sobre los pocillos de los portas y cubrir con el cubreportas.

Microscopio óptico y lupa binocular

Se empleó un microscopio de epifluorescencia modelo Axioskop 2 plus (Zeiss). Se emplearon sondas FISH para identificar poblaciones heterótrofas, amonio-oxidantes y nitrito-oxidantes. Además se empleó el marcaje con DAPI para identificar todo el ADN presente.

El microscopio se puede conectar a una cámara digital Cool Snap (de la compañía Roper Scientific) con una resolución de 1392 x 1040, con la que se pueden tomar fotografías de la biomasa en suspensión.

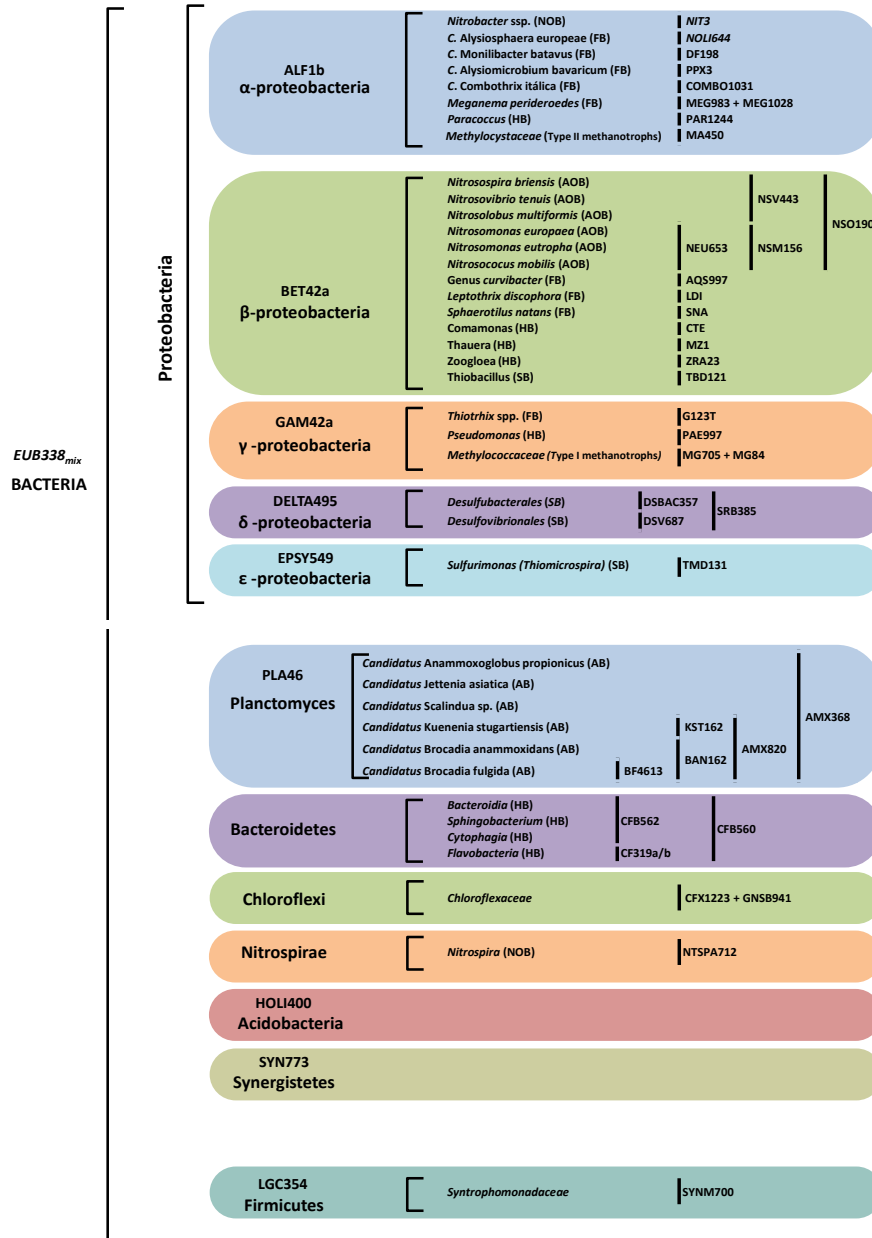


Figura 2.4.2. Esquema de bacterias y sondas de identificación.

2.5. Métodos analíticos

2.5.1. Parámetros físicos

Los parámetros físicos que se midieron en el efluente de los reactores fueron la conductividad, concentración de oxígeno disuelto (OD) y el pH.

Conductividad

La conductividad de las muestras se midió mediante un conductivímetro manual Crison modelo 524.

Oxígeno disuelto (OD)

El oxígeno disuelto se midió mediante un oxímetro WTW Oxi 340 provisto con una sonda Oxical. El calibrado del oxímetro se realizaba a presión atmosférica y a temperatura ambiente antes de realizar cada medición.

pH

La medida de pH se realiza mediante un electrodo pHmeter GLP 22 de la marca Crison. Para la calibración del equipo se utilizaban disoluciones tampón Crison de pH 4,00 y pH 7,00 a 20°C.

2.5.2. Parámetros químicos

Alcalinidad

La alcalinidad es un indicador de la capacidad que tiene un agua determinada de neutralizar ácidos y, por tanto, es muy útil en el control del pH (Speece, 1996). La alcalinidad es aportada por diferentes sustancias tampón, como sales y ácidos débiles. A pH próximos a los valores de neutralidad, los compuestos tampón más usuales son carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos, pudiéndose encontrar también fosfatos, silicatos, boratos y otras bases (APHA, 1999). De esta manera el pH depende fundamentalmente de la capacidad tampón o alcalinidad del sistema (Ahring et al., 1995).

La alcalinidad total (AT) determinada por valoración hasta pH 4,3, se puede considerar, de forma aproximada, como la suma de la alcalinidad debida al bicarbonato y a los ácidos grasos volátiles. La alcalinidad parcial (AP) determinada hasta pH 5,75, se corresponde con la alcalinidad del bicarbonato (Jenkins et al., 1983). Mientras que la alcalinidad intermedia (AI), calculada como la diferencia

entre las alcalinidades total (AT) y parcial (AP), representa de forma aproximada el aporte de alcalinidad debida a la concentración de AGV (Ripley L.E. et al., 1986).

La determinación de la alcalinidad consiste en una valoración con H_2SO_4 (con normalidad conocida) a pH 5,75 (AP) y luego a pH 4,3 (AT). La muestra a analizar se filtra o centrifuga previamente para eliminar los sólidos suspendidos. Los valores de la alcalinidad están expresados en términos de mg $CaCO_3/L$, y se determinan como se indica a continuación:

$$AP = \frac{A \cdot N \cdot 50000}{V} \quad [2.3]$$

$$AT = \frac{B \cdot N \cdot 50000}{V} \quad [2.4]$$

Donde:

V: volumen de muestra (generalmente 25 mL)

N: normalidad de H_2SO_4

A: volumen de H_2SO_4 (mL) necesarios para llegar al punto de valoración pH 5,75

B: volumen de H_2SO_4 (mL) necesarios para llegar al punto de valoración pH 4,3

Carbono Total (CT), Inorgánico (IC) y Orgánico Total (COT)

El Carbono Orgánico Total es una medida directa del contenido de materia orgánica total en el agua residual (APHA, 1999). La determinación del COT es más rápida que la de DQO, aunque requiere un equipamiento más caro y complejo.

En realidad, la DQO y el COT no tienen por qué tener el mismo valor para las mismas sustancias, ya que el COT es independiente del estado de oxidación de la materia orgánica, al contrario de lo que ocurre con la DQO y con la DBO, y no mide otros elementos presentes en la materia orgánica como el nitrógeno o el hidrógeno, que contribuyen a los valores de DQO y DBO (APHA, 1999).

Normalmente, se puede establecer una correlación entre los datos de COT y DQO, pero se trata de una correlación empírica para cada compuesto (APHA, 1999).

El Carbono Orgánico Total (COT) se midió con un analizador Shimadzu TOC-5000, que calcula el COT como la diferencia entre el Carbono Total (CT) e Inorgánico (IC) en la muestra. Se utilizó aire de alta pureza como gas portador a 150 mL/min. El equipo determina el carbono total a partir del CO_2 que se produce durante la

combustión catalítica de la muestra a 680°C, empleando como catalizador de oxidación platino inmovilizado sobre esferas de alúmina. El carbono inorgánico se obtiene a partir del CO₂ que se produce por reacción con H₃PO₄ al 25%. El CO₂ se mide ópticamente, después de haberle eliminado la humedad, en un Detector de Infra-Rojo No-Dispersivo (NDIR).

Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La DQO se define como la cantidad de oxígeno equivalente (mg/L o g/L) que se requiere para oxidar químicamente todos los compuestos oxidables presentes en una muestra dada, generalmente de agua residual. La determinación de la DQO representa un parámetro conveniente para la medida de la materia orgánica oxidable por procedimientos químicos.

El ensayo de la DQO dura solamente dos horas, lo cual es una considerable ventaja en comparación con la Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) que precisa normalmente cinco días. Se pueden obtener correlaciones empíricas entre la DQO y la DBO para cada tipo de agua. El cociente entre ambas es indicativo de la biodegradabilidad de los compuestos presentes en un agua residual particular.

Para la mayoría de los compuestos orgánicos, la DQO representa el 95-100% (APHA, 1999) de la Demanda Teórica de Oxígeno (DTO), que se calcula según una base estequiométrica.

El equipo necesario para realizar la determinación de DQO está compuesto por un bloque calefactor Velp científica, modelo ECO 16, un agitador magnético Hanna HI190M y una bureta, utilizándose los dos últimos en la etapa de valoración. Se emplea un método derivado del método 508 (A-B) del Standard Methods (APHA, 1999).

Para llevar a cabo el test se necesitan las siguientes disoluciones:

- Solución digestora para aguas con DQO entre 100 y 900 mg DQO/L: 10,216 g K₂Cr₂O₇ y 33 g HgSO₄ disueltos en 500 mL de agua, a los que se añaden 167 mL de H₂SO₄ comercial y esto se lleva a un volumen final de 1 L.
- Solución catalítica: 10,7 g Ag₂SO₄ en 1 L de H₂SO₄ concentrado.
- Solución de Ferroína: 1,485 g C₁₈H₈N₂·H₂O (fenontralina monohidrato) y 0,695 g FeSO₄·7H₂O disueltos en 100 mL de agua.

- Solución FAS 0,035 N, para aguas con DQO entre 100 y 900 mg DQO/L: 13,72 g $\text{Fe}(\text{NH})_4(\text{SO})_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ disueltos en agua destilada, a los que se añaden 20 mL de H_2SO_4 concentrado y esto se lleva a un volumen final de 1000 mL.
- Solución estándar de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (0,05 N): Se disuelven 1,2258 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, previamente secado a 105°C durante 2 horas, en 500 mL de agua destilada.

Se toman 2,5 mL de muestra, diluyéndose ésta en el caso de que la DQO supere el valor máximo de medida de 900 mg DQO/L, y se vierten en un tubo Pyrex de 10 mL. A continuación, se añaden 1,5 mL de la solución digestora que se ajuste al nivel de DQO de la muestra y finalmente 3,5 mL de disolución catalítica. La adición de esta última se debe hacer de modo que no se produzca la mezcla de la solución catalítica con la muestra hasta el momento de comenzar la digestión en el bloque calefactor.

Además, se prepara un tubo con 2,5 mL de agua destilada con las mismas cantidades de solución digestora y catalítica para tener un valor de referencia, blanco, que representa la DQO del agua.

Los tubos se sellan con Teflón y se cierran con tapa de Bakelita. Después, se mezcla el contenido del vial y se colocan en el bloque calefactor a 150°C durante dos horas.

Una vez que los viales están fríos, se realiza la valoración del dicromato residual con la disolución de FAS. Para ello se pasa el contenido de los tubos a un vaso de precipitados, se lava el tubo con agua destilada vaciando el contenido en el vaso y se añade una gota de ferroína. A continuación se procede a realizar la valoración hasta que se llega al punto de viraje azul-rojo.

Finalmente, se valora el FAS con el fin de determinar su concentración. Para ello se añaden 3,5 mL de solución catalítica sobre 5 mL de agua destilada. Se dejan enfriar y se añaden 5 mL de la solución estándar de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ y una gota de ferroína. La valoración se realiza igual que para las muestras.

La concentración de DQO se calcula aplicando la siguiente expresión:

$$DQO \text{ (mg/L)} = \frac{(B - A) \cdot N_{FAS} \cdot 8000}{2,5} \quad [2.5]$$

Donde:

B, A: volúmenes de FAS consumidos en la valoración del blanco y de la muestra analizada, respectivamente (mL)

N_{FAS} : normalidad de la solución de FAS

$$N_{FAS} = \frac{5 \cdot 0,05}{C} \quad [2.6]$$

Donde:

C: volumen consumido en la valoración de la solución de FAS (mL).

La determinación de la DQO total se realiza sobre la muestra bruta, mientras la determinación de la DQO soluble se realiza después de haber pasado la muestra por un filtro de 0,45 μm (Whatman GFC).

Nitrato (N-NO₃⁻)

El fundamento del método empleado consiste en la medida de la absorción de la radiación UV por el ión nitrato a 220 y 275 nm (Método 418-A del Standard Methods APHA, 1999). Para ello se cogen 5 mL de muestra, diluida hasta un máximo de 4 mg N-NO₃⁻/L, y se le añaden 0,1 mL de HCl 1 N. A continuación se realiza una medida de la absorbancia, en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1603, a 220 nm correspondiente a los nitratos y a 275 nm para obtener la interferencia debida a la materia orgánica disuelta. La absorbancia debida al nitrato se obtiene al restar la absorbancia a 275 nm multiplicada por 2 a la absorbancia a 220 nm ($A_{220} - 2 \cdot A_{275}$). La recta de calibrado se realiza con patrones de KNO₃ con concentraciones comprendidas entre 0 y 4 mg N-NO₃⁻/L.

Nitrito (N-NO₂⁻)

El método seguido es el 419 del Standard Methods (APHA, 1999). Se basa en una técnica colorimétrica que consiste en la reacción de diazotización entre la sulfanilamida y el ión nitrito, seguida de una reacción con N-(1-naftil)etilendiamina, para desarrollar color rojo, cuya intensidad es directamente proporcional a la cantidad de nitrógeno presente en la muestra en forma de nitrito.

Las disoluciones que se necesitan son:

- Sulfanilamida: se disuelven 10 g de sulfanilamida cristalizada en 100 mL de HCl concentrado y 600 mL de agua destilada. Enfriar la disolución y llevarla a 1 L con agua destilada.
- NED (N-(1-naftil)etilendiamina dihidrocloruro): se disuelven 0,5 g de NED en 500 mL de agua destilada.

A 5 mL de muestra, convenientemente diluida, se le añaden 0,1 mL de cada una de las disoluciones y se esperan 20 min para que se establezca el color. A continuación se

mide la absorbancia a 543 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1603. Para la cuantificación se realiza un calibrado con muestras patrón de NaNO₂ con concentraciones comprendidas en el intervalo 0-0,24 mg N-NO₂⁻/L.

Nitrógeno amoniacal (N-NH₄⁺)

La determinación del amonio presente en la muestra que se quiere analizar fue realizada a través de la aplicación del método de Bower/Holm-Hansen. A 5 mL de muestra diluida (de tal forma que la concentración de N-NH₄⁺ se encuentre en el rango 0-0,9 mg/L) se le añaden 600 µL de reactivo A y se mezclan con la ayuda de un vórtex. A continuación se incorpora 1 mL de reactivo D (combinación de los reactivos B y C) y se agita de nuevo. La mezcla obtenida se mantiene en la oscuridad durante al menos 2 horas (pero menos de 3 h) y posteriormente se mide su absorbancia a 640 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1603.

La composición de los reactivos empleados (A, B y C) se detalla en la Tabla 2.5.1.

Tabla 2.5.1. Composición de los reactivos empleados en la determinación del amonio.

| Composición | Conc. (g/L) | Reactivos | |
|---------------------|---------------------------|------------|---|
| Sodio nitroprusiato | 0,28 | Reactivo A | |
| Sodio salicilato | 440,0 | | |
| Sodio citrato | 120,0 | Reactivo B | Reactivo D (7 vol of B + 1 vol of C) |
| Sodio hidróxido | 18,5 | | |
| Sodio hipoclorito | D ^{on} comercial | Reactivo C | |

Para cuantificar la concentración de N-NH₄⁺ se realiza un calibrado con disoluciones patrón de NH₄Cl en el rango de 0 a 1 mg N-NH₄⁺/L.

Sólidos en Suspensión Totales (SST) y Volátiles (SSV)

Los sólidos contenidos en el agua pueden encontrarse en disolución o en suspensión, y estos pueden a su vez clasificarse en orgánicos e inorgánicos. Los sólidos en suspensión totales (SST) se determinaron mediante la filtración de la muestra eliminando el agua que permanece en la muestra. Los sólidos en suspensión volátiles (SSV) se definen como aquellos que se volatilizan a una temperatura inferior a 505°C y están asociados principalmente a los sólidos de naturaleza orgánica. Las diferencias pueden ser debidas a algunas sales minerales que se volatilizan o que se descomponen a esas temperaturas (APHA, 1999).

Los sólidos suspendidos volátiles se determinaron mediante la ignición de la muestra seca a alta temperatura (550°C) en una mufla (Selecta). Para estos análisis se utilizaron los métodos 209 A, 209 C y 209 D, descritos en el Standard Methods (APHA, 1999).

Los SST se determinaron por filtración de un volumen conocido de muestra con filtros de fibra de vidrio Whatman del modelo GF/C de 4,7 cm de diámetro, que posteriormente fueron secados a 103-105°C. La diferencia de peso de los filtros antes y después del secado permitió calcular el contenido en SST. Los SSV se determinaron por diferencia de peso antes y después de la calcinación a 550°C.

2.5.3. Determinación de microcontaminantes en fase líquida

Determinación de compuestos por GC-MS

La Cromatografía de Gases acoplada a la Espectrometría de Masas (GC-MS) es la técnica analítica utilizada para determinar la concentración de antiinflamatorios (ibuprofeno, naproxeno, diclofenac), fragancias (galaxolide, tonalide, celestolide) y disruptores endocrinos (bisfenol A, triclosán, octilfenol, nonilfenol) presentes en las muestras líquidas.

Antes de analizar las muestras mediante GC-MS debe aplicarse el procedimiento que se detalla en la Figura 2.5.2.

El procedimiento a seguir puede dividirse en tres etapas:

- Tratamiento de la muestra. En primer lugar se hace pasar la muestra a través de un filtro de fibra de vidrio de 0,45 µm para eliminar la materia sólida en suspensión. A continuación se toman 250 mL de la misma y se ajusta el pH a 2,5 con ácido clorhídrico 1 N. Posteriormente se añaden sobre la misma 50 µL de subrogado (bisfenol F y dihidrocarbamazepina).
- Extracción en fase sólida (SPE). La SPE es una técnica de preconcentración que consiste en hacer pasar la muestra líquida a través de un material sólido adsorbente donde los analitos quedan retenidos para ser posteriormente desorbidos empleando un disolvente afín a los mismos. El equipo que se utiliza para llevar a cabo la extracción se muestra en la Figura 2.5.1. Antes de hacer pasar la muestra a través del cartucho (Oasis HLB 60 mg, 3 cm³) este debe ser acondicionado con 3 mL de acetato de etilo, 3 mL de metanol y 3 mL de agua a pH 2. Una vez que se ha hecho pasar toda la muestra, los

cartuchos deben secarse haciendo pasar a través de ellos una corriente de nitrógeno durante 45 min.



Figura 2.5.1. Montaje experimental requerido para realizar la SPE.

- **Elución.** Una vez que el cartucho está seco se eluye con 3 mL de acetato de etilo para desorber los compuestos previamente adsorbidos al mismo. El extracto obtenido se divide en dos alícuotas. A una de ellas se le añade el PCB 30 (disolución de estándar interno en acetato de etilo) y se analiza mediante GC-MS. La otra alícuota se derivatiza (sililación) mediante adición de 200 μ L MTBSTFA y se calienta a 60°C durante 60 min. A continuación se adiciona el PCB 30 (disolución de estándar interno en acetato de etilo) y se procede al análisis mediante GC-MS.

El equipo utilizado para llevar a cabo la determinación consiste en un cromatógrafo de gases Varian CP 3900 (Walnut Creek, CA, USA) equipado con puerto de inyección split-splitless e inyector automático (CP-8400) y conectado a un espectrómetro de masas con trampa de iones (Varian Saturn 2100) (GC-MS). La columna capilar utilizada para llevar a cabo la separación cromatográfica de los compuestos es del tipo BP-5 (30 m x 0,25 mm d.i., df: 0,25 μ m) (Varian). El gas portador utilizado es helio. Las condiciones de GC-MS se detallan en la Tabla 2.5.2.

La cuantificación de los distintos compuestos realiza mediante calibración con estándar interno. Los límites de cuantificación para la muestra dependen de la

Capítulo 2

matriz a analizar, ya que esto determina el grado de concentración que se puede alcanzar. Para una relación señal/ruido (signal/noise, S/N) de 10 son aproximadamente (ppb): IBP (2), NPX (2,5), DCF (10), GLX (5), TON (5), CEL (5), BPA (2,5), TCS (5), OP (2), NP (2).

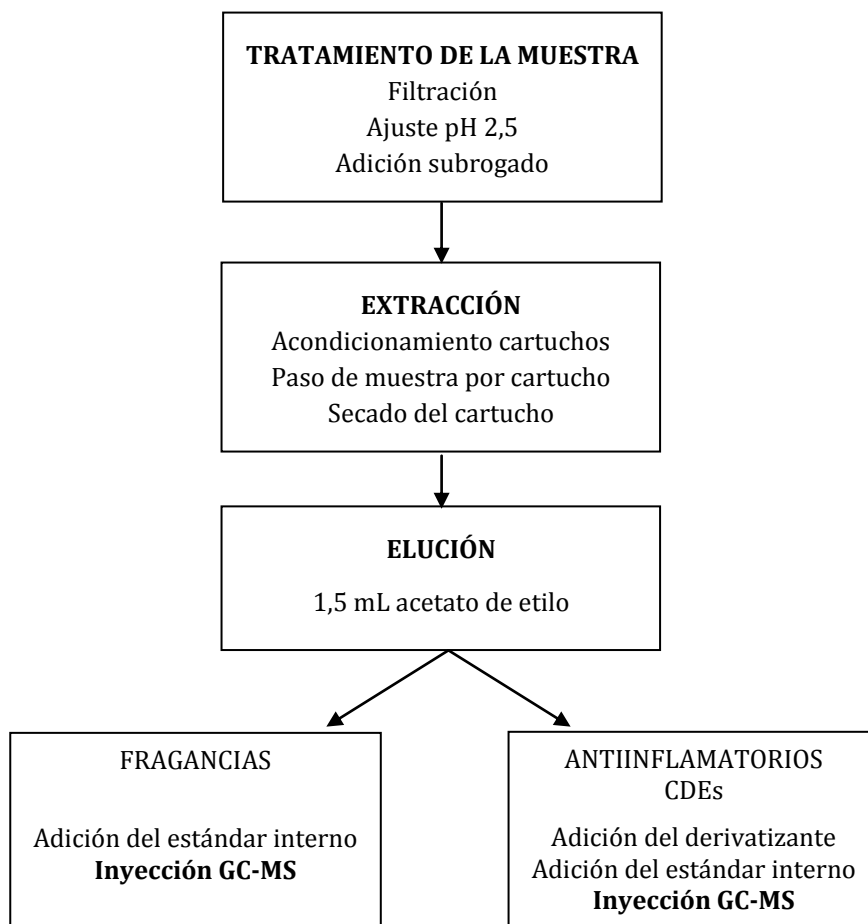


Figura 2.5.2. Procedimiento de análisis de microcontaminantes mediante GC-MS.

Tabla 2.5.2. Condiciones de operación de GC-MS.

| Parámetros Cromatográficos | Compuestos |
|---|--|
| Inyector Split-Splitless | |
| <i>Tiempo de Splitless</i> | 2 min |
| <i>Temperatura del inyector</i> | 280 °C |
| <i>Flujo en columna (He)</i> | 1 mL/min |
| <i>Volumen inyección</i> | 1 µL |
| <i>Disolvente</i> | Acetato de etilo |
| Programa de temperaturas | |
| <i>Temperatura inicial</i> | 70 °C |
| <i>Tiempo inicial</i> | 2 min |
| <i>Rampa 1</i> | 25 °C /min |
| <i>Temperatura 1</i> | 150 °C |
| <i>Tiempo 1</i> | -- |
| <i>Rampa 2</i> | 3 °C /min |
| <i>Temperatura 2</i> | 180 °C |
| <i>Tiempo 2</i> | -- |
| <i>Rampa 3</i> | 8 °C /min |
| <i>Temperatura 3</i> | 280 °C |
| <i>Tiempo 3</i> | 15 min |
| Espectrómetro de masas | |
| <i>Modo ionización</i> | Impacto electrónico |
| <i>Corriente emisión filamento</i> | 10 µA |
| <i>Temperatura línea de transferencia</i> | 280 °C |
| <i>Ionización</i> | 100 Ev |
| <i>Velocidad scan</i> | 1 s/scan |
| <i>Rango de masas</i> | 50-550 m/z |
| <i>m/z de cuantificación</i> | Galaxolide y Tonalide (243) Celestolide (229), IBP (263), NPX (287), DCF (352+354+356), BPA (442), TCS(345+347+349), OP (263), NP (277) |

Determinación de compuestos por LC-MS

La Cromatografía de Líquidos acoplada a la Espectrometría de Masas (GC-MS) es la técnica analítica utilizada para determinar la concentración de antibióticos (sulfametoxazol, eritromicina, roxitromicina, trimetoprim), fluoxetina, hormonas (estrone, 17β -estradiol 17α -etinilestradiol) y neurofármacos (carbamazepina, diazepam) en muestras líquidas.

El procedimiento que se debe seguir antes de analizar la muestra por LC-MS es análogo al descrito en el apartado anterior pero con algunas diferencias (Figura 2.5.3).

En este caso en la etapa de tratamiento de la muestra solo se requiere su filtrado a través de un filtro de fibra de vidrio de $0,45\ \mu\text{m}$. Durante la etapa de extracción los cartuchos, a través de los cuales se hace pasar la muestra, deben ser previamente acondicionados con 3 mL de metil-terbutil-éter, 3 mL de metanol y 3 mL de agua destilada. El tiempo de secado de los cartuchos mediante una corriente de nitrógeno es de 60 min. La elución se lleva a cabo con 1,5 mL de una mezcla de metil-terbutileter:metanol (10:90, v/v) y 1,5 mL de metanol. El extracto obtenido se analiza mediante LC-MS en el edificio CACTUS de la USC.

El equipo utilizado es un cromatógrafo de líquidos Agilent G1312A con bomba binaria y un inyector automático HTC-PAL (CTC Analytics) conectado a un espectrómetro de masas API 4000 triple cuadrupolo (Applied Biosystems). Los analitos se separan en una columna de $250 \times 4,6\ \text{mm}$ Synergi Max-RP C12 con un tamaño de partícula de $4\ \mu\text{m}$ (Phenomenex) y dotado con una precolumna de la misma marca comercial. La fase móvil consiste en un gradiente de ácido fórmico 0,1% en agua y metanol. Las condiciones de LC-MS se detallan en la Tabla 2.5.3.

La cuantificación de los distintos compuestos se lleva a cabo mediante calibración con estándar interno. Para una $S/N=10$ los límites de cuantificación son aproximadamente (ppt): SMX (500), ERY (100), TMP (500), ROX (100), FLX (100), CBZ (500), DZP (500). En el caso de las hormonas los límites de cuantificación son (ppb): E1 (1), E2 (1), EE2 (1).

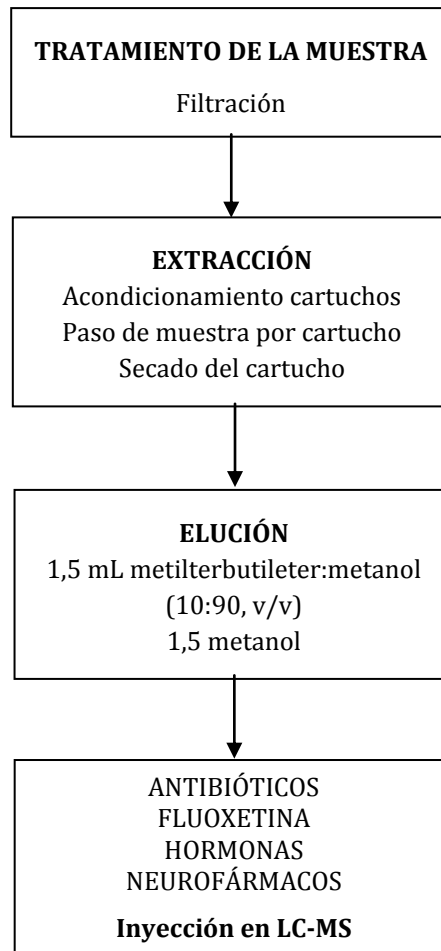


Figura 2.5.3. Procedimiento de análisis de microcontaminantes mediante LC-MS.

Tabla 2.5.3. Condiciones de operación de LC-MS.

| Parámetros Cromatográficos | Antibióticos | Hormonas | |
|---|---|---|-----------------|
| <i>Fase móvil</i> | A (H ₂ O 0,1% FA) / B (MeOH) | A (H ₂ O 0,1% FA) / B (MeOH) | |
| <i>Tiempo de equilibrado</i> | 17 min | 7 min | |
| <i>Pulso de Presión</i> | 147 bares | 156 bares | |
| <i>Temperatura del inyector</i> | 450 °C | 450 °C | |
| <i>Volumen inyección</i> | 5 µL | 10 µL | |
| Gradiente de concentraciones en la columna cromatográfica (hormonas) | | | |
| <i>Tiempo (min)</i> | <i>Caudal (µL/min)</i> | <i>A (H₂O 0.1% FA)</i> | <i>B (MeOH)</i> |
| 0.00 | 700 | 30 | 70 |
| 2 | 700 | 12 | 88 |
| 15 | 700 | 6 | 94 |
| Gradiente de concentraciones en la columna cromatográfica (antibióticos) | | | |
| <i>Tiempo (min)</i> | <i>Caudal (µL/min)</i> | <i>A (H₂O 0.1% FA)</i> | <i>B (MeOH)</i> |
| 0.00 | 700 | 85.0 | 15.0 |
| 3.50 | 700 | 85.0 | 15.0 |
| 10.00 | 700 | 20.0 | 80.0 |
| 13.00 | 700 | 20.0 | 80.0 |
| 13.10 | 700 | 10.0 | 90.0 |
| 21.00 | 700 | 10.0 | 90.0 |
| Espectrometría de masas | | | |
| <i>Modo ionización</i> | ESI+ | APCI+ | |
| <i>m/z de cuantificación</i> | SMX (254.0/92.1) | | |
| | SMX2 (254.0/108.1) | | |
| | TMP (291.2/123.0) | | |
| | TMP2 (291.2/261.1) | Estradiol (255/159.1) | |
| | ROX (837.6/158.1) | Estradiol2 (255/133.1) | |
| | ROX2 (837.6/116.1) | Estrona (271.1/133.2) | |
| | ERY (734.5/158.1) | Estrona2 (271.1/159.2) | |
| | ERY2 (734.5/83.1) | Estrona3 (271/253.1) | |
| | FLUO (310.2/44.1) | Ethynylestradiol (279.2/133.1) | |
| | FLUO2 (310.2/148.1) | Ethynylestradiol2 (279.2/159.2) | |
| | CBZ (237.2/194.1) | | |
| | CBZ2 (237.2/192.1) | | |
| | DZP (285.1/193.1) | | |
| DZP2 (285.1/154.0) | | | |

3

Resultados y discusión

3.1. Ensayos batch

Los resultados obtenidos durante los ensayos realizados en batch para determinar la capacidad de adsorción de la arena y del carbón activo para amonio, nitrato y materia orgánica soluble se muestran en las Figuras 3.1.1, 3.1.2 y 3.1.3.

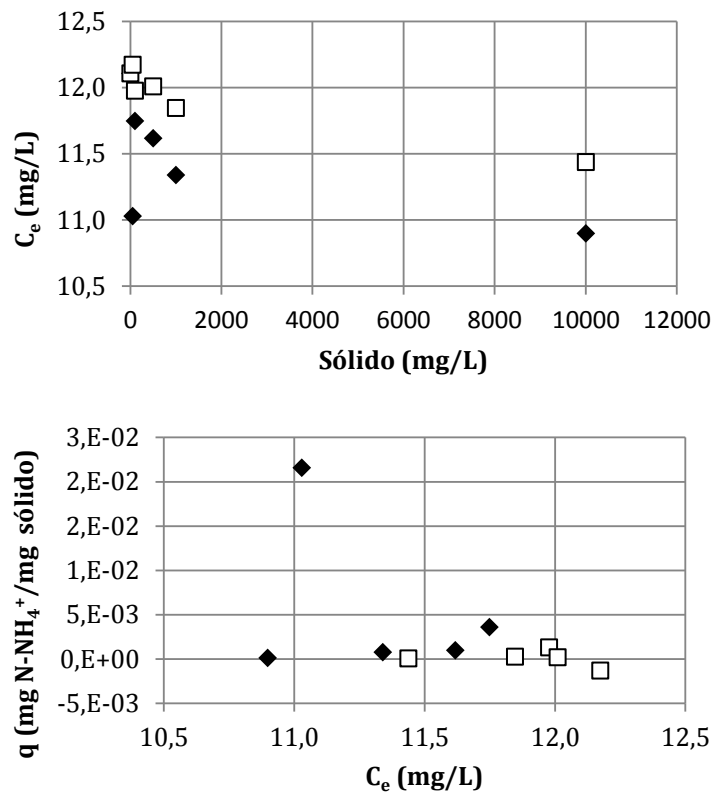


Figura 3.1.1. Concentraciones de amonio medidas en la fase líquida en equilibrio con el sólido (A) y capacidad de adsorción de los sólidos para amonio (B) referentes a arena (□) y carbón activo (◆)

En cada una de la representaciones en la Figura (A) se detallan las concentraciones del contaminante medidas en la fase líquida 48 horas después de haber iniciado el ensayo en función de la dosis de sólido empleado y en la (B) se representa la capacidad de adsorción del sólido (q) (mg de compuesto adsorbido/mg de sólido empleado) con respecto a la concentración del compuesto medida en la fase líquida en equilibrio con el sólido.

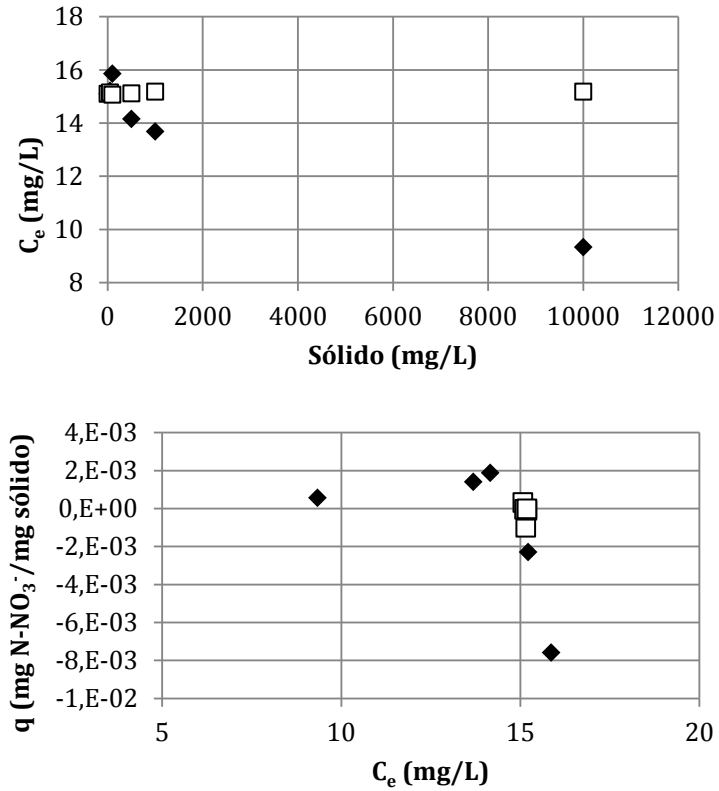


Figura 3.1.2. Concentraciones de nitrato medidas en la fase líquida en equilibrio con el sólido (A) y capacidad de adsorción de los sólidos para nitrato (B) referentes a arena (□) y carbón activo (◆)

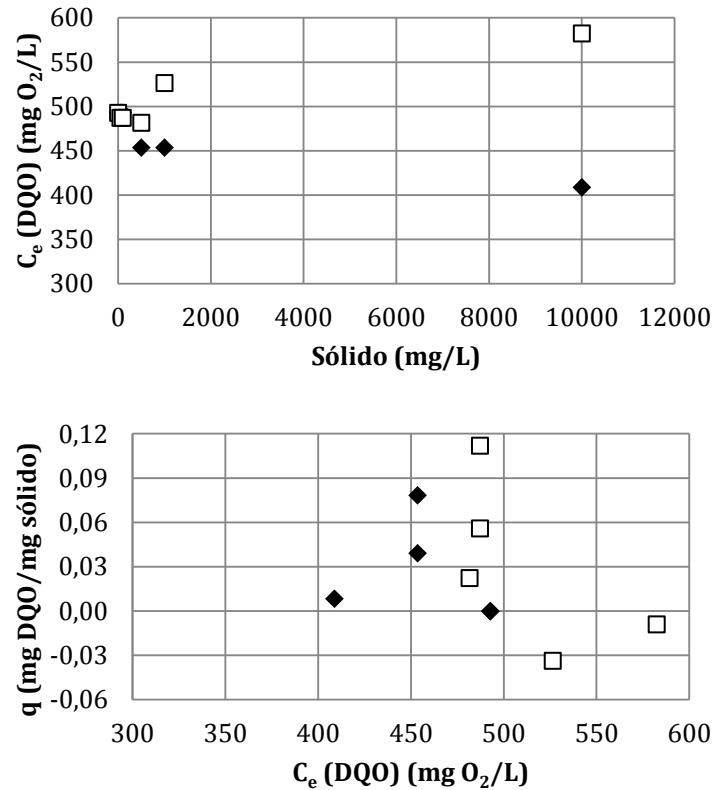


Figura 3.1.3. Concentraciones de equilibrio de DQO en fase líquida frente a la concentración de adsorbente utilizado (A) y capacidad de adsorción del sólido para la materia orgánica soluble (B) referentes a arena (□) y carbón activo (◆)

En base a los resultados obtenidos puede afirmarse que la arena sólo tiene capacidad de adsorción para el amonio (Figura 3.1.1) mientras que el carbón activo granular empleado es capaz de adsorber amonio (Figura 3.1.1), nitrato (Figura 3.1.2) y materia orgánica soluble (Figura 3.1.3). En todos estos casos se comprobó que al aumentar la concentración del adsorbente, disminuye la concentración de compuesto en la fase líquida.

La ecuación de Freundlich (ec. 1.4) relaciona la capacidad de adsorción del material adsorbente con la concentración de equilibrio del contaminante en la fase líquida. Por lo tanto, si se linealiza la ecuación y se aplica a los resultados obtenidos durante los ensayos batch es posible obtener las constantes de adsorción del carbón activo y la arena para los tres contaminantes estudiados (Tabla 3.1.1).

Tabla 3.1.1. Constantes de adsorción (K_f) e intensidades de adsorción (n) obtenidas de amonio, nitrato y materia orgánica soluble en arena y carbón activo granular.

| Sólido | Compuesto | K_f | n | R^2 |
|--------|--------------|----------|-------|-------|
| Arena | Amonio | 8,1E-46 | 0,024 | 0,550 |
| | Nitrato | - | - | - |
| | m.o. soluble | 2,0E-295 | 0,009 | 0,816 |
| GAC | Amonio | 2,8E-15 | 0,089 | 0,035 |
| | Nitrato | 1,6E-6 | 0,378 | 0,974 |
| | m.o. soluble | 3,4E-50 | 0,055 | 0,908 |

* K_f en $(\text{mg}/\text{mg})(\text{L}/\text{mg})^{1/n}$

Las constantes de adsorción obtenidas indican que aunque la arena y el carbón activo tienen capacidad para adsorber algunos de los contaminantes estudiados (amonio en el caso de la arena y; amonio, nitrato y materia orgánica soluble en el caso del carbón activo), la fracción del compuesto eliminada por adsorción es relativamente baja dado que las constantes de adsorción obtenidas presentan valores próximos a cero.

En cuanto a carbón activo se comprobó que, a pesar de haber empleado concentraciones de sólido de 10 g/L, las eficacias de eliminación respecto a las obtenidas cuando se utilizó 1 g sólido/L sólo se vieron incrementadas en un 4% en el caso del amonio y en un 9% en el caso de la materia orgánica soluble. Este hecho podría explicarse asumiendo que el tiempo empleado en la realización de los ensayos batch (48 horas) no fue suficiente para alcanzar el equilibrio.

Para comprobar la hipótesis anterior se realizaron ensayos en batch similares a los anteriores, pero con una duración superior: ocho días. Las concentraciones de los contaminantes empleados y las condiciones de operación (temperatura, agitación) fueron las mismas a las ya descritas en el apartado 2.3 de "Materiales y métodos". La concentración de sólido empleado en este caso fue de 10 g/L para asegurar que la cantidad de material adsorbente no fuese un factor limitante.

En las Figuras 3.1.4, 3.1.5 y 3.1.6 se representan, respectivamente, las concentraciones de amonio, nitrato y materia orgánica soluble medidas en la fase líquida 48, 96 y 192 horas después de haber iniciado los ensayos.

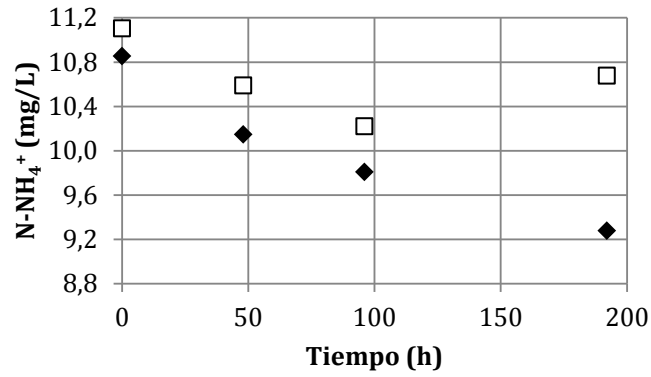


Figura 3.1.4. Adsorción de amonio sobre arena (□) y carbón activo (◆)

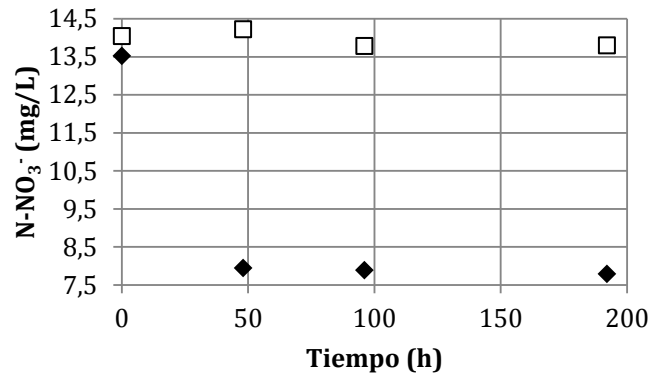


Figura 3.1.5. Adsorción de nitrato sobre arena (□) y carbón activo (◆)

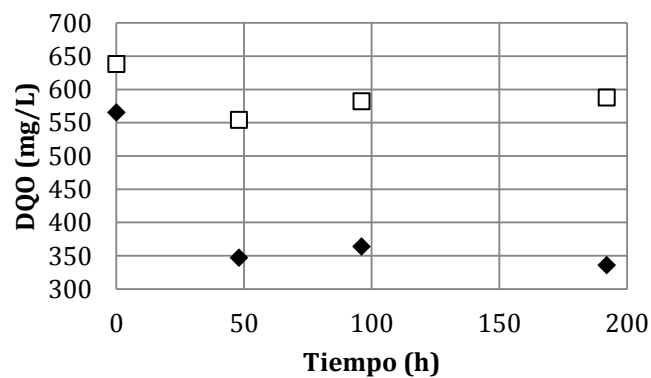


Figura 3.1.6. Adsorción de materia orgánica soluble sobre arena (□) y GAC (◆)

En base a los datos mostrados en las Figuras 3.1.5 y 3.1.6 puede afirmarse que los resultados obtenidos durante los primeros ensayos batch realizados para estudiar la adsorción del nitrato y la materia orgánica soluble sobre el carbón activo y la arena son válidos ya que a partir de las 48 horas desde el inicio de los ensayos no se observan cambios significativos en las concentraciones en fase líquida de los contaminantes.

En el caso particular del amonio (Figura 3.1.4), los ensayos realizados a 48 horas no son válidos para estudiar la adsorción de este compuesto sobre la arena y el carbón activo ya que, incluso tras 192 horas desde el inicio de los ensayos, la concentración del compuesto medida en la fase líquida sigue disminuyendo en el ensayo. En el caso de la arena se observa un descenso en la concentración de amonio medida en la fase líquida hasta las 100 horas mientras que en el último ensayo había incrementado. Estas variaciones pueden ser atribuidas al efecto de la adsorción-desorción.

En la revisión bibliográfica realizada se encontraron referencias que confirman que el carbón activo es efectivo en la eliminación de nitrato y amonio por adsorción (Vassileva et al., 2008; Demiral et al., 2010) mientras que la arena sólo tiene capacidad para adsorber el nitrato (Azhar et al., 2012). En esos mismos trabajos se demostró que el tratamiento previo del sólido con ácido mejora la capacidad de adsorción de estos materiales.

3.2. Caracterización de la biomasa

3.2.1. Actividades

Se realizaron ensayos de respirometría para determinar las actividades heterótrofa y nitrificante de la biomasa empleada como inóculo en los biofiltros de arena y carbón activo procedente del reactor biológico de la EDAR de Calo-Milladoiro. En la Tabla 3.2.1 se detallan los resultados obtenidos para los ensayos realizados por duplicado en cada caso.

Tabla 3.2.1. Actividades heterótrofa y nitrificante de la biomasa usada como inóculo.

| | |
|---|-----------|
| Actividad heterótrofa (mg O ₂ /g SSV·d) | 0,15±0,04 |
| Actividad nitrificante (mg N-NH ₄ ⁺ /g SSV·d) | 0,03±0,01 |

La variabilidad observada en el valor de la actividad nitrificante puede ser atribuida esencialmente a que el método empleado para su determinación pierde precisión para valores tan bajos ya que prácticamente no es posible diferenciar la fase de respiración total de la fase de respiración endógena.

Las actividades heterótrofa y nitrificante estimadas se encuentran muy por debajo de los valores típicos correspondientes a reactores de lodos activos empleados en el tratamiento de las aguas residuales (0,5-1 g O₂/g SSV·d y 0,04-0,2 g N-NH₄⁺/g SSV·d) (Alvariño, 2011). Este hecho puede ser atribuido a que las velocidades de carga orgánica y nitrogenada en el reactor biológico de la depuradora se encontraban muy por debajo de los valores habituales debido al periodo de lluvias (10/04/2013).

No se pudieron determinar las actividades heterótrofa y nitrificante de la biomasa desarrollada en los biofiltros de arena y carbón activo ya que los reactores estuvieron completamente sellados durante el periodo de operación para evitar fugas lo que impidió poder tomar una muestra del interior de los mismos.

3.2.2. FISH

Se aplicó la técnica FISH para determinar la presencia de poblaciones heterótrofas, oxidantes de amonio (AOB) y oxidantes de nitrito (NOB) en el inóculo empleado en los biofiltros de arena y carbón activo. Se emplearon sondas para identificar poblaciones heterótrofas de *Gammaproteobacteria*, *Zoogloea* y *Thauera*, poblaciones oxidantes de amonio *Betaproteobacteria* amonio-oxidante y poblaciones nitrito-oxidantes de *Nitrospirae* y *Nitrobacter spp.*

En la Figura 3.2.1 se muestran las poblaciones identificadas en el inóculo en rojo (A,D,G), las bacterias en verde (B,E,H) y todo el ADN detectado en la muestra examinada en azul (C,F,I). La aplicación de FISH confirmó la presencia en el inóculo de las poblaciones heterótrofas *Gammaproteobacteria* (Figura 3.2.1.A) y *Thauera spp* (Figura 3.2.1.G), y las nitrito-oxidantes *Nitrospirae* (Figura 3.2.1.D).

También se aplicó la técnica FISH a los restos de biomasa presentes en los efluentes de los dos biofiltros al final de la primera etapa de operación (día 42). En el caso del biofiltro de arena se identificó la presencia de las mismas poblaciones presentes en el inóculo (*Gammaproteobacteria*, *Thauera spp* y *Nitrospirae*). Sin embargo, en el efluente del biofiltro de carbón activo sólo fue posible identificar la presencia de *Gammaproteobacteria* ya que en el resto de los casos las partículas finas de GAC impedían la visualización de las poblaciones bacterianas.

En numerosas fuentes bibliográficas se ha confirmado que los biofiltros de carbón activo granular son muy adecuados para el desarrollo de bacterias oxidantes de amonio y oxidantes de nitrito, ya que debido a la estructura que presenta el GAC, se favorece el desarrollo de las bacterias de crecimiento lento (Yapsakli et al., 2010).

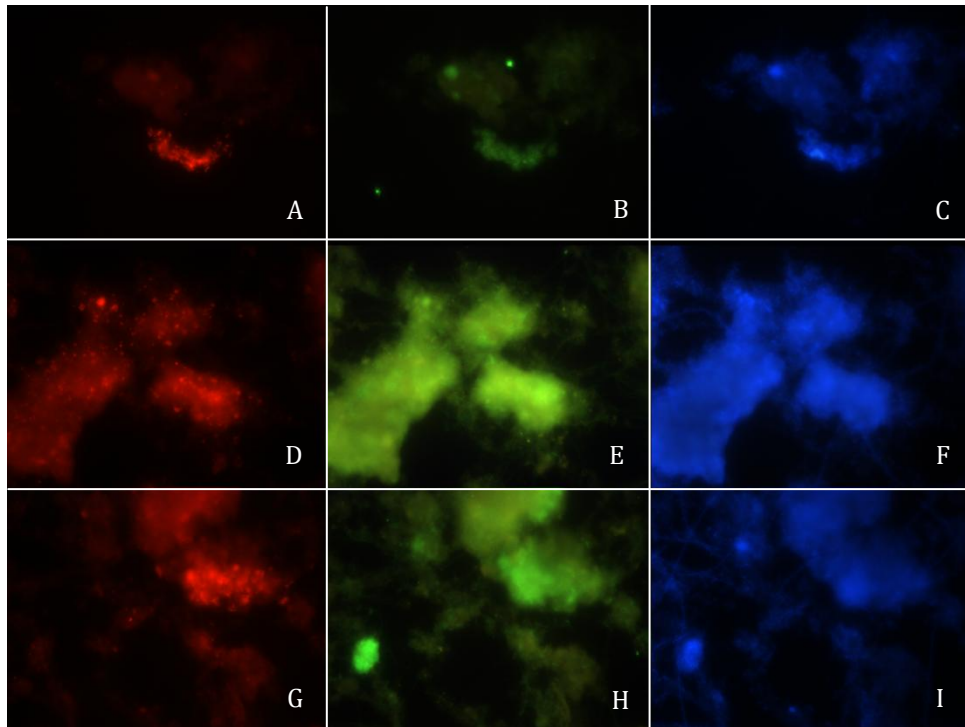


Figura 3.2.1. Identificación de las poblaciones *Gammaproteobacteria* (A), *Nitrospirae* (D) y *Thauera spp.* (G) en el inóculo.

3.3. Operación de los reactores

3.3.1. Operación del filtro de arena

El periodo de operación del filtro de arena se puede dividir en tres etapas: etapa I (del día 1 al 20 de operación), etapa II (del 21 al 35 de operación) y etapa III (del 36 al 63 de operación). Durante las dos primeras etapas el TRH empleado fue de 1,4 d y en la última de 0,7 d. A partir del día 21 de operación, se introdujeron 100 mg/L de azida sódica (NaN_3) y 10 mg/L de alitiourea (ATU) en la alimentación de los lechos no inoculados para evitar el desarrollo de la biomasa y estudiar la eficacia de este sistema de tratamiento para eliminar, exclusivamente por adsorción, los compuestos contaminantes presentes en el influente.

La evolución de la conductividad y pH en el efluente del filtro de arena durante todo el periodo de operación se detalla en la Figura 3.3.1. Analizando los datos representados puede comprobarse que la adición de azida y ATU supone un incremento en el valor de la conductividad, llegando a estabilizarse en torno a los 1400 $\mu\text{S}/\text{cm}$ durante el resto de la operación y sin sufrir ningún cambio significativo una vez que se modificó el TRH.

Durante los primeros días de operación del filtro de arena se produce un incremento progresivo en el valor del pH del efluente hasta la obtención de un máximo (8,2) el día 8 de operación. En los días posteriores se produce un descenso gradual en el valor de este parámetro estableciéndose finalmente en torno a 7,4, valor ligeramente superior al de la alimentación (7,0). La presencia de la arena puede ser la causa responsable de este fenómeno ya que pudo comprobarse que la arena en contacto con agua tiene capacidad para incrementar el pH perdiendo eficacia a medida que ésta se va lavando (resultados no mostrados).

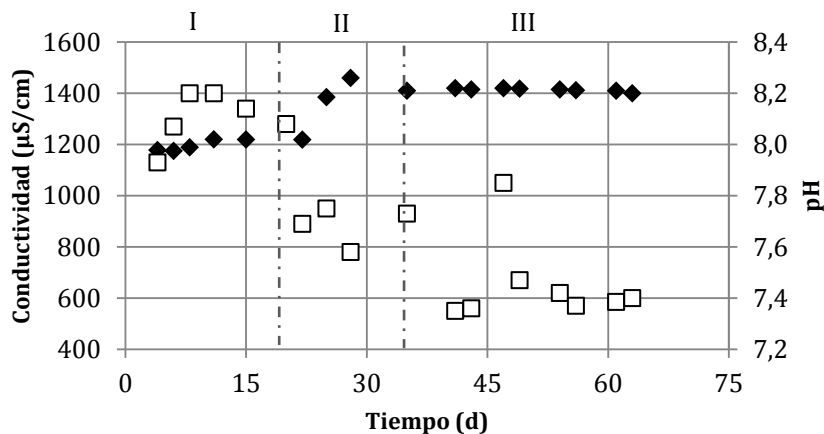


Figura 3.3.1. Evolución de la conductividad (♦) y el pH (□) en el efluente del filtro de arena.

En la Figura 3.3.2 se muestran las concentraciones de los sólidos en suspensión volátiles y totales medidos en el efluente del filtro de arena durante todo el periodo de operación. La concentración de sólidos en suspensión se mantiene en todos los casos por debajo de 0,05 g/L exceptuando el valor obtenido en el muestreo realizado el día 35 de operación en el cual se obtuvo una concentración de sólidos en suspensión totales de 0,33 g/L. En este caso particular se observó además que la fracción volátil de los sólidos en suspensión presentes en el efluente sólo

representaba el 14% del total, por lo que este valor tan alto pudo deberse al arrastre en el efluente de partículas finas procedentes del desprendimiento de la arena.

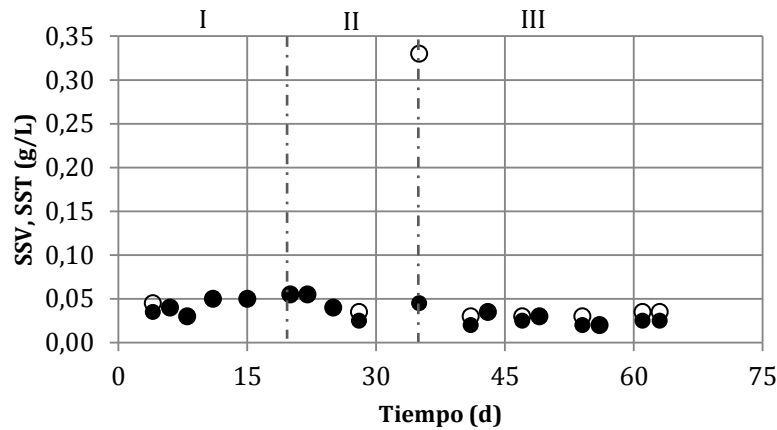


Figura 3.3.2. Evolución de SSV (●) y SST (○) en el efluente del filtro de arena.

En la Figura 3.3.3 se detallan los valores correspondientes a la DQO (A) y las concentraciones de carbono orgánico total (COT) (B) medidos en el influente y en el efluente del filtro de arena. Como puede observarse en la gráfica, la DQO en el influente se mantiene en torno a los 500 mg/L durante todo el periodo de operación. Los valores detectados los días 32 y 34, relativamente más bajos, pueden ser atribuidos a la degradación de los AGVs empleados en la alimentación.

Durante la primera etapa de operación del filtro de arena el valor de la DQO en el efluente disminuyó progresivamente con el paso del tiempo, sin embargo, tras la adición de azida sódica y ATU el día 21 de operación (etapa II), la eliminación de la materia orgánica empezó a reducirse de forma también gradual a medida que iban transcurriendo los días. En la tercera etapa de operación, cuando en el filtro de arena solo existía adsorción, la eliminación media de la materia orgánica fue inferior al 5%. La incorporación de los inhibidores a la alimentación sirvió para demostrar que la arena no tiene capacidad para adsorber la materia orgánica soluble; por lo tanto, durante los primeros días de operación del filtro de arena la eliminación de la materia orgánica tuvo lugar mayoritariamente por biodegradación debido al crecimiento de poblaciones bacterianas sobre la arena utilizada en el lecho.

La concentración de carbono orgánico total (COT) en el efluente sigue la misma evolución que la DQO.

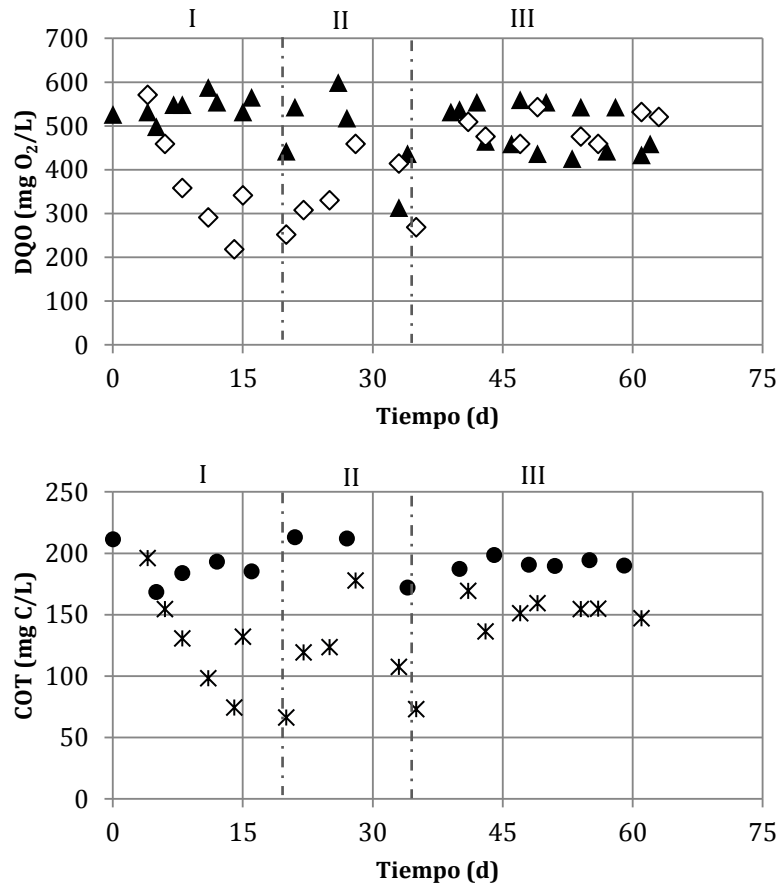


Figura 3.3.3. Concentraciones de DQO en el influente (▲) y en el efluente (◇) (A) y COT en el influente (●) y en el efluente (✱) (B) del filtro de arena.

La concentración de $N-NH_4^+$ en el influente del filtro de arena se mantiene en torno a 10 mg/L durante todo el período de operación (Figura 3.3.4). Tras la incorporación de la azida sódica y la ATU en la alimentación, la concentración de $N-NO_3^-$ en el influente se ve incrementada desde 1,5 a 4,5 mg/L. Ese aumento en la concentración de nitrato en el influente está asociado a la presencia de este compuesto como elemento traza en la azida.

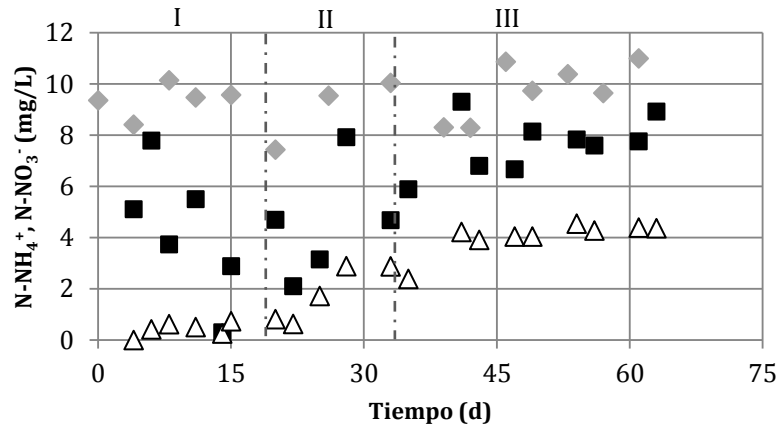


Figura 3.3.4. Concentración de N-NH₄⁺ en el influente (◆) y concentraciones de N-NH₄⁺ (■) y N-NO₃⁻ (△) en el efluente del filtro de arena.

Durante la primera etapa de operación la concentración de N-NH₄⁺ en el efluente disminuyó progresivamente con el paso del tiempo, mientras que la presencia de N-NO₃⁻ fue prácticamente nula. Tras la incorporación de los inhibidores en la alimentación (día 21) se produjo un aumento paulatino tanto en la concentración de N-NO₃⁻ como en la concentración de N-NH₄⁺ presentes en el efluente. Durante la etapa III, la concentración de amonio en el efluente fue ligeramente inferior a la del influente, mientras que la concentración de nitrato se mantuvo en torno a 4 mg/L.

Durante la etapa III, en base al balance de nitrógeno y al efecto de los inhibidores, puede demostrarse que la arena sólo es capaz de eliminar un 20% de amonio por adsorción mientras que la eliminación de nitrato a través de este mecanismo es prácticamente nula ya que, la concentración de nitrato en el efluente coincide con la de la alimentación (~4 mg/L tras la adición de los inhibidores). Este hecho evidencia el efecto de la biodegradación en la eliminación de amonio y nitrato durante la primera etapa a través de procesos de nitrificación/desnitrificación.

3.3.2. Operación del filtro de carbón activo

El periodo de operación del filtro de carbón activo se divide en las mismas etapas que las descritas en el apartado 3.3.1 para el filtro de arena.

La adición de la azida y la ATU en la alimentación (día 21) produjo un incremento en la conductividad del efluente de 1375 a 1500 μS/cm, aproximadamente, debido al carácter iónico del primer compuesto (Figura 3.3.5).

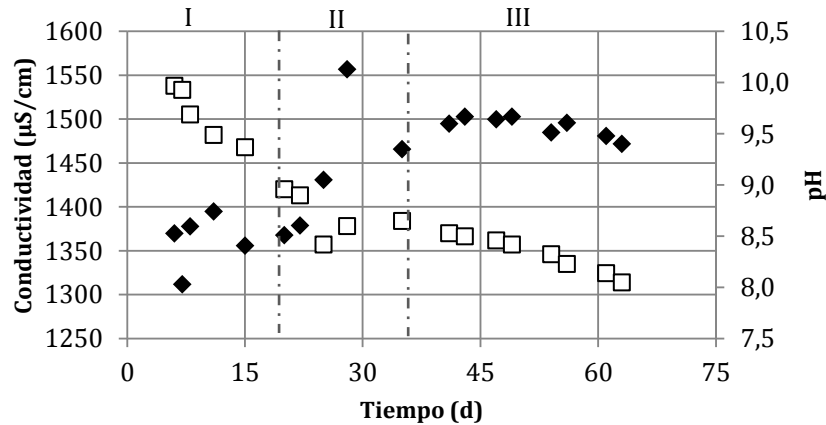


Figura 3.3.5 Evolución de la conductividad (♦) y el pH (□) en el efluente del filtro de carbón activo.

En la Figura 3.3.5 puede observarse además como el valor del pH desciende progresivamente con el paso del tiempo. Durante los primeros días de operación el valor de este parámetro estuvo en torno a 10 dado que el carbón activo en contacto con el agua tiene capacidad para incrementar su pH hasta valores muy básicos (ficha técnica del GAC). Posteriormente, el carbón activo se fue lavando y fue perdiendo capacidad para incrementar el pH del efluente. La tendencia parece indicar que se alcanzarán valores próximos a los de la alimentación.

La concentración de sólidos en suspensión volátiles y totales presentes en el efluente del filtro de carbón activo se detallan en la Figura 3.3.6. En la mayoría de los muestreos realizados las concentraciones de sólidos en suspensión volátiles y totales fueron del mismo orden y se mantuvieron por debajo de 0,05 g/L.

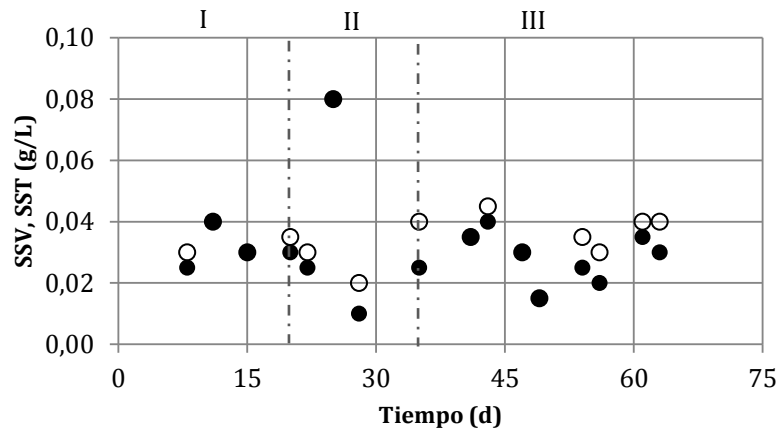


Figura 3.3.6. Evolución de SSV (●) y SST (○) en el efluente del filtro de GAC.

La evolución de la DQO (A) y la concentración de COT (B) en el influente y en el efluente del filtro de carbón activo se muestra en la Figura 3.3.7. Como puede observarse en la gráfica, las concentraciones de COT y DQO en el efluente del filtro de GAC siguen la misma evolución.

Durante el periodo de operación del filtro de GAC la DQO en el influente se mantiene en torno a los 500 mg/L. En la primera etapa de funcionamiento del equipo, la eliminación de la materia orgánica se mantuvo por encima del 50%. En este caso, el aumento de la DQO observado tras la incorporación en la alimentación de 100 mg/L de azida sódica y 10 mg/L de ATU el día 21 de operación, no puede ser atribuido exclusivamente a la desaparición de la actividad bacteriana como se propuso en el caso del filtro de arena ya que antes de que fueran incorporados los inhibidores en el influente el valor de la DQO ya aumentaba de forma gradual. En base a los resultados obtenidos en los ensayos batch se puede asumir que la adsorción es clave en la eliminación de la materia orgánica soluble durante la primera etapa de operación aunque no es posible descartar el efecto de la actividad bacteriana en comparación con los resultados obtenidos en el filtro de arena. En la segunda etapa de operación del filtro de GAC, durante el cual se evalúa exclusivamente la adsorción, se produce un aumento significativo en las concentraciones de DQO en el efluente, por lo que el carbón activo no es efectivo para eliminar la materia orgánica soluble a largo plazo.

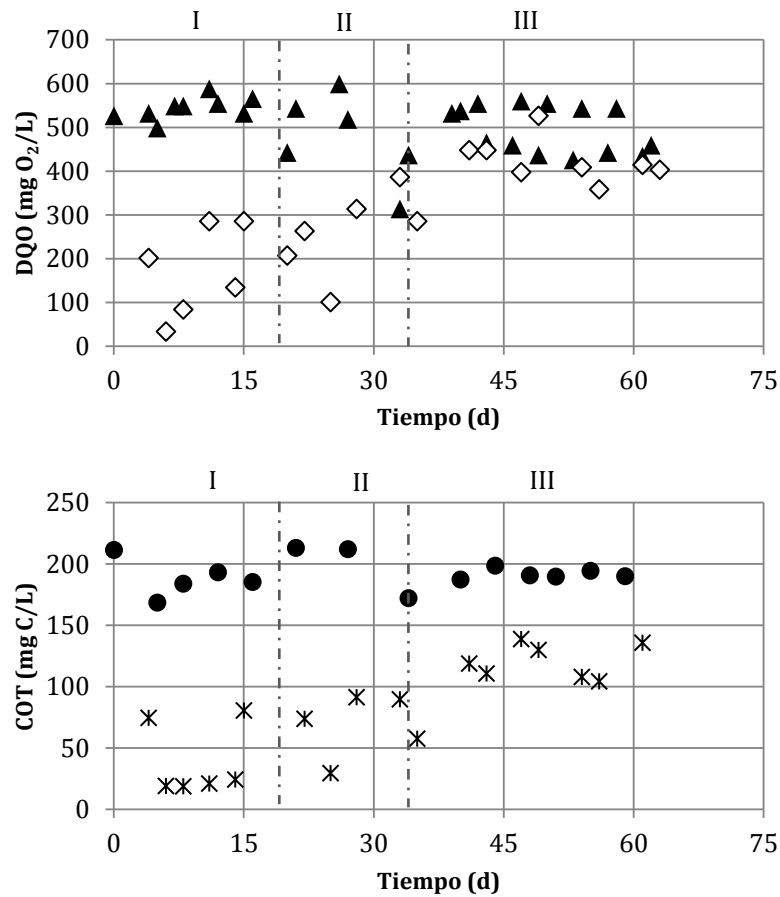


Figura 3.3.7. Concentraciones de DQO en el influente (▲) y en el efluente (◇) (A) y COT en el influente (●) y en el efluente (✱) (B) del filtro de carbón activo.

La concentración de N-NH_4^+ en el influente se mantiene constante con el tiempo en torno a 10 mg/L. Igual que ocurría en el caso del filtro de arena, la adición de la azida sódica y la ATU produce un incremento de la concentración de N-NO_3^- en el efluente (Figura 3.3.8).

La concentración de amonio en el efluente del filtro de carbón activo sigue la misma evolución que la ya descrita en el caso de la DQO. Antes de la adición de azida y ATU, la concentración de N-NO_3^- en el efluente era prácticamente cero mientras que la concentración de N-NH_4^+ se mantuvo en todos los casos por debajo de los 5 mg/L. Tras la adición de los inhibidores se produjo un aumento en la concentración de N-NH_4^+ presente en el efluente. Durante la tercera etapa de operación, en la cual se

redujo el TRH a 0,7 d y se estudiaba exclusivamente el efecto de la adsorción, se produjo un incremento en la concentración de N-NO_3^- presente en el efluente que se mantuvo prácticamente constante con el paso del tiempo. En esta etapa las concentraciones de N-NH_4^+ detectadas en el efluente se mantuvieron muy próximas a los valores medidos en el influente durante el mismo periodo de operación.

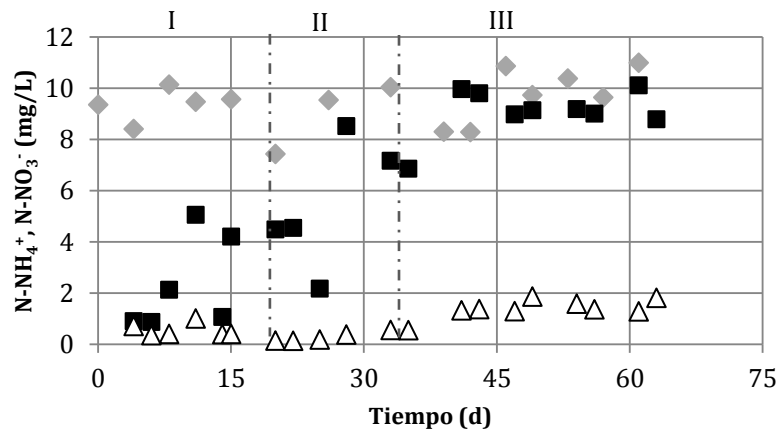


Figura 3.3.8. Concentración de N-NH_4^+ en el influente (◆) y concentraciones de N-NH_4^+ (■) y N-NO_3^- (△) en el efluente del filtro de GAC.

Los resultados obtenidos durante la segunda etapa de operación del filtro confirman que existe adsorción de amonio sobre el carbón activo aunque en una proporción muy baja. Comparando estos resultados con los obtenidos durante la última etapa de operación del filtro de arena se demuestra que una fracción de nitrato es adsorbida sobre el carbón activo del lecho ya que la concentración de nitrato presente en el efluente del filtro de GAC es un 50% inferior al obtenido en el efluente del filtro de arena a pesar de que la concentración de nitrato en el influente era la misma ya que se empleó la misma alimentación para los dos sistemas de tratamiento.

Con respecto a la etapa I se asume que existe adsorción de amonio y nitrato sobre el lecho de carbón activo (confirmado con los ensayos batch), sin embargo, no es posible descartar el efecto de la actividad bacteriana (nitrificación/desnitrificación) antes de la adición de los inhibidores.

3.3.3. Operación del biofiltro de arena

El periodo de operación del biofiltro de arena se divide en dos etapas: etapa I (día 1 al 42 de operación, TRH= 1,4 d) y etapa II (día 43 al 70 de operación, TRH= 0,7 d).

El seguimiento de los parámetros físicos (conductividad y pH) en el efluente del biofiltro de arena se muestra en la Figura 3.3.9.

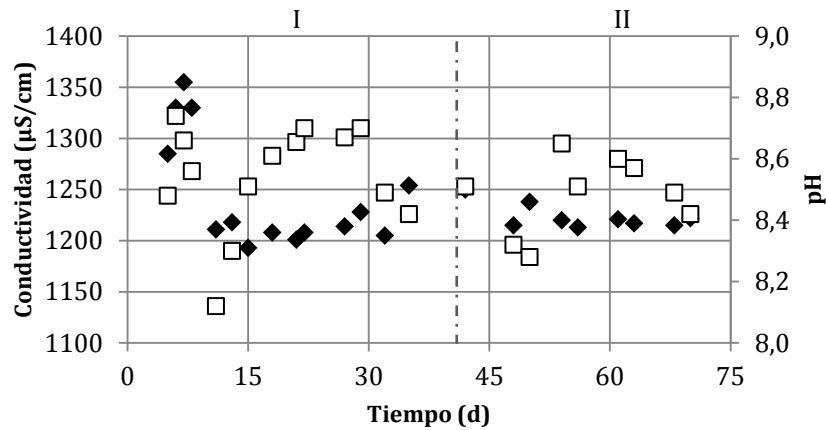


Figura 3.3.9. Evolución de la conductividad (♦) y el pH (□) en el efluente del biofiltro de arena.

Durante la puesta en marcha del reactor se detectaron valores de conductividad ligeramente más altos que durante el funcionamiento estable del mismo, este hecho podría ser atribuido al lavado de la arena. El valor de la conductividad tendió a estabilizarse con el tiempo sin verse afectado tras la modificación del TRH el día 43 de operación.

El pH medido en el efluente del biofiltro de arena se mantuvo durante toda la operación en el intervalo 8,3-8,7.

La concentración de sólidos en suspensión presentes en el efluente del biofiltro de arena se mantuvo por debajo de 0,10 g/L durante todo el periodo de operación del reactor (Figura 3.3.10) exceptuando los dos últimos muestreos en los cuales se detectaron concentraciones próximas a 0,30 g/L debido, principalmente, al desprendimiento de una fracción de la biopelícula desarrollada sobre la parte superior del lecho.

La concentración de sólidos en suspensión en el efluente es relativamente baja dado que el influente utilizado es sintético, las bacterias están adheridas al soporte y no existe arrastre de las partículas de arena. Los sólidos presentes en el efluente son mayoritariamente de naturaleza orgánica ya que proceden de la biomasa desprendida del lecho.

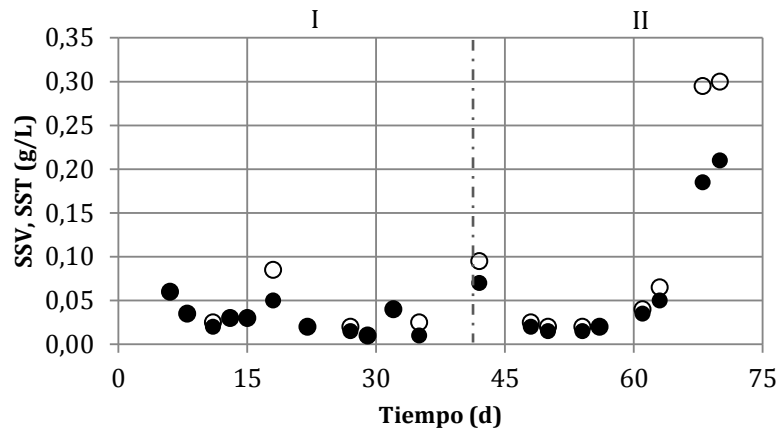


Figura 3.3.10. Evolución de SSV (●) y SST (○) en el efluente del biofiltro de arena.

En la Figura 3.3.11 se representa la evolución en las concentraciones de DQO (A) y COT (B) medidas en el influente y en el efluente del biofiltro de arena, así como también las concentraciones de oxígeno disuelto en el efluente.

La DQO en el influente se mantuvo en torno a los 500 mg/L mientras que en el efluente se mantuvo durante toda la operación en torno a 40 mg/L sin observarse ningún cambio significativo en la eliminación de la materia orgánica cuando el TRH se redujo a 0,7 d. La eliminación de la materia orgánica durante todo el periodo de operación del biofiltro de arena fue superior al 86%.

La concentración de oxígeno disuelto en el efluente se mantuvo en todos los casos por encima de los 5,8 mg/L permitiendo que el oxígeno no fuera el factor limitante en los procesos correspondientes a la degradación de la materia orgánica y a la nitrificación. Durante la puesta en marcha del reactor pudo observarse una disminución en la concentración de oxígeno disuelto en el efluente debido al periodo de aclimatación que sufrió la biomasa durante los primeros días de operación del biofiltro de arena.

La variación observada entre las concentraciones de carbono orgánico total medidas en el influente y en el efluente del biofiltro de arena son asumibles a la degradación de la materia orgánica.

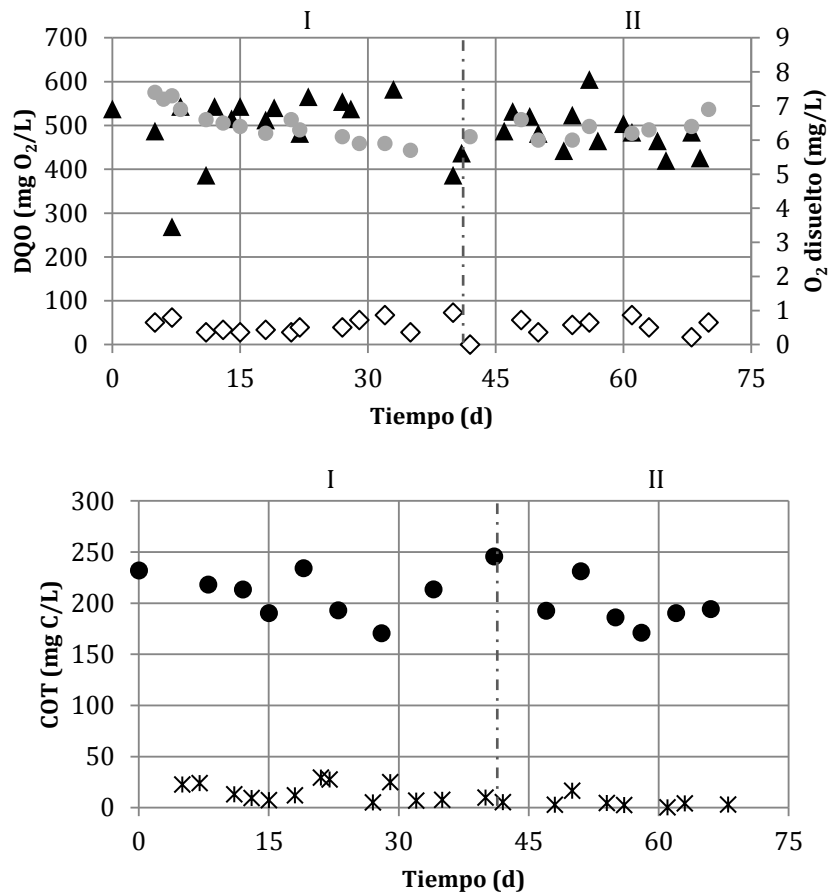


Figura 3.3.11. Concentración de DQO en el influente (▲) y concentraciones de DQO (◇) y oxígeno disuelto (●) (A) en el efluente y concentración de COT en el influente (●) y en el efluente (*) del biofiltro de arena.

Durante el periodo de operación del reactor la concentración de amonio en el influente permanece en torno a 10 mg/L mientras que en el efluente solo se detectó durante los dos primeros muestreos (20 mg N-NH₄⁺/L). Estos valores obtenidos durante el periodo de aclimatación de la biomasa al medio pueden explicarse teniendo en cuenta que durante la puesta en marcha de los reactores tuvo lugar lisis celular.

Durante la primera etapa de operación del biofiltro de arena la concentración de N-NO₃⁻ en el efluente es similar a la concentración de N-NH₄⁺ en la alimentación. Atendiendo a este hecho y a los resultados obtenidos en el caso del filtro de arena

puede asumirse que el principal mecanismo implicado en la eliminación del amonio es la nitrificación. En la segunda etapa de operación (día 43 a 70) no se detecta amonio en el efluente, sin embargo, la concentración de N-NO_3^- en el efluente disminuye, siendo menor a la esperada en el caso de que la eliminación del amonio tuviese lugar únicamente por nitrificación. Para explicar este fenómeno deben considerarse otros factores tales como la desnitrificación o el stripping del amoniaco. En base a la observación realizada y al comportamiento que presentó el filtro de arena, ese descenso en la concentración de N-NO_3^- en el efluente durante los últimos días de operación puede atribuirse al efecto de la desnitrificación ya que como puede observarse en la Figura 3.3.12 trae asociado consigo un ligero incremento en el valor del pH.

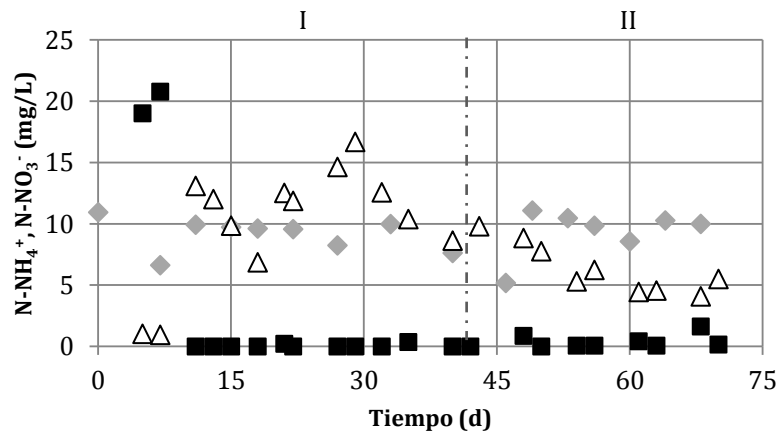


Figura 3.3.12. Concentración de N-NH_4^+ en el influente (◆) y concentraciones de N-NH_4^+ (■) y N-NO_3^- (△) en el efluente del biofiltro de arena.

3.3.4. Operación del biofiltro de carbón activo

El periodo de operación del biofiltro de carbón activo se divide en dos etapas, ya descritas en el apartado 3.3.3.

El seguimiento de la conductividad y el pH con el tiempo en el efluente del biofiltro de carbón activo se detalla en la Figura 3.3.13. La conductividad aumenta ligeramente durante los primeros días de operación, debido al posible efecto de la lisis celular, estabilizándose a partir del día 30 en torno a $1240 \mu\text{S/cm}$ independientemente del TRH empleado.

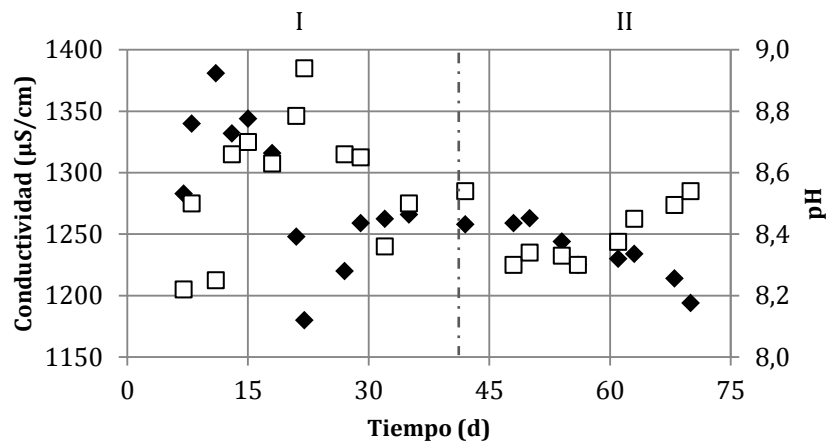


Figura 3.3.13 Evolución de la conductividad (♦) y el pH (□) en el efluente del biofiltro de carbón activo.

Los valores de pH medidos en el efluente se encontraron en todos los casos en el intervalo 8,2-8,9. Analizando la evolución de este parámetro con el tiempo puede observarse un incremento en el valor del pH hasta el día 23 de operación, luego un descenso y luego de nuevo un ligero aumento durante la segunda etapa de operación del biofiltro (del día 43 al 70 de operación). La degradación de la materia orgánica y la nitrificación contribuyen al descenso del pH, mientras que otros fenómenos que pueden tener lugar en el interior del biofiltro como es el caso de la desnitrificación contribuyen al aumento del mismo. Otro factor que debe ser considerado es el aumento del pH producido como consecuencia del contacto entre la alimentación y el carbón activo empleado. Este último efecto fue comprobado mediante la adición de una cantidad de carbón activo granular a un volumen de agua determinado y se corroboró con el dato proporcionado en la ficha técnica del GAC (pH del extracto acuoso= 8-10).

La concentración de sólidos en suspensión en el efluente del biofiltro de carbón activo fue inferior a 0,10 g/L durante todo el periodo de operación del reactor (Figura 3.3.14). Los valores superiores obtenidos durante el arranque fueron atribuidos al desprendimiento de finos debido el efecto de la aireación sobre las partículas de GAC.

Debe considerarse que una fracción de las partículas de carbón activo presentes en el efluente es volatilizada en la mufla, por lo que la fracción orgánica no puede ser atribuida totalmente a la presencia de biomasa en el efluente.

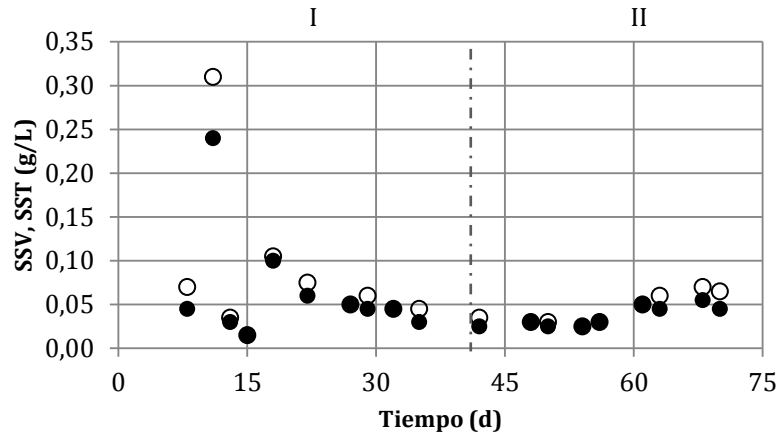


Figura 3.3.14. Evolución de SSV (●) y SST (○) en el efluente del biofiltro de GAC.

En la Figura 3.3.15.A se detallan las concentraciones correspondientes a la DQO en el influente y en el efluente del biofiltro de carbón activo, así como también la concentración de oxígeno disuelto en el efluente durante todo el periodo de operación del reactor.

Una vez que el reactor empezó a operar de forma estable, la DQO en el efluente del biofiltro de carbón activo se mantuvo por debajo de los 100 mg/L sin observarse ningún cambio significativo en la eliminación de la materia orgánica cuando el TRH se redujo a 0,7 d. La eliminación de la materia orgánica soluble durante todo el periodo de operación de este reactor fue superior al 81%.

La concentración de oxígeno disuelto en el efluente se mantuvo durante todo el periodo de operación en el rango 6-7 mg/L sin observarse ningún cambio significativo cuando fue modificado el TRH.

La variación observada entre las concentraciones de carbono orgánico total medidas en el influente y en el efluente del biofiltro de GAC son asumibles a la degradación de la materia orgánica (Figura 3.3.15.B).

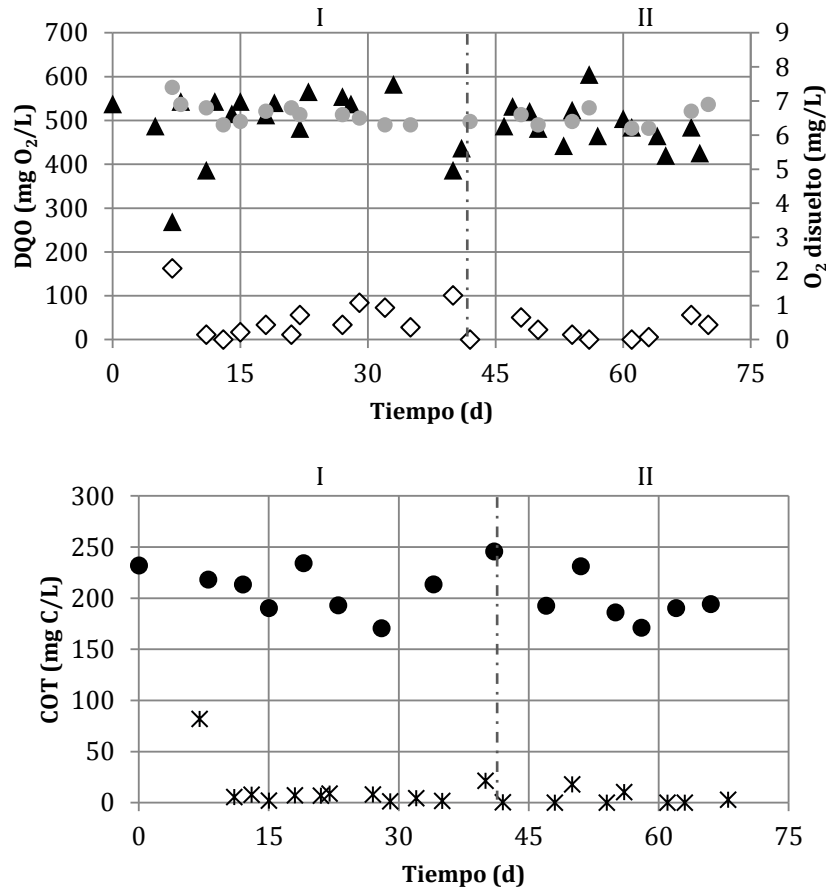


Figura 3.3.15. Concentración de DQO en el influente (▲) y concentraciones de DQO (◇) y oxígeno disuelto (●) (A) en el efluente y concentración de COT en el influente (●) y en el efluente (*) del biofiltro de carbón activo.

La eliminación de amonio fue superior al 99% durante todo el periodo de operación del biofiltro de carbón activo mientras que la concentración de $N-NO_3^-$ en el efluente se mantuvo en todos los casos por debajo de los 1,9 mg/L (Figura 3.3.16). Comparando estos resultados con los obtenidos en el filtro de carbón activo (Figura 3.3.8) puede demostrarse que el efecto de la biodegradación es clave en la eliminación del amonio.

En base a los resultados obtenidos y comparando éstos con los hallados en la bibliografía, podría asumirse que durante los primeros días de operación del biofiltro la eliminación del amonio tiene lugar por la adsorción de este compuesto

sobre el carbón activo y posteriormente por el efecto de la nitrificación. Yapsak et al. (2010) atribuyeron la eliminación de amonio en biofiltros de GAC a la nitrificación ya que pudieron comprobar que el amonio adsorbido durante la puesta en marcha del reactor era desorbido cuatro días después. Las bajas concentraciones de nitrato detectadas en el efluente pueden ser explicadas asumiendo que existe desnitrificación (Yu et al., 2007). Este proceso podría tener lugar en los microporos del GAC y en las zonas anóxicas creadas en el lecho como consecuencia de la aparición de caminos preferenciales. La opción de que exista adsorción del nitrato formado durante la nitrificación sobre el carbón activo queda descartada dado que la capacidad de adsorción del nitrato sobre este material adsorbente es prácticamente nula cuando el valor del pH está en torno a 8 (Nunell et al., 2012).

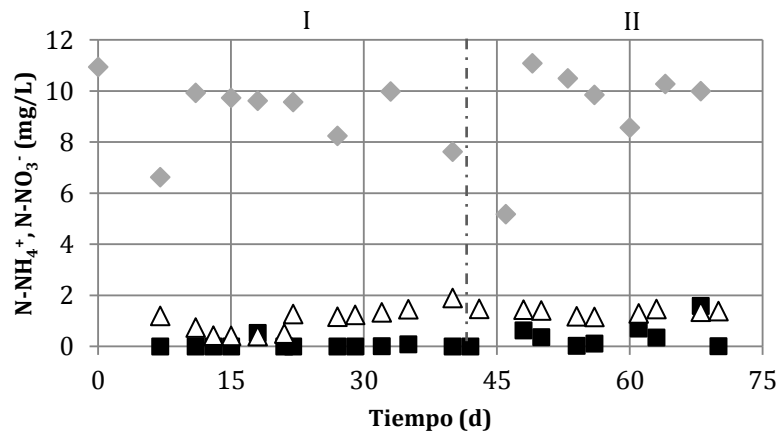


Figura 3.3.16 Concentración de $N-NH_4^+$ en el influente (◆) y concentraciones de $N-NH_4^+$ (■) y $N-NO_3^-$ (△) en el efluente del biofiltro GAC.

3.4. Eliminación de microcontaminantes

La eliminación de microcontaminantes orgánicos en los filtros de arena y GAC se estudió diferenciando los 3 periodos de operación: arranque (I), TRH de 1,4 d (II) y TRH de 0,7 d (III).

Los porcentajes de eliminación representados en las Figuras 3.4.1 a 3.4.6 se calcularon considerando las concentraciones de los microcontaminantes medidas en las alimentaciones y en los efluentes de los reactores.

Las concentraciones medidas en el influente de los reactores fueron más bajas que las concentraciones nominales detalladas en la Tabla 2.1.3 especialmente en el caso de los compuestos con K_d más elevada: fragancias (valor medio en torno 27 ppb) y compuestos disruptores endocrinos (0,1 ppb de hormonas, 1,5 ppb de octilfenol, 0,6 ppb de nonilfenol y 3,3 ppb de bisfenol A). A pesar de que en el montaje experimental y durante el tratamiento de las muestras para el análisis de los microcontaminantes se emplean tubos de teflón y material de vidrio para evitar la adsorción de los compuestos, es inevitable el uso de materiales plásticos (tales como tubos flexibles en los cabezales de las bombas, bolsas colapsables para el almacenamiento de la alimentación, etc.) los cuales permiten la adsorción de ciertos microcontaminantes sobre los mismos, especialmente de aquellos compuestos que presentan un mayor carácter lipofílico como es el caso de las fragancias y los disruptores endocrinos. A medida que va transcurriendo la operación de los reactores se fueron reduciendo las diferencias entre las concentraciones detectadas en la alimentación y las teóricas para los compuestos con K_d elevada debido a la saturación de los materiales plásticos empleados.

En función de los resultados obtenidos durante los diferentes periodos de operación de los cuatro reactores es posible clasificar los microcontaminantes estudiados en cinco grupos atendiendo al comportamiento de biodegradación y sorción que estos experimentan cuando el agua residual es tratada en los diferentes equipos bajo las mismas condiciones de operación (temperatura, composición de la alimentación, TRH, volumen del lecho).

Compuestos que se biodegradan y que experimentan alta adsorción sobre GAC y arena

Las fragancias (galaxolide, tonalide y celestolide) son eliminadas tanto por adsorción sobre carbón activo como sobre arena, ya que en los lechos sin actividad biológica, la eficacia de eliminación de estos compuestos durante todos los muestreos realizados fue superior al 85%. El carbón activo tiene una capacidad de adsorción mayor para las fragancias que la arena, ya que las eficacias de eliminación obtenidas en el primer caso estuvieron en todos los muestreos por encima del 99%. Las fragancias también sufren biodegradación en los filtros inoculados, al degradarse, aproximadamente, un 80% de la fracción que no se adsorbe si se comparan los resultados de los dos lechos de arena. La actividad biológica desarrollada en el biofiltro de arena es clave para alcanzar mayores eficacias de eliminación para galaxolide, tonalide y celestolide.

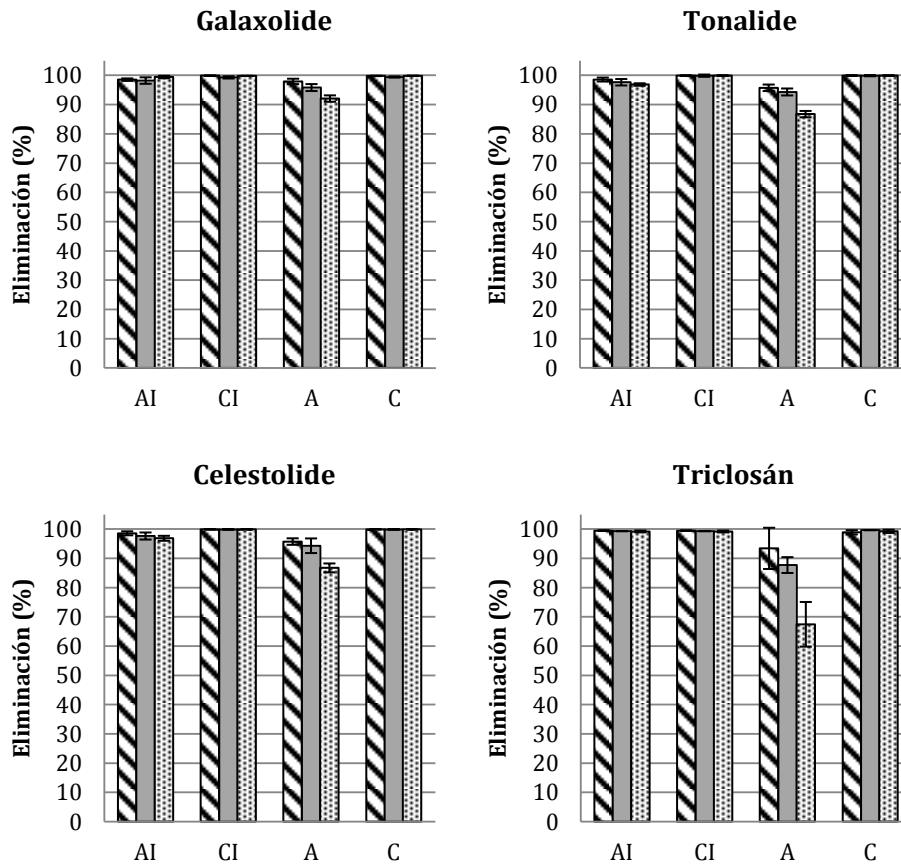


Figura 3.4.1. Eliminaciones medias obtenidas para las fragancias y triclosán durante los muestreos realizados en los periodos de operación I (▨) (n=2), II (■) (n=2) y III (▩)(n=2). AI (biofiltro de arena), CI (biofiltro de GAC), A (filtro de arena), C (filtro de GAC).

Las fragancias son compuestos muy lipofílicos ($\log K_{ow}$ entre 5,4 y 6,6) que tienden a adsorberse/absorberse con facilidad sobre los lodos y las superficies ya que presentan coeficientes de distribución sólido-líquido relativamente altos ($\log K_d > 3,3$) (Suarez et al., 2008). Las constantes de biodegradación de estos compuestos son relativamente altas por lo que el efecto de la biodegradación es clave en la eliminación de estos compuestos durante el tratamiento biológico (Fernandez-Fontaina et al., 2012). Este hecho confirma que el efecto combinado de la adsorción y la biodegradación desarrolladas en el biofiltro de arena sea suficiente para obtener eliminaciones superiores al 99% sin ser necesario el uso de GAC. Las

eficacias de eliminación obtenidas en los cuatro sistemas de tratamiento fueron, en todos los casos, superiores a las encontradas en las referencias bibliográficas. Hernández-Leal et al. (2011) detectaron eliminaciones superiores al 79% en el caso de galaxolide y al 67% para tonalide durante el tratamiento de efluentes procedentes del tratamiento biológico en columnas de GAC.

El comportamiento del triclosán durante el tratamiento del agua residual es similar al de las fragancias, siendo en este caso la adsorción sobre la arena ligeramente inferior. Este resultado se evidencia en los últimos muestreos realizados con eficacias de eliminación del orden del 65%. Los resultados obtenidos durante el desarrollo de este trabajo en los lechos de carbón activo son comparables con los hallados en la bibliografía. Snyder et al. (2006) alcanzaron eliminaciones superiores al 97% durante el tratamiento de efluentes secundarios en biofiltros de GAC mientras que Hernández-Leal et al. (2011) alcanzaron eliminaciones superiores al 95% en columnas de carbón activo donde el principal mecanismo de eliminación implicado es la adsorción.

La reducción del TRH de 1,4 a 0,7 d durante el tercer periodo de operación de los reactores no produjo cambios significativos en la eficacia de eliminación de los compuestos seleccionados en los lechos de GAC. En el caso del filtro de arena, la reducción del TRH supuso un ligero descenso en la eliminación de las fragancias (en torno a un 10% y del triclosán (alrededor del 20%). Este hecho podría ser atribuido a la presencia de caminos preferenciales en el lecho de arena ya que al reducirse el tiempo de retención, el líquido que fluye por esos caminos lo hace a mayor velocidad siendo el tiempo de contacto insuficiente para que estos compuestos queden adsorbidos sobre la arena. (Debe considerarse que, en la eliminación de microcontaminantes para que un cambio en la eficacia de eliminación se considere significativo, tiene que existir una variación en el porcentaje de eliminación obtenido superior al 15-20% ya que al trabajar con concentraciones del orden de ppb se deben asumir errores grandes).

Compuestos que se biodegradan y que experimentan alta adsorción sobre GAC y adsorción intermedia sobre arena

Las altas eficacias de eliminación obtenidas en los lechos de carbón activo (>99%) indican que el carbón activo presenta una capacidad de adsorción muy elevada para sulfametoxazol. Aunque a priori queda patente que existe adsorción de este compuesto sobre la arena ya que en el filtro de este material se obtuvieron eliminaciones de entre el 11 y el 41% durante todos los muestreos, el efecto de la actividad bacteriana desarrollada en el biofiltro de arena es clave para incrementar la eliminación de este compuesto (Figura 3.4.2). Las eficacias de eliminación obtenidas para el sulfametoxazol durante el desarrollo de este trabajo son similares a las obtenidas por otros autores durante el tratamiento de efluentes secundarios en biofiltros de carbón activo (> 90%) (Reungoat et al., 2011), durante la potabilización de aguas en filtros de GAC (> 83%) (Snyder et al., 2007) y durante el postratamiento de efluentes aerobios en filtros de arena (~30%) (Nakada et al., 2007). En el caso del biofiltro de arena, las eficacias de eliminación obtenidas para este compuesto mejoraron los resultados obtenidos en otros trabajos encontrados en la bibliografía (< 20%) (Reungoat et al., 2011). Esta diferencia puede ser atribuida al hecho de que los TRH utilizados durante el desarrollo de este trabajo fueron muy superiores al utilizado en ese estudio (2h).

La reducción del TRH de 1,4 a 0,7 d durante el tercer periodo de operación de los reactores no produjo cambios significativos en las eficacias de eliminación de SMX.

Examinando las eficacias de eliminación obtenidas durante el último muestreo del cual se obtuvieron resultados (M3) referentes a la hormona 17β -estradiol podría asumirse que este compuesto se comporta de modo similar al ya descrito para el sulfametoxazol ya que durante este periodo de operación se obtuvieron eficacias de eliminación superiores al 60% en el filtro de arena y al 96% en el caso de los otros tres reactores. Para poder afirmar con rotundidad que la arena tiene capacidad intermedia para adsorber este compuesto, es necesario esperar a los resultados de los tres muestreos realizados con posterioridad al M3 ya que en el primer periodo de operación (muestreos M1 y M2) la eficacia de eliminación del filtro de arena fue prácticamente nula, sin embargo, este hecho podría atribuirse a que las concentraciones detectadas de la hormona a la entrada del reactor fueron un 90% más bajas que la detectada durante el tercer muestreo (M3). Basándose en los datos hallados en la bibliografía en referencia a las características del E2, este compuesto

es eliminado con una alta eficacia en todos los sistemas de tratamiento evaluados ya que se trata de un compuesto fácilmente biodegradable ($k_{\text{biol}}= 300\text{-}800 \text{ L/g SST}\cdot\text{d}$) con una capacidad de sorción relativamente alta ($\log K_{\text{ow}}= 3,9\text{-}4$) (Suarez et al., 2008).

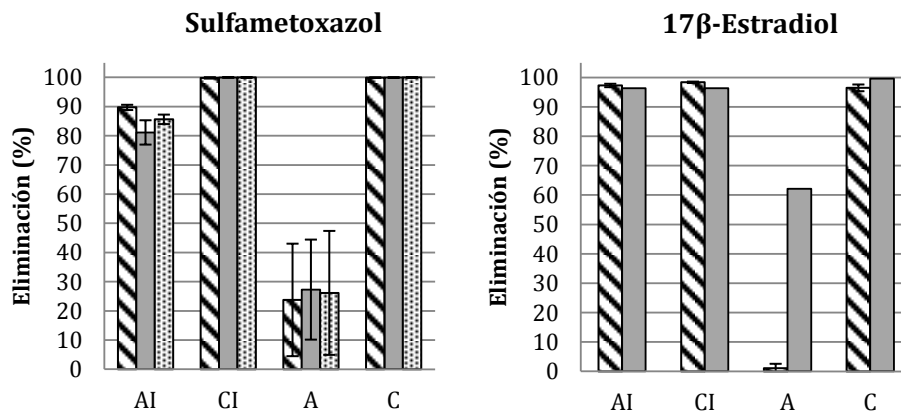


Figura 3.4.2. Eliminaciones medias obtenidas para SMX durante los muestreos realizados en los periodos de operación I (≡)(n=2), II (■)(n=2) y III (≡)(n=2) y para E2 sólo en I (n=2) y II (n=1). AI (biofiltro de arena), CI (biofiltro de GAC), A (filtro de arena), C (filtro de GAC).

Compuestos que se biodegradan y que experimentan adsorción solo sobre GAC

Nueve de los microcontaminantes seleccionados (IBP, NPX, FLX, BPA, ERY, ROX, TMP, E1, EE2) experimentaron adsorción únicamente sobre GAC y fueron biodegradados por la biomasa desarrollada en los biofiltros. En todos los casos se obtuvieron altas eficacias de eliminación en el filtro de carbón activo por lo que el efecto de la adsorción sobre este material se consideró clave (Figura 3.4.3). El efecto de la biodegradación fue demostrado comparando las eficacias de eliminación obtenidas en el biofiltro y en el filtro de arena. En el caso de IBP, BPA y FLX este hecho también fue confirmado teniendo en cuenta el descenso observado en la eficacia de eliminación del filtro de arena tras la adición de los inhibidores en la alimentación (a partir de la etapa II). Se ha demostrado que la presencia de poblaciones heterótrofas, nitrificantes y desnitrificantes en los biofiltros de arena y carbón activo contribuye eficazmente a la eliminación de los microcontaminantes biodegradables (Alvaríño, 2011; Fernández-Fontaina et al., 2012) además de

incrementar la vida útil de los lechos debido al efecto de la regeneración (Çeçen and Aktas, 2012).

Ibuprofeno y naproxeno mostraron altas eficacias de eliminación en el filtro de carbón activo (Figura 3.4.3.a). Estos resultados concuerdan con los alcanzados por Serrano et al. (2010) los cuales demostraron la capacidad del carbón activo granular para adsorber estos compuestos en base a los valores de las constantes de adsorción de Freundlich (K_f) obtenidos. La incorporación de azida sódica y ATU en la alimentación permitió demostrar que la arena no tiene capacidad para adsorber estos compuestos (eficacias de eliminación < 10% en todos los casos). El desempeño del biofiltro de arena para eliminar IBP y NPX es idéntico al de los filtros de GAC gracias al efecto de la biodegradación. Las eficacias de eliminación obtenidas durante el desarrollo de este trabajo fueron muy superiores a las encontradas en la bibliografía con referencia a los biofiltros de arena (30%) (Hollender et al., 2009). Esta diferencia puede ser atribuida al hecho de operar los reactores con mayores tiempos de contacto.

Las eficacias de eliminación de la fluoxetina fueron superiores al 96% durante todo el periodo de operación de los biofiltros de arena y GAC, así como en el caso del filtro de carbón activo. La eficacia de eliminación media del filtro de arena fue inferior al 20%. En la revisión bibliográfica realizada no se han encontrado referencias para poder comparar estos resultados a excepción del tratamiento de efluentes biológicos en biofiltros de carbón activo. En este caso, los resultados alcanzados en ese trabajo (> 97%) (Snyder et al., 2006) son similares a los obtenidos durante este estudio.

En el caso de la eritromicina los resultados de eliminación obtenidos en AI y C (>90%) mejoraron las eliminaciones encontradas en la bibliografía referentes al biofiltro de arena (23-54%) (Reungoat et al., 2011) y al filtro de GAC (>66%) (Snyder et al., 2007). Estas variaciones pueden ser atribuidas al TRH, ya que en esos dos casos particulares, los tiempos de contacto empleados fueron de 2 h y 7,6 min, respectivamente.

Las eficacias de eliminación para bisfenol A fueron superiores al 90% durante el tratamiento en los biofiltros y en el filtro de GAC. En el caso del filtro de arena es llamativo el hecho de que durante el primer muestreo se eliminara el 99% del bisfenol A presente en el influente mientras que en los muestreos posteriores (incluido el muestreo M2 llevado a cabo en las mismas condiciones de operación) la eficacia de eliminación de este reactor fuese prácticamente nula (elevada desviación

estándar de la 1ª barra, Figura 3.4.3.b). Esa eliminación inicial podría ser errónea teniendo en cuenta la tendencia que siguen los datos obtenidos con posterioridad ya que se considera poco probable que la arena perdiera la capacidad de adsorción para este compuesto tras una semana de operación (comparación entre las eliminaciones obtenidas durante M1 y M2). En la bibliografía se han encontrado referencias donde también existía una variación muy significativa en la eliminación del bisfenol A durante el tratamiento del agua residual en el filtro de arena (0-90%) entre muestreos que fueron llevados a cabo bajo las mismas condiciones de operación (Nakada et al., 2007). Sin embargo los autores no pudieron concretar cuál era el factor responsable de este hecho. Las eliminaciones obtenidas durante el desarrollo de este trabajo fueron superiores a las alcanzadas por Hernández-Leal et al. (2011) en columnas GAC. Esta diferencia se atribuye a que el TRH empleado era más bajo.

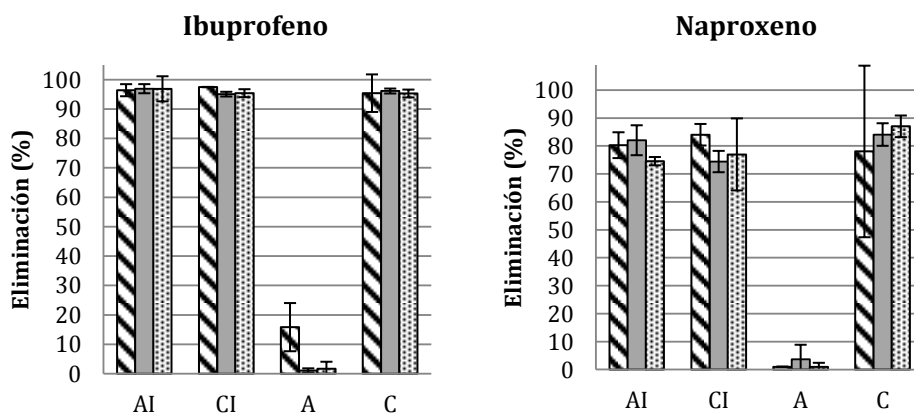


Figura 3.4.3. a. Eliminaciones medias obtenidas para IBP y NPX durante los muestreos realizados en los periodos de operación I (∞) (n=2), II (■) (n=2) y III (⊞) (n=2). AI (biofiltro de arena), CI (biofiltro de GAC), A (filtro de arena), C (filtro de GAC).

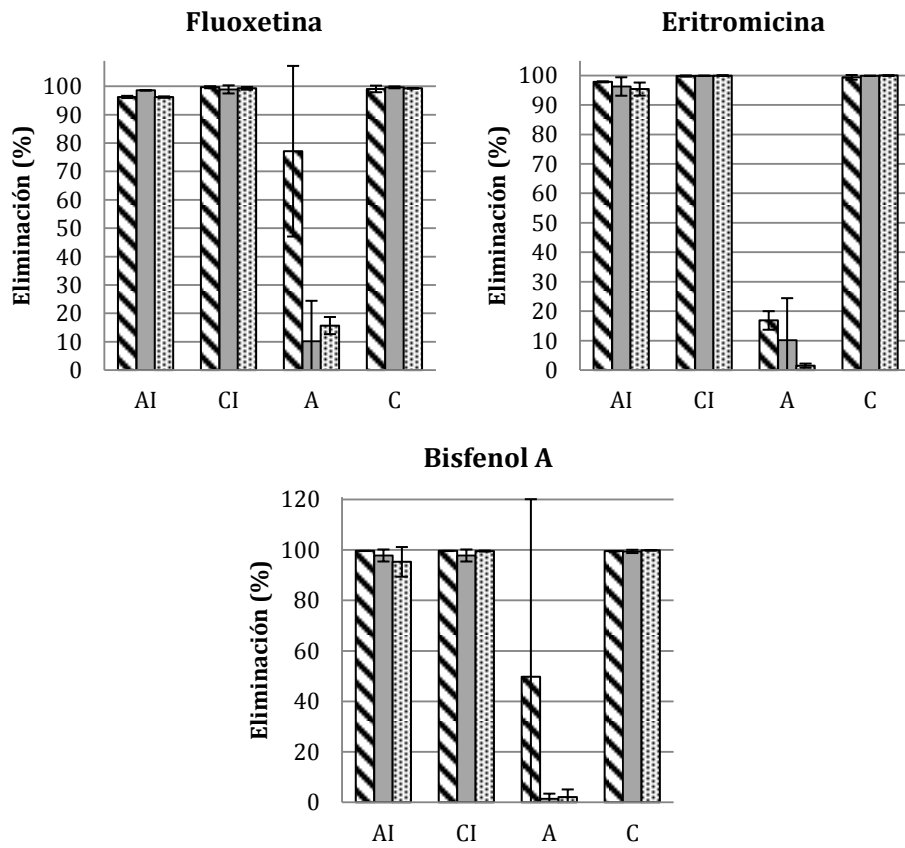


Figura 3.4.3.b. Eliminaciones medias obtenidas para FLX, ERY Y BPA durante los muestreos realizados en los periodos de operación I (≡) (n=2), II (■) (n=2) y III (▨) (n=2) .AI (biofiltro de arena). CI (biofiltro de GAC), A (filtro de arena), C (filtro de GAC)

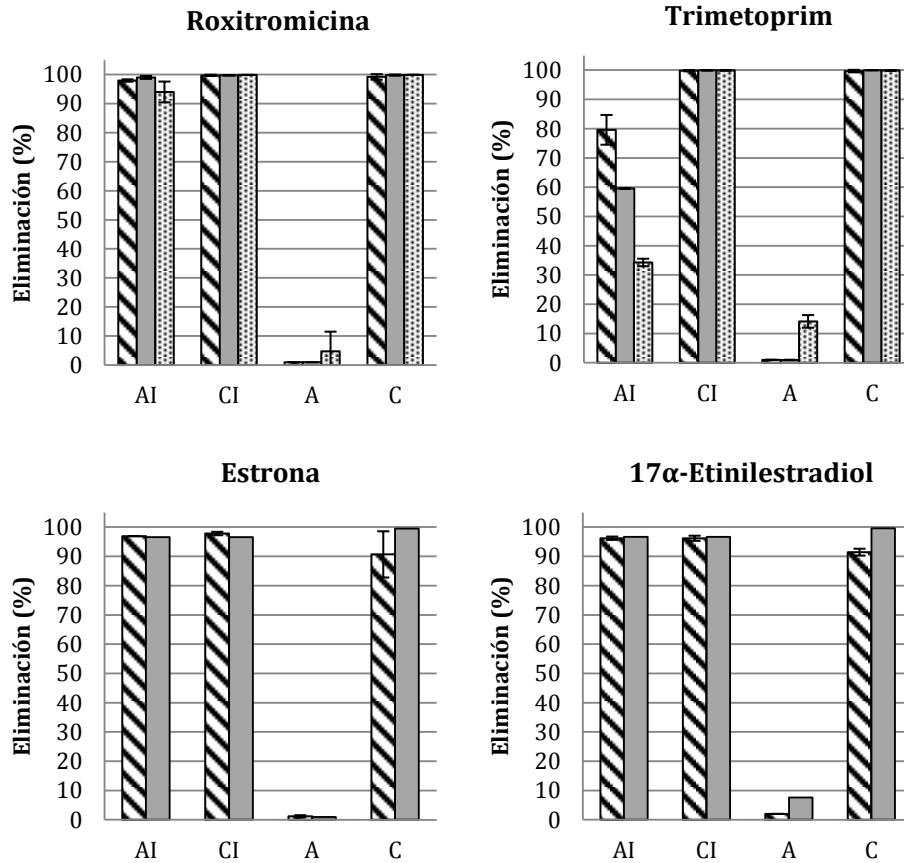


Figura 3.4.4. Eliminaciones medias obtenidas para ROX, TMP durante los muestreos realizados en los periodos de operación I (∞)(n=2), II (■)(n=2) y III (▨) (n=2) y para E1 y EE2 en I (n=2) y II (n=1).AI (biofiltro de arena), CI (biofiltro de GAC), A (filtro de arena), C (filtro de GAC).

Las eficacias de eliminación obtenidas durante el desarrollo de este trabajo para roxitromicina y trimetoprim se encuentran por encima del 99% en los lechos de GAC, mientras que en el caso del biofiltro de arena son superiores a 94 y 34%, respectivamente. Comparando los resultados obtenidos con los encontrados en la bibliografía puede observarse que las eficacias de eliminación obtenidas durante la realización de este trabajo son del mismo orden que las alcanzadas para estos dos compuestos durante el tratamiento de efluentes secundarios en biofiltros de carbón activo (> 90%) (Reungoat et al., 2011) y muy superiores a las conseguidas durante el tratamiento del agua residual en un biofiltro de arena (15% en el caso del

trimetoprim) (Hollender et al., 2009). En este último caso no es posible predecir a que se debe esa variación en la eliminación del compuesto ya que en la publicación no se detallan las condiciones de operación en las que estuvo operando el equipo.

Las eficacias de eliminación obtenidas para estrona y 17 α -etinilestradiol durante el desarrollo de este trabajo fueron superiores al 85% tanto en los biofiltros de GAC y arena como en el filtro de carbón activo. El filtro de arena resultó ser totalmente ineficiente para la eliminación de E1 y EE2. Teniendo en cuenta los datos que se encuentran en la bibliografía referentes al comportamiento de estas hormonas, puede afirmarse que tanto la adsorción/absorción como la biodegradación están implicadas en la eliminación de estos compuestos durante el tratamiento de las aguas residuales ya que estos compuestos presentan coeficientes de reparto octanol-agua elevados ($\log K_{ow} = 3,1-3,4$ (E1) y $\log K_{ow} = 2,8-4,2$ (EE2)) y constantes de biodegradación especialmente altas en el caso de la estrona ($k_{biol} = 200-300$ L/g SST·d) (Suárez et al., 2008).

La reducción del TRH de 1,4 a 0,7 d durante el tercer periodo de operación de los reactores no produjo cambios significativos en la eficacia de eliminación de los compuestos seleccionados en los lechos de GAC. En el biofiltro de arena sólo trimetoprim sufrió un descenso en la eliminación del 20% tras la reducción del TRH, hecho atribuido a un tiempo insuficiente para ser biodegradado.

Compuestos que se adsorben sobre GAC y arena y no se biodegradan

En base a los resultados obtenidos durante los seis muestreos realizados, todo parece indicar que el principal mecanismo responsable de la eliminación del octilfenol y el nonilfenol es la adsorción, ya que si se comparan las eficacias de eliminación obtenidas en los lechos donde existe actividad biológica (AI y CI) y en los lechos donde solo existe adsorción (A y C), no se observan diferencias significativas. Esta afirmación también está respaldada por el hecho de que tras la adición de azida sódica y ATU en la alimentación de los filtros de arena y carbón activo no se produce un empeoramiento en la eficacia de eliminación de estos compuestos.

La reducción del TRH de 1,4 a 0,7 d durante el tercer periodo de operación de los reactores no produjo cambios significativos en las eficacias de eliminación.

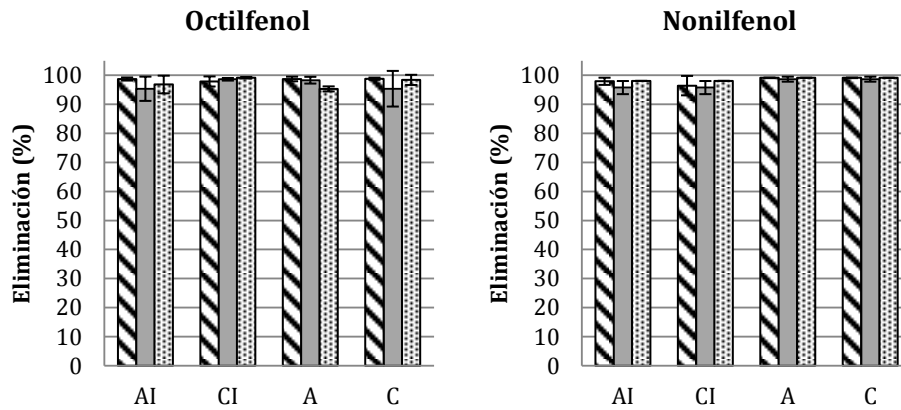


Figura 3.4.5. Eliminaciones medias obtenidas OP y NP durante los muestreos realizados en los periodos de operación I (⊘) (n=2), II (■)(n=2) y III (⊞)(n=2). AI (biofiltro de arena), CI (biofiltro de GAC), A (filtro de arena), C (filtro de GAC).

El octilfenol y el nonilfenol son compuestos lipofílicos con alta capacidad para adsorberse ya que presentan un coeficiente de reparto octanol-agua muy elevado ($\log K_{ow}$ de 4,1 y 5,7, respectivamente) (Çeçen and Aktas, 2012). En la bibliografía se han encontrado referencias en las que las eficacias de eliminación de estos compuestos durante el tratamiento de efluentes secundarios en filtros de arena y carbón activo fueron superiores al 80% (Nakada et al., 2007; Hernández-Leal et al., 2011). En todos los casos se ha asumido este hecho a la alta hidrofobicidad que presentan estos compuestos por lo que se evidencia la suposición de que el principal mecanismo implicado en la eliminación de estos compuestos durante el tratamiento en los cuatro sistemas evaluados es la adsorción.

Compuestos que no se biodegradan y que sólo son adsorbidos sobre GAC

El principal mecanismo implicado en la eliminación de carbamazepina y diazepam es la adsorción sobre carbón activo ya que en todos los muestreos realizados las eficacias de eliminación en el biofiltro y en el filtro de carbón activo fueron superiores al 99%. Los efectos de la biodegradación y la adsorción sobre la arena en la eliminación de estos compuestos quedan totalmente descartados ya que la eliminación en los lechos de arena se encontró en todos los muestreos por debajo del 10% y, en ningún caso, el efecto de la actividad microbiana desarrollada en el biofiltro de arena mejoró el porcentaje de los compuestos eliminados.

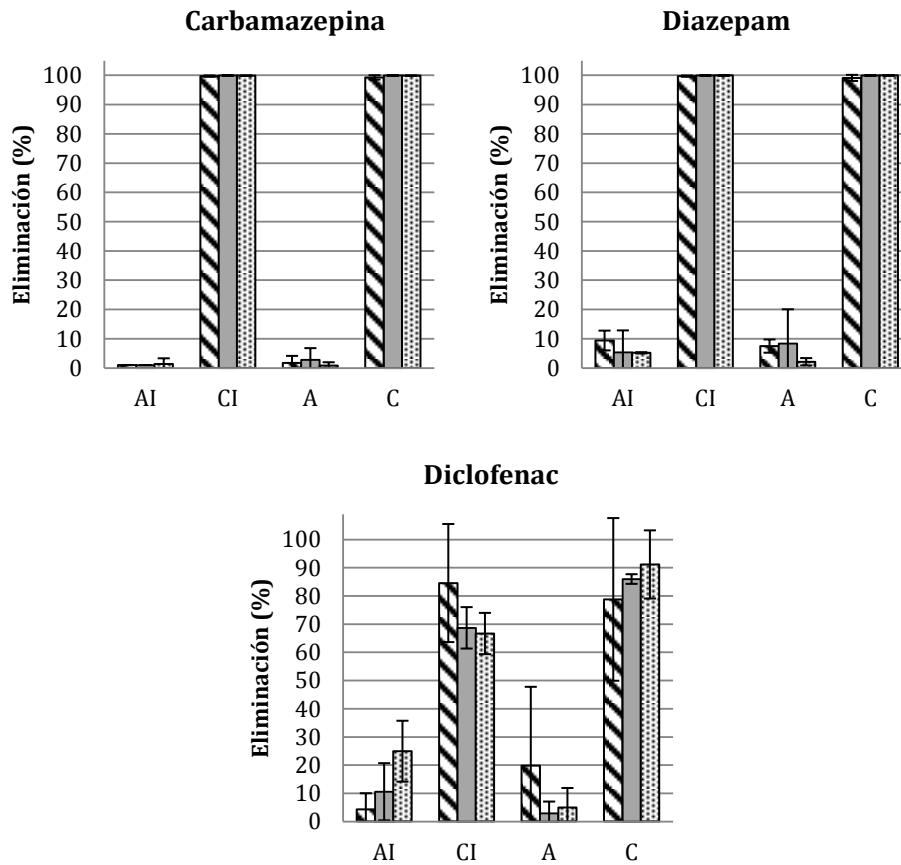


Figura 3.4.6. Eliminaciones medias obtenidas para CBZ, DZP y DCF durante los muestreos realizados en los periodos de operación I (▨) (n=2), II (■) (n=2) y III (▩)(n=2) .AI (biofiltro de arena), CI (biofiltro de GAC), A (filtro de arena), C (filtro de GAC).

Estos resultados son acordes con los encontrados en la bibliografía ya que carbamazepina y diazepam son compuestos recalcitrantes, esencialmente no biodegradables ($k_{biol} < 0,01$ L/g SSV·d) (Fernández-Fontaina et al., 2012) que presentan un alto potencial de adsorción sobre carbón activo granular ya que exhiben valores de las K_f muy superiores a las obtenidas en el caso de los antiinflamatorios y las fragancias (Serrano et al., 2010).

El diclofenac tiene un comportamiento similar al desarrollado por CBZ y DZP. La capacidad de adsorción del carbón activo empleado permite que este compuesto sea eliminado eficazmente en los lechos de GAC (Figura 3.4.6), mientras que la eliminación en el filtro de arena es prácticamente nula. Comparando los resultados obtenidos en el filtro y el biofiltro de arena no puede observarse una mejora significativa en la eficacia de eliminación del sistema con actividad biológica. Este hecho queda demostrado teniendo en cuenta que el DCF es un compuesto difícilmente biodegradable ($k_{\text{biol}} < 0,1 \text{ L/g SSV}\cdot\text{d}$) (Suárez et al., 2008). Analizando la evolución en las eficacias de eliminación obtenidas en el biofiltro de arena puede observarse un ligero incremento en la eliminación del DCF con el transcurso de los días de operación de este reactor, pero en cualquier caso, siempre inferior al 30%. Este hecho puede explicarse teniendo en cuenta que la biodegradabilidad del DCF aumenta cuando se opera con altos tiempos de retención celular (> 120 días) (Suárez et al., 2010). Los resultados obtenidos durante el desarrollo de este trabajo son similares a los obtenidos por Reungoat et al. (2011) durante el tratamiento de efluentes secundarios en biofiltros de arena ($< 20\%$).

4

Conclusiones

Las principales conclusiones obtenidas en este trabajo son:

- Ensayos de adsorción en discontinuo:
 - La capacidad de adsorción de la arena es relativamente baja para el amonio y nula en el caso del nitrato y la materia orgánica soluble presentes en el agua residual.
 - Existe adsorción de amonio, nitrato y materia orgánica soluble sobre el carbón activo granular, aunque la capacidad de adsorción del GAC para estos compuestos es relativamente baja.

- Puesta en marcha y funcionamiento estable de los reactores:
 - Los filtros de arena y carbón activo no son eficaces para la eliminación de la materia orgánica soluble y el amonio debido a la baja capacidad de adsorción que presentan para estos compuestos.
 - La eficacias de eliminación de la materia orgánica y el amonio durante todo el periodo de operación del biofiltro de arena fueron superiores al 86 y al 99%, respectivamente, debido al efecto de la actividad biológica. Durante la primera etapa, la nitrificación es el proceso responsable de la eliminación del amonio, pudiéndose considerar el efecto de la desnitrificación a partir del día 47 de operación.
 - En el biofiltro de carbón activo la eliminación de la materia orgánica fue superior al 81% durante todo el periodo de operación del reactor. La eliminación del amonio, en todos los casos superior al 99%, fue asumida a un efecto combinado de los procesos de nitrificación y desnitrificación.
 - El tipo de soporte empleado (arena o carbón activo granular) no tuvo efecto sobre el desarrollo de las poblaciones bacterianas durante el periodo de operación de los reactores.

- Eliminación de CFCPs:
 - Los CFCPs pueden clasificarse en 5 grupos en base al comportamiento que mostraron durante el tratamiento del efluente anaerobio:
 - ♦ Compuestos que se biodegradan y que experimentan alta adsorción sobre GAC y arena: galaxolide, tonalide, celestolide, triclosán.
 - ♦ Compuestos que se biodegradan y que experimentan alta adsorción sobre GAC y adsorción intermedia sobre arena: sulfametoxazol, 17β-estradiol.
 - ♦ Compuestos que se biodegradan y que experimentan adsorción solo sobre GAC: ibuprofeno, naproxeno, fluoxetina, bisfenol A, eritromicina, roxitromicina, trimetoprim, estrona, 17α-etinilestradiol.
 - ♦ Compuestos que se adsorben sobre GAC y arena y no se biodegradan: octilfenol, nonilfenol.
 - ♦ Compuestos que no se biodegradan y que sólo son adsorbidos sobre GAC: carbamazepina, diazepam, diclofenac.
 - El filtro de carbón activo es más eficaz en la eliminación de los microcontaminantes que el de arena debido a la elevada capacidad de adsorción que presenta el GAC para todos los compuestos.
 - El efecto de la biodegradación desarrollada en el biofiltro de arena es clave para mejorar las eficacias de eliminación de los compuestos biodegradables y fácilmente biodegradables no adsorbidos sobre el lecho de arena, obteniéndose en la mayoría de los casos, eficacias similares a las alcanzadas en los lechos de carbón activo (TCS, E2, IBP, NPX, FLX, ERY, BPA, ROX, E1, EE2).
 - La actividad biológica desarrollada en los biofiltros de arena y carbón activo permite incrementar la vida útil de los lechos debido al efecto de la bioregeneración del soporte.

- La reducción del TRH de 1,4 a 0,7 d sólo tuvo efecto en el filtro de arena para las fragancias y TCS, suponiendo un descenso en la eficacia de eliminación del 10 y el 20%, respectivamente, y en el biofiltro de arena para el trimetoprim (20%) con respecto a las obtenidas durante el primer TRH.

El biofiltro de carbón activo resultó ser el sistema más adecuado para el tratamiento de efluentes anaerobios ya que presentó altas eficacias de eliminación de la materia orgánica y el amonio. Además, fue altamente efectivo en la eliminación de los 20 microcontaminantes estudiados, incluso en el caso de los más recalcitrantes (carbamazepina y diazepam). El trabajo futuro debe estar basado en el estudio de la eliminación de los CFCPs en estos sistemas de postratamiento empleando tiempos de residencia hidráulicos más bajos para reducir los costes de implantación y operación asociados a su instalación en las estaciones depuradoras de aguas residuales urbanas (EDAR).

5

Bibliografía

- Alvariño, T., 2011. Mecanismos de eliminación de microcontaminantes orgánicos en reactores biológicos aerobios y anaerobios. Trabajo Fin de Máster.
- Azhar, A.H., Shaza, C.A., 2012. Ammonia removal from a aqueous solution using chemical surface-modified sand. *Health and the Environment Journal*, 3 (2), 17-24.
- Carballa, M., Omil, F., Lema, J.M., Llompart, M., García-Jares, C., Rodríguez, I., Gómez, M., Ternes, T., 2004. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Research*, 28, 2918-2926.
- Carballa, M., Omil, F., Ternes, T., Lema, J.M., 2007. Fate of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) during anaerobic digestion of sewage sludge. *Water Research*, 41, 2139-2150.
- Çeçen, F., Aktas, Ö., 2012. Activated carbon for water and wastewater treatment: integration of adsorption and biological treatment. Wiley-VCH.
- Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N., Kroiss, H., 2005. Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Research*, 29, 4797-4807.
- Comisión Europea, 2012. Proposal for a Directive amending the WFD and EQSD (COM(2011)876).
- Daughton, C.G. and Ternes, T.A., 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environ Health Perspect*, 107 Suppl 6, 907-38.
- Deblonde, T., Cossu-Leguille, C., Hartemann, P., 2011. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 214, 442-448.
- De Graaff, M.S., Vieno, N.M., Kujawa-Roeleveld, Zeeman, G., Temmink, H., Buisman, C.J.N., 2011. Fate of hormones and pharmaceuticals during combined anaerobic treatment and nitrogen removal by partial nitritation-anammox in vacuum collected black water. *Water Research*, 45, 375-383.
- Demiral, H., Gündüzoglu, G., 2010. Removal of nitrate from aqueous solutions by activated carbon prepared from sugar beet bagasse. *Bioresource Technology*, 101, 1675-1680.

Capítulo 5

Directiva 2008/105/CE relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas.

Fent K., Weston A.A., Caminada D., 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 76, 122-159.

Fernández-Fontaina, E., Pinho, I., Carballa, M., Omil, F., Lema, J.M., 2012. Biodegradation kinetic constants and sorption coefficients of micropollutants in membrane bioreactors. *Biodegradation*, 24 (2), 165-177.

Fernández-Fontaina, Omil, F., Lema, J.M. and Carballa, M., 2012. Influence of nitrifying conditions on the biodegradation and sorption of emerging micropollutants. *Water Research*, 46 (16), 5434-5444.

Fernández-Polanco, F., Méndez, E., Urueña, M.A., Villaverde, S., García, P.A., 2000. Spatial distribution of heterotrophs and nitrifiers in a submerged biofilter for nitrification. *Water Research*, 34 (16), 4081-4089.

Froehner, S., Piccioni, W., Scurupa Machado, K., Mansur Aisse, M., 2011. Removal capacity of caffeine, hormones, and bisphenol by aerobic and anaerobic sewage treatment. *Water Air Soil Pollut*, 216, 463-471.

Göbel, A., McArdell, C.S., Joss, A., Siegrist, H., Giger, W., 2007. Fate of sulfonamides, macrolides and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. *Science of the Total Environment*, 372, 361-371.

Gusseme, B., Pycke, B., Hennebel, T., Marcoen, A., Vlaeminck, S.E., Noppe, H., Boon, N., Verstraete, W., 2009. Biological removal of 17 α -ethinylestradiol by a nitrifier enrichment culture in a membrane bioreactor. *Water Research*, 43, 2493-2503.

Hamid, H., Eskicioglu, C., 2012. Fate of estrogenic hormones in wastewater and sludge treatment: A review of properties and analytical detection techniques in sludge matrix. *Water Research*, 46, 5813-5833.

Hernández-Leal, L., Temmink, H., Zeeman, G., Buisman, C.J.N., 2011. Removal of micropollutants from aerobically treated grey water via ozone and activated carbon. *Water Research*, 45, 2887-2896.

Hijosa-Valsero, M., Matamoros, V., Sidrach-Cardona, R., Martín-Villacorta, J., Bécáres, E., Bayona, J.M., 2010. Comprehensive assessment of the design configuration of constructed wetlands for the removal of pharmaceuticals and personal care products from urban wastewaters. *Water Research*, 44, 3669-3678.

- Hollender, J., Zimmermann, S.G., Koepke, S., Krauss, M., Mcardell, C.S., Ort, C., Singer, H., Gunten, U., Siegrist, H., 2009. Elimination of Organic Micropollutants in a Municipal Wastewater Treatment Plant Upgraded with a Full-Scale Post-Ozonation Followed by Sand Filtration. *Environmental Science Technology*, 43, 7862-7869.
- Joss, A., Zabczybski, S., Göbel, A., Hoffmann, B., Löffler, D., McArdell, C.S., Ternes, T.A., Thomsen, A., Siegrist, H., 2006. Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme. *Water Research*, 40, 1686-1696.
- Joss, A., Siegrist, H., Ternes, T.A., 2008. Are we about to upgrade wastewater treatment for removing organic micropollutants? *Water Science and Technology*, 57 (2), 251-255.
- Kannan, K., Reiner, J.L., Yum, S.H., Perrotta, E.E., Tao, L., Johnson-Restrepo, B., Rodan, B.D., 2005. Polycyclic musk compounds in higher trophic level aquatic organisms and humans from the United States. *Chemosphere*, 61, 693-700.
- Kidd, K.A., Blanchfield, P.J., Mills, K.H., Palace, V.P., Evans, R.E., Lazorchak, J.M., Flick, R.W., 2007. Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104 (21), 8897-8901.
- Kim, I., Tanaka, H., 2009. Photodegradation characteristics of PPCPs in water with UV treatment. *Environnement International*, 35, 793-802.
- Lee, C. O., Howe, K. J., Thomson, B.M., 2012. Ozone and biofiltration as an alternative to reverse osmosis for removing PPCPs and micropollutants from treated wastewater. *Water Research*, 46, 1005-1014.
- Le Minh N., Khan S.J., Drewes J.E., Stuetz R.M., 2010. Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. *Water Research*, 44, 4295-4323.
- Martins da Costa, P., Vaz-Pires, P., Bernardo, F., 2006. Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. isolated in inflow, effluent and sludge from municipal sewage water treatment plant. *Water Research*, 40, 1735-1740.
- Nakada, N., Shinohara, H., Murata, A., Kiri, K., Managaki, S., Sato, N., Takada, H., 2007. Removal of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine-disrupting chemicals (EDCs) during sand filtration and ozonation at a municipal sewage treatment plant. *Water Research*, 41, 4373-4382.

Capítulo 5

Nunell, G.V., Fernández, M.E., Bonelli, P.R., Cukierman, A.L., 2012. Conversion of biomass from invasive species into activated carbons for removal of nitrate from wastewater. *Biomass and Bioenergy*, 44, 87-95.

Onesios, K.M., Bouwer, E.J., 2012. Biological removal of pharmaceuticals and personal care products during laboratory soil aquifer treatment simulation with different primary substrate concentrations. *Water Research*, 46, 2365-2375.

Queiroz, F.B., Brandt, E.M.F., Aquino, S.F., Chernicharo, C.A.L., Afonso, R.J.C.F., 2012. Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disruptors in raw sewage and their behavior in UASB reactors operated at different hydraulic retention times. *Water Science and Technology*, 66 (12), 2562-2569.

Ratola, N., Cincinelli, A., Alves, A., Katsoyiannis, A., 2012. Occurrence of organic microcontaminants in the wastewater treatment process. A mini review. *Journal of Hazardous Materials*, 239-240, 1-18.

Reungoat, J., Escher, B.I., Macova, M., Keller, J., 2011. Biofiltration of wastewater treatment plant effluent: Effective removal of pharmaceuticals and personal care products and reduction of toxicity. *Water Research*, 45, 2751-2762.

Reyes-Contreras, C., Matamros, V., Ruiz, I., Soto, M., Bayona, J.M., 2011. Evaluation of PPCPs removal in a combined anaerobic digester-constructed wetland pilot plant treating urban wastewater. *Chemosphere*, 84, 1200-1207.

Roig, B., 2010. *Pharmaceuticals in the Environment. Current knowledge and need assessment to reduce presence and impact.* IWA Publishing. London.

Salgado, R., Marques, R., Noronha, J.P., Mexia, J.T., Carvalho, G., Oehmen, A., Reis, M.A.M., 2011. Assessing the diurnal variability of pharmaceutical and personal care products in a full-scale activated sludge plant. *Environmental Pollution*, 159, 2359-2367.

Sanderson, H., Johnson, D.J., Reitsma, T., Brain, R.A., Wilson, C.J., Solomon, K.R., 2004. Ranking and prioritization of environmental risks of pharmaceuticals in surface waters. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 39, 158-183.

Santos, L.H.M.L.M., Araujo, A.N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., Montenegro, M.C.B.S.M., 2010. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 175 (1-3), 45-95.

- Serrano, D., Lema, J.M., Omil, F., 2010. Influence of the employment of adsorption and coprecipitation agents for the removal of PPCPs in conventional activated sludge (CAS) systems. *Water Science and Technology*, 62 (3), 728-735.
- Snyder, S.A., Wert, E.C., Rexingm D.J., Zegers, R.E., Drury, D.D., 2006. Ozone oxidation of endocrine disruptors and pharmaceuticals in surface water and wastewater. *Ozone: Science and Engineering*, 28, 445-460.
- Snyder, S.A., Adham, S., Redding, A.M., Cannon, F.S., DeCarolis, J., Oppenheimer, J., Wert, E.C., Yoon, Y., 2007. Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals. *Desalination*, 202, 156-181.
- Suárez, S., Carballa, M., Omil, F., Lema, J.M., 2008. How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters?. *Environmental Science Biotechnology*, 7, 125-138.
- Suárez, S., Lema, J.M., Omil, F., 2010. Removal of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions. *Water Research*, 44, 3214-3224.
- Sudhakaran, S., Lattemann, S., Amy, G.L., 2013. Appropriate drinking water treatment processes for organic micropollutants removal based on experimental and model studies. A multi-criteria analysis study. *Science of the Total Environment*, 442, 478-488.
- Ternes, T., Meisenheimer, M., McDowell, D., Sacher, F., Brauch, H., Haist-Gulde, B., Preuss, G., Wilme, U., Zulei-Seibert, N., 2002. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environmental Science Technology*, 36, 3855-3863.
- Ternes, T., Joss, A., 2006. Human pharmaceuticals, hormones and fragrances: the challenge of micropollutants in urban water management. IWA. London.
- Vassileva, P., Tzvetkova, P., Nickolov, R., 2008. Removal of ammonium ions from aqueous solutions with coal-based activated carbons modified by oxidation. *Fuel*, 88, 387-390.
- Velten, S., Boller, M., Köster, O., Helbing, J., Weilenmann, H., Hammes, F., 2011. Development of biomass in a drinking water granular active carbon (GAC) filter. *Water Research*, 45, 6347-6354.

Capítulo 5

Verlicchi, P., Al Aukidy, M., Zambello, E., 2012. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment. A review. *Science of the Total Environment*, 429, 123-155.

Villaverde, S., Fernández-Polanco, F., García, A., 2000. Nitrifying biofilm acclimation to free ammonia in submerged biofilters. Start-up influence. *Water Research*, 34 (2), 602-610.

Wettstein, F.E., 2004. Auftreten und Verhalten von Nonylphenoxyessigsäure und weiteren Nonylphenolverbindungen in der Abwasserreinigung "PhD Thesis, ETH-Zürich".

Yapsakli, K., Mertoglu, B., Çeçen, F., 2010. Identification of nitrifiers and nitrification performance in drinking water biological activated carbon (BAC) filtration. *Process Biochemistry*, 45, 1543-1549.

Yu, X., Qi, Z., Zhang, X., Yu, P., Liu, Bo., Zhang, L., Fu, L., 2007. Nitrogen loss and oxygen paradox in full-scale biofiltration for drinking water treatment. *Water Research*, 41, 1455-1464.

Yu, Y., Wu, L., Chang, A.C., 2013. Seasonal variation of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment* 442, 310-316.

Zearley, T., Scott Summers, R., 2012. Removal of trace organic micropollutants by drinking water biological filters. *Environmental Science and Technology*, 46, 9412-9419.

Ziylan A., Ince N.H., 2011. The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: treatability by conventional and non conventional processes. *Journal of Hazardous Materials*, 187, 24-37.

Anexos

ANEXO I. ESPECIFICACIONES DEL CARBÓN ACTIVO GRANULAR

Producto: Carbón activo granular para tratamiento de aguas residuales (MG 1050, ChiemiVall)

Número de Yodo: 1.050 mg/g

Índice azul de metileno: 200 g/kg carbón

Diámetro promedio de poro: 30 A⁰

pH del extracto acuoso: 8-10

Humedad al secar: 5%

Densidad aparente: 480±30 kg/m³

Densidad aparente después de contralavado y drenado: 440±30 kg/m³

Granulometría: 1-2 mm

ANEXO II. ESPECIFICACIONES DE LA ARENA

Producto: Arena de mar lavada, grano grueso QP (Panreac)

Sustancia solubles en HCl: 0,2%

Pérdida por desecación: 0,2%

Cloruro (Cl⁻): 0,015%

Tamaño de partícula: 1-2 mm